

Validasi Metode Analisis Beberapa Senyawa Metabolit Sekunder pada *Andrographis paniculata*, *Zingiber officinale* var. *rubrum*, dan *Nigella sativa* sebagai Terapi COVID-19: Sebuah Review

Validation of Analytical Methods of Several Secondary Metabolic Compounds in *Andrographis paniculata*, *Zingiber officinale* var. *rubrum*, and *Nigella sativa* as COVID-19 Therapy: A Review

Farendina Suarantika^{1*}, Nabila Hadiah Akbar¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Kota Bandung

²Program Studi Diploma Tiga Farmasi, Politeknik Unggulan Kalimantan, Kota Banjarmasin

Abstrak: Beberapa tanaman Indonesia mengandung senyawa aktif yang dapat membatasi infeksi dan replikasi SAR-CoV-2 berdasarkan aktivitasnya terhadap target terapeutik yang relevan. Kajian pustaka ini bertujuan untuk meninjau metode analisis tervalidasi pada tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*), dan jintan hitam (*Nigella sativa*), yang berpotensi memiliki aktivitas terapeutik terhadap SARS-CoV-2. Sumber informasi yang digunakan pada kajian pustaka ini diperoleh dengan menggunakan *search engine* seperti *Science direct*, *Google Scholar*, dan *PubMed*. Andrografolid (sambiloto), gingerol (jahe merah), dan timokuinon (jintan hitam) terbukti secara spesifik mampu menginaktivasi SARS-CoV-2 dengan akurasi target yang baik. Metode analisis tanaman yang tervalidasi secara umum menggunakan RP-HPLC/HPTLC, Spektrofotometri UV-Vis, GC-FID, GC, dan UHPLC-DAD.

Kata Kunci: Andrografolid, Gingerol, Timokuinon, COVID-19.

Abstract: Several Indonesian plants contain active compounds that can limit infection and replication of SAR-CoV-2 based on their activity against relevant therapeutic targets. This literature review aims to review validated analytical methods on bitter plants (*Andrographis paniculata*), red ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*), and black cumin (*Nigella sativa*), which has potential therapeutic activity against SARS-CoV-2. Sources of information used in this literature review were obtained using search engines such as Science Direct, Google Scholar, and PubMed. Andrographolide (sambiloto), gingerol (red ginger), and thymoquinone (black cumin) were shown to be specifically capable of inactivates SARS-CoV-2 with good targeting accuracy. The generally validated plant analysis methods used RP-HPLC/HPTLC, UV-Vis Spectrophotometry, GC-FID, GC, and UHPLC-DAD.

Keywords: Andrographolide, Gingerol, Thymoquinone, COVID-19.

PENDAHULUAN

Coronavirus merupakan virus RNA dengan dimensi partikel 120-160 nm. Virus ini utamanya menginfeksi hewan, tercantum di antara lain merupakan kelelawar serta unta. Saat sebelum terbentuknya wabah COVID-19, terdapat 6 tipe *coronavirus* yang bisa menginfeksi manusia, ialah *alphacoronavirus* 229E, *alphacoronavirus* NL63, *betacoronavirus* OC43, *betacoronavirus* HKU1, *Severe Acute Respiratory Illness Coronavirus* (SARS-

CoV), serta *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS- CoV). Dikenal asal mula virus ini berasal dari Wuhan, Cina, yang ditemui pada akhir Desember tahun 2019. COVID-19 awal dilaporkan di Indonesia bertepatan pada 2 Maret 2020 dengan jumlah 2 kasus. Di kala ini, penyebaran SARS-CoV-2 dari manusia kepada manusia lainnya menjadi sumber transmisi utama sehingga penyebaran menjadi lebih agresif (Susilo dkk., 2020).

* email korespondensi: farensuarantika@gmail.com

Beberapa tanaman Indonesia mengandung senyawa aktif yang dapat membatasi infeksi dan replikasi SAR-CoV-2 berdasarkan aktivitasnya terhadap target terapeutik yang relevan. Senyawa potensial aktif telah ditemukan pada sayuran, tanaman pangan, dan mangrove, yang menunjukkan aktivitas (mengikat) terhadap target protein seperti *Receptor Binding Domain-Spike* (RBD-S), *Peptidase Domain-Angiotensin Converting Enzyme-2* (PD-ACE2) dan *SARS-CoV-2 protease* (Illian dkk., 2021).

Teknik pengujian, seperti *in silico* (model komputasi), digunakan untuk mengidentifikasi senyawa tanaman yang dapat mencegah infeksi dan replikasi SARS-CoV-2 dengan memprediksi aktiuitasnya terhadap target penyakit (b). Contoh senyawa aktif yang diidentifikasi dengan teknik tersebut antara lain senyawa metoksiflavonoid seperti hesperetin, naringenin, dan nobiletin yang diidentifikasi pada jeruk, serta baikalin, skutelarin, glisirizin, rhoifolin, herbasetin, pektolinarin dan galangin, yang telah diidentifikasi pada jahe (Tang dkk., 2018; Singh dkk., 2020; Yudi Utomo dan Meiyanto, 2020).

Belum banyaknya penelitian terkait pengujian aktivitas pada senyawa aktif tanaman terhadap SARS-CoV-2, kajian pustaka ini bertujuan untuk meninjau metode analisis tervalidasi pada tanaman, sambiloto (*Andrographis paniculata*), jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*), dan jintan hitam (*Nigella sativa*), yang berpotensi memiliki aktivitas terapeutik terhadap SARS-CoV-2. Selain itu juga membahas tentang validasi suatu metode analisis dengan berbagai instrumen, validasi metode tujuannya untuk melihat pengaruh dari lingkungan dan kondisi proses analisis yang dilakukan. Hal ini termasuk ke dalam persyaratan keamanan dan khasiat suatu sediaan obat.

METODE PENELITIAN

Sumber informasi yang digunakan pada kajian pustaka ini diperoleh dengan menggunakan *search engine* seperti *Science direct*, *Google Scholar*, dan *PubMed*. Sedangkan tipe sumber yang digunakan adalah *original research* seperti jurnal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Validasi metode analisis merupakan penetapan bukti yang terdokumentasi yang menyatakan metode yang digunakan secara konsisten memberikan hasil yang akurat serta mengevaluasi suatu produk baik secara spesifikasi dan kualitas (Srivastava, Ritesh Kumar dan Kumar, 2017). Validasi dilakukan untuk melihat pengaruh dari lingkungan, kondisi dan proses yang digunakan, alat-bahan serta personil yang melakukan pengujian. Adapun parameter validasi metode analisis yang ditentukan diantaranya yaitu akurasi, selektifitas, linieritas, spesifitas, rentang, batas deteksi, batas kuantitasi, ketahanan dan ketangguhan (Chan dkk., 2004).

Berdasarkan penelitian sebelumnya sudah dilakukan validasi metode analisis terhadap tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*), jahe merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) dan jintan hitam (*nigella sativa*) dengan menggunakan berbagai instrument diantaranya kromatografi cair kinerja tinggi, spektrofotometer UV-Vis, kromatografi gas dan kromatografi lapis tipis kinerja tinggi.

SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*)

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang dikenal sebagai “*King of Bitters*” merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Sambiloto juga terbukti memiliki efek farmakologi yang luas seperti antikanker, antidiare, antihepatitis, anti-HIV, antiinflamasi, antimikroba dan lainnya (Hossain dkk., 2014). Sambiloto (*Andrographis paniculata*) memiliki klasifikasi taksonomi sebagai berikut (Siddhartha, Neelam dan Rajendran, 2007; Hossain dkk., 2014):

Kingdom	: <i>Plantae, Plants;</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta, Vascular plants;</i>
Super division	: <i>Spermatophyta, Seed plants;</i>
Division	: <i>Angiosperma</i>
Class	: <i>Dicotyledonae</i>
Sub class	: <i>Gamopetalae</i>
Series	: <i>Bicarpellatae</i>
Order	: <i>Personales</i>
Tribe	: <i>Justicieae</i>
Family	: <i>Acanthaceae</i>

Genus : *Andrographis*

Species : *paniculate*

Tanaman sambiloto memiliki tinggi 30-100 cm, memiliki warna batang hijau tua dengan Panjang 30-100 cm dan diameter 2-6 mm, memiliki daun yang berukuran panjang 2-12 cm dan lebar 1-3 cm dengan daun yang beraturan seperti lanset dan berbentuk menyirip, memiliki biji yang berbentuk kapsul linear berwarna coklat kekuningan dengan ukuran 1.9 cm x 0.3 cm dan biasanya berbunga juga berbuah pada bulan Desember hingga April (Hossain dkk., 2014).

Metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan pada tanaman sambiloto adalah polifenol, flavonoid dan diterpenoid (Tan dkk., 2016). Pada tanaman sambiloto, andrografolid merupakan senyawa fitokimia yang paling aktif secara medis (Siddhartha, Neelam dan Rajendran, 2007). Ekstrak tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan kandungan andrografolid di dalamnya terbukti secara spesifik mampu meng-inaktivasi SARS-CoV-2 hingga 95% pada sel Calu-3. Sel Calu-3 pada epitel paru-paru manusia merupakan

sel inang yang paling spesifik untuk infeksi SARS-CoV-2 (Sa-Ngiamsumtorn dkk., 2021). Selain itu, melalui metode penambatan (*docking*) molekul, Andrografolid terbukti menjadi inhibitor potensial yang sukses berikatan dengan enzim protease pada SARS-CoV-2 (Mpro) dengan akurasi target yang baik (Enmozhi dkk., 2020). Andrografolid juga terbukti mampu berikatan dengan 4 target kunci seperti 3 non-structural proteins (3CLpro), Papain like proteinase (PLpro) dan *RNA-directed RNA polymerase* (RdRp) pada virus SARS-CoV-2 lebih baik dibandingkan dengan hidroksiklorokuin, oseltamivir dan azithromycin (Murugan, Pandian dan Jeyakanthan, 2021). Pada penelitian lain yang juga menggunakan molecular docking dengan metode modul Glide, Andrografolid terbukti secara signifikan berikatan dengan bagian aktif pada SARS CoV 2 lebih baik dibandingkan dengan obat yang digunakan saat ini yaitu hidroksiklorokuin dan nelfinavir (Rajagopal dkk., 2020). Beberapa metode analisis andrografolid yang telah tervalidasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Metode analisis andrografolid yang telah tervalidasi

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> Kolom Cosmosil C18, 150 x 4,6 mm; 5μm Fase gerak: asetonitril dan asam fosfat (40:60) (isokratik) Laju alir: 1.0 mL/min Volume injeksi: 20 μL Detektor PDA pada 230 nm Waktu retensi: 3 menit 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: 0,975 pada 0,1-0,6 mg/mL Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,102 dan 0,339 mg/mL Akurasi: 95.58-100.7 % Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 6,32 dan 6,54 % 	(Tan dkk., 2016)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> Kolom Cromolith Performance Rp-18e, 100 x 4,6 mm ; 2μm Fase gerak: air sebagai larutan A dan methanol sebagai larutan B Elusi: gradien dengan larutan B mengalami perubahan konsentrasi dari 40% hingga 51% dalam waktu 9 menit Laju alir: 3,0 mL/min Detektor UV pada 220 nm Waktu retensi: 2,4 menit Preparasi sampel: diinjek dalam bentuk larutan campuran dengan air: methanol (80:20) 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: <ul style="list-style-type: none"> 0,9991 dan 0,9997 pada 50-200 μg/mL (replikasi) (kurva 1 dan 2) 0,999 pada 5-50 g/mL (kurva 3) Limit kuantisasi pada 3 kurva secara berurutan: 10; 32 dan 5 μg/mL Akurasi: 99,9-101,5 % Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi antara): 0,24 dan 0,16 % 	(Sa-Ngiamsumtorn dkk., 2021)

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
Spektrofotometri UV-Vis	<ul style="list-style-type: none"> • Pelarut: metanol dan air (50:50) • Panjang gelombang: 321 nm 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,998 pada 50-250 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 14,71 dan 44,57 µg/mL • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 1,687 dan 1,0355 % • Standar deviasi ketangguhan dan ketahanan: 1,706; 0,8435 % • Spesifitas dan selektivitas: tidak ditemukan interferen oleh spektrum pelarut pada panjang gelombang maksimum andrografolid 	(Pancham dkk., 2019)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Kolom Phenomenex C18, 250 x 4,6 mm ; 5µm • Temperature kolom: 35°C • Fase gerak: larutan garam KH₂PO₄ 0,02 M pH 3,0 sebagai buffer dan asetonitril (50:50) (elusi isokratik) • Laju alir: 1,5 mL/min • Volume injeksi: 20 µL • Detektor PDA pada 240 nm • Waktu retensi: 2,4 menit 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,999 pada 10-140 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,128 dan 0,323 µg/mL • Akurasi: 97,83-99,67 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 0,085-0,520 % • Spesifitas dan selektivitas: tidak ditemukannya interferen oleh spektrum matriks 	(De dan Bera, 2021)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Kolom Sunfire C18, 150 x 4,6 mm ; 5µm • Fase gerak: metanol dan air (60:40) (elusi isokratik) • Laju alir: 0,8 mL/min • Volume injeksi: 20 µL • Detektor UV pada 229 nm • Waktu retensi: 4,337 menit 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,9999 pada 5-35 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,09 dan 0,31 µg/mL • Akurasi: 101,09-103,17 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 0,558 dan 0,267 % 	(Syukri dkk., 2015, 2016)

JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *rubrum*)

Famili *Zingiberaceae* dapat ditemukan di daerah tropis, terutama di wilayah Indonesia dan Malaysia dengan sekitar 53 genus dan 1.300 spesies. Adapun taksonomi jahe merah sebagai berikut (Supu, Diantini dan Levita, 2019):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Order	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Zingiber</i>
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i>
Variety	: <i>Zingiber officinale</i> var. <i>rubrum</i>

Zingiber officinale var. *rubrum* (ZOR) secara morfologi mirip dengan jahe biasa (*Zingiber officinale*), tetapi rimpang varian ini lebih kecil, memiliki bau yang lebih kuat dan menyengat, serta berwarna merah di bagian luar dengan penampang berwarna merah muda kekuningan (Mahardika dkk., 2017). ZOR ialah tumbuhan tahunan yang bisa berkembang setinggi 50-100 cm. Daunnya berupa lanset dengan panjang 5-25 cm serta lebar 1,5-2 cm, ujung daun meruncing serta menggenggam batang dengan pelepah panjang. Batang berkembang tegak lurus serta bundar pipih, tidak bercabang. Bunganya majemuk serta bundar telur dengan panjang batang 10-25 cm, berupa lonjong dengan panjang tangkai 10-25 cm serta mahkota bunga bercorak ungu

berdimensi 2- 2,5 cm. Kelopak bunga kecil berupa tabung serta bergerigi tiga. Kulit rimpang berwarna merah dan rimpang berdaging tebal serta bercorak coklat kemerahan. Akar tunggal semakin membesar bersamaan dengan bertambahnya umur, membentuk rimpang serta tunas yang hendak berkembang jadi tumbuhan baru. Pangkal berkembang dari bagian dasar rimpang, sebaliknya tunas hendak berkembang dari bagian atas rimpang (Supu, Diantini dan Levita, 2019).

Banyak penelitian menunjukkan efek jahe merah sebagai antiinflamasi, antiemesis, antitumor, analgesik, antihemoragik, antirematik, antidiabetes, antifungi dan antibakteri (Supu, Diantini dan Levita, 2019). Pada dasarnya jahe merah mengandung berbagai senyawa yang berpotensi sebagai antimikroba, yang terkandung dalam *oleoresin* utuh dan minyak atsirinya. Senyawa tersebut termasuk *gingerol*, *limonene*, seskuiterpen alkohol/*zingiberol*, *linalool*, *geraniol* dan sitral. *Oleoresin* adalah kombinasi minyak esensial dan resin. *Oleoresin* utuh mengandung satu senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba. *Gingerol* melakukan fungsi antimikroba dalam 2 cara, pertama dengan mendenaturasi protein dan kedua dengan merusak membran sitoplasma bakteri. Minyak atsiri mengandung beberapa senyawa di dalamnya yang memiliki aktivitas antimikroba. Salah satunya adalah golongan senyawa terpenoid. Ada 2 golongan senyawa terpenoid yang terkandung dalam minyak atsiri, yaitu limonene dan seskuiterpen alkohol/*zingiberol*.

Keduanya memiliki kemampuan merusak komponen struktural membran sel bakteri. Selain itu, ada senyawa lain di dalam minyak atsiri yang juga memiliki aktivitas antimikroba. Mereka adalah linalool, geraniol dan citral. Linalool dan geraniol menyebabkan denaturasi protein mikroba. Sitral melakukan fungsi senyawa antimikroba dalam 2 cara. Hal tersebut membuat proses alkilasi pada gugus nukleofilik dan proses denaturasi pada protein mikroba. Ini memicu inaktivasi enzim di dalam bakteri (Assegaf, Kawilarang dan Handajani, 2020).

6-Gingerol terbukti mampu menjadi calon senyawa yang dapat digunakan menjadi obat dalam melawan virus covid-19 melalui metode penambatan (*docking*) molekul, dikarenakan memiliki nilai afinitas yang tinggi dengan beberapa target ikatan protein pada virus covid 19 dan terbukti memiliki karakteristik farmakokinetik yang baik (Rathinavel dkk., 2020). 6-Gingerol menunjukkan kemampuan afinitas ikatan yang sangat tinggi terhadap enzim papain-like protease (PLpro) polyprotein a/b (PP a/b) pada beberapa titik yang dimana enzim ini berfungsi untuk kelangsungan hidup dan replikasi virus, akan tetapi juga pada enzim lain seperti, main protease; SARS-CoV3C ; dan cathepsin K yang juga penting untuk replikasi SARS-CoV-2. 6-gingerol juga berikatan dengan protein S dan beberapa RNA pada SARS-CoV-2 (Haridas dkk., 2021; Jafarzadeh, Jafarzadeh dan Nemati, 2021). Beberapa metode analisis analisis 6-gingerol yang telah tervalidasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Metode analisis analisis 6-gingerol yang telah tervalidasi

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> Kolom Luna C18, 150 x 4,6 mm ; 5µm Fase gerak: asetoniitril dan air (elusi gradien) Laju alir: 1,0 mL/min Detektor PDA pada 282 nm Waktu retensi: 22,712 menit 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: 0,9993 pada 20-60 µg/mL Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 1,4730 dan 4,9099 µg/mL Akurasi: 93,85-104,25 % Standar deviasi presisi: 1,24 % 	(Mai, Nakorn dan Park, 2018)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> Kolom Sunfire C18, 150 x 4,6 mm ; 5µm Fase gerak: asetoniitril ; ortho-phosphoric acid di dalam air ; methanol (55:44:1, v/v/v) Laju alir: 1,0 mL/min Detektor PDA pada 282 nm Waktu retensi: 4,553 menit 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: 0,998 pada 10-250 µg/mL Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 3,34 dan 10,12 µg/mL Akurasi: 99,54-99,88 % Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi antara): 0,47-1,55 % 	(Nikam, Sathiyarayanan dan Mahadik, 2013)

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
Fase Terbalik-Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (RP-HPTLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Fase diam: 10 × 20 cm glass backed plates pre-coated dengan silika gel fase terbalik 60 F254S plates • Fase gerak: etanol ; air (6.5:3.5 v/v) • Gas untuk aplikasi sampel: nitrogen • Waktu saturasi: 30 menit pada 22°C • Jarak pengembangan pada plate: 80 mm • Mode pengembangan: linear ascending mode • Rentang aplikasi sampel: 150 nL/s • Panjang gelombang: 200 nm 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,9995 pada 50-600 ng/pita • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 16,84±0,36 dan 50,52±1,08 ng/pita • Akurasi: 99-101,5 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi antara): 0,7-1 % • Standar deviasi ketahanan: 0,6-0,8% 	(Foudah dkk., 2020)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Kolom Luna C18, 150 x 4,6 mm ; 5µm • Fase gerak: asetonitril dan air (elusi gradien) • Laju alir: 1,0 mL/min • Detektor PDA pada 282 nm • Waktu retensi: 29,052 menit 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,9994 pada 20-60 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,8567 dan 2,8555 µg/mL • Akurasi: 91,57-102,36 % • Standar deviasi presisi: 3,43 % 	(Kajsongkram dkk., 2015)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Kolom C18, 250 x 4,6 mm ; 5µm • Fase gerak: metanol ; asam ortofosfat di dalam air (60:40, v/v) • Laju alir: 1,0 mL/min • Volume injeksi: 20 µL • Detektor UV pada 280 nm • Waktu retensi: 13,78 menit 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,9989 pada 0,5-500 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,05 dan 0,18 µg/mL • Akurasi: 98,5-101 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi antara): 0,5-1,9 % • Standar deviasi ketahanan komposisi fase gerak dan laju alir: 0,51-1,10 % 	(Kamal dkk., 2015)

JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)

N. sativa berasal dari Eropa Selatan, Afrika Utara serta Asia Barat Daya dan dibudidayakan di banyak negara-negara besar di dunia semacam kawasan Mediterania Timur Tengah, Eropa Selatan, India, Pakistan, Suriah, Turki, dan Arab Saudi. *N. sativa* merupakan tumbuhan berbunga tahunan yang berkembang setinggi 20-90 cm, dengan daun yang terbelah halus; bunganya bercorak putih, kuning, merah muda, biru pucat ataupun ungu pucat, dengan 5-10 kelopak. Buahnya berbentuk kapsul besar serta menggembung terdiri dari 3- 7 folikel bersatu, tiap- tiap berisi sebagian biji. Bijinya kecil dikotil, trigonus, bersudut, tuberkular, gelap di luar serta putih di dalam, berbau sedikit aromatik

serta rasanya getir. *N. sativa* sudah dipelajari secara ekstensif untuk aktivitas-aktivitas biologisnya serta teruji mempunyai spektrum aktivitas atau manfaat yang sangat luas seperti diuretik, antihipertensi, bronkodilator, gastroprotektif, hepatoprotektif, antidiabetik, antikanker serta imunomodulator, analgesik, antimikroba, analgesik serta antiinflamasi, spasmolitik, ginjal watak pelindung serta antioksidan.

Adapun klasifikasi taksonomi *N. sativa* sebagai berikut (Sultana dkk., 2015):

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Phylum	: Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida
 Order : Ranunculales
 Family : Ranunculaceae
 Genus : *Nigella*
 Spesies : *Nigella sativa*

Timokuinon, pada pasien COVID-19, dapat digunakan sebagai terapi tambahan di samping obat konvensional dikarenakan memiliki efek antivirus, antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, bronkodilator antihistamin dan antitusif yang merupakan aktivitas yang berhubungan dengan gejala yang dialami. Senyawa timokuinon pada *N. sativa* juga terbukti mampu mengatur sitokin inflamasi selama gangguan pernapasan obstruktif dengan menekan ekspresi mRNA yang menurunkan regulasi gen interferon dan respon inflamasi lainnya. Hal serupa juga ditemukan pada *alpha-hederin* yang menekan ekspresi mRNA-126 yang akibatnya mengganggu jalur sekresi IL-13. Hasil penambatan (*docking*) molekul juga menunjukkan keunggulan senyawa ini. Semua hasil dengan tegas mengkonfirmasi penggunaan senyawa *N. sativa* pada pasien COVID-19, tetapi studi *in vitro* dan *in vivo* lebih lanjut masih diperlukan untuk mengetahui mekanisme senyawa tersebut dalam memberikan efek terapeutik (Kulyar, Li dan Mehmood, 2020). Berdasarkan studi pustaka juga didapatkan bahwa timokuinon mampu menjadi kandidat obat COVID-

19 dikarenakan mampu mengurangi level mediator pro-inflamasi seperti interleukin 2, 4, 6 dan 12, sekaligus meningkatkan interferon gamma. Timokuinon juga terbukti meningkatkan level serum IgG1 dan IgG2a dan meningkatkan fungsi paru pada saat terjadinya restriksi pernafasan (Khazdair, Ghafari dan Sadeghi, 2021).

Baru-baru ini, timokuinon telah menunjukkan aktivitas antivirus yang penting terhadap strain SARSCoV-2 yang diisolasi dari pasien Mesir dan, yang menarik, studi penambatan (*docking*) molekul juga menunjukkan bahwa *Timokuinon* berpotensi menghambat perkembangan COVID-19 melalui pengikatan ke domain pengikatan reseptor pada *spike* dan *envelope* protein SARS-CoV-2, yang dapat menghambat masuknya virus ke dalam sel inang dan menghambat saluran ion dan aktivitas pembentukan porinya. Penelitian lain menunjukkan bahwa timokuinon mungkin memiliki efek penghambatan pada protease SARS CoV2, yang dapat mengurangi replikasi virus, dan juga menunjukkan antagonisme yang baik terhadap reseptor enzim pengubah angiotensin 2, yang memungkinkannya mengganggu penyerapan virus ke dalam sel inang (Koshak dan Koshak, 2020; Badary, Hamza dan Tikamdas, 2021). Beberapa metode analisis analisis timokuinon yang telah tervalidasi dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Metode analisis analisis Timokuinon yang telah tervalidasi

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
Fase Terbalik-Kromatografi Lapis Tipis Kinerja Tinggi (RP-HPTLC)	<ul style="list-style-type: none"> Fase diam: silika gel precoated plat aluminium 60 F-254, (20 cm × 10 cm dengan ketebalan 250 µm) Fase gerak: n-heksana;etil asetat;methanol (7:2:1 v/v/v) Lebar pita monokromatik: 20 nm Waktu saturasi: 30 menit pada suhu 25 ± 2°C dan humiditas relatif 60 ± 5% Mode pengembangan: linear ascending mode Rentang aplikasi sampel: 140 nL/s Panjang gelombang: 254 nm (menggunakan TLC scanner (CAMAG)) 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: 0,997 pada 75-500 ng/pita Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 18 dan 54 ng/pita Akurasi: 99.49-100.37% Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi antara): 0,29-0,81% Standar deviasi ketahanan untuk komposisi dan volume fase gerak, dan durasi saturasi: 0,8-1,2 % 	(Taleuzzaman, Imam dan Gilani, 2018)
Gas Kromatografi-FID	<ul style="list-style-type: none"> Kolom: HP-5MS (30 m, 0,25 mm ID, 0,25 µm) Injektor: Split (20:1), 5 µL Temperatur Injektor: 250°C Laju alir gas pembawa: 2,0 mL/min Laju alir gas hydrogen: 30 mL.min Laju alir udara kering: 400 mL/min 	<ul style="list-style-type: none"> Linieritas: 0,9996 pada 0-30 mg/mL Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,98 dan 2,97 mg/mL Akurasi: 100,208 – 100,939 % 	(Demirbolat, Kartal dan Karik, 2019)

Metode	Karakteristik	Hasil	Ref.
	<ul style="list-style-type: none"> • Temperatur FID: 220°C • Temperatur Oven: • 100°C isothermal selama 2.5 menit • 20°C/menit hingga 250°C • 5°C/menit hingga 300°C • 300°C istoermal selama 10 menit • 	<ul style="list-style-type: none"> • Standar deviasi presisi (keterulangan, presisi antara dan ketertiruan): 0,13 -0,28% • Spesifitas: tidak ditemukan interferen pada peak. 	
Spektrofotometri UV-Vis	<ul style="list-style-type: none"> • Pelarut: metanol • Panjang gelombang: 252 nm 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,9965 pada 2-10 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 0,016 dan 0,0531µg/mL • Akurasi: 93.80% • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 0,0975-0,2311% • Standar deviasi ketangguhan dan ketahanan: 1,706 dan 0,8435 % • 	(Trivedi, Belgamwar dan Wadher, 2021)
Fase Terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (RP-HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> • Kolom Symmetry C18, 150 x 3,9 mm ; 5µm • Temperature kolom: 35°C • Fase gerak: methanol; astonitril; potassium dihydrogen buffer (50:20:30 v/v/v) yang dibuat menjadi pH 4.5 dengan orthophosphoric acid (elusi isokratik) • Laju alir: 1,5 mL/min • Detektor UV pada 254 nm • Waktu retensi: 2,2 menit 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,999 pada 0,5-50 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi:0,119 dan 0,361 µg/mL • Akurasi: 91,5-104,5 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 3,36-6,39% 	(Trivedi, Belgamwar dan Wadher, 2021)
Spektrofotometri UV-Vis	<ul style="list-style-type: none"> • Pelarut: Larutan Sodium Lauryl Sulphate (SLS) 5% (larutkan 5 gram SLS dalam 100 mL air) • Panjang gelombang: 256 nm 	<ul style="list-style-type: none"> • Linieritas: 0,997 pada 100-500 µg/mL • Limit deteksi dan Limit kuantisasi: 2,63 dan 8,33 µg /mL • Akurasi: 97-103 % • Standar deviasi presisi (keterulangan dan presisi intra): 0,55-1,38 % 	(Trivedi, Belgamwar dan Wadher, 2021)

SIMPULAN

Andrografolid (sambiloto), gingerol (jahe merah), dan timokuinon (jintan hitam), terbukti secara spesifik mampu menginaktivasi SARS-CoV-2 dengan akurasi target yang baik. Metode analisis tanaman yang tervalidasi secara umum menggunakan Fase terbalik-Kromatografi Cair Kinerja Tinggi, Spektrofotometri UV-Vis, Kromatografi Gas-Detektor Ionisasi Nyala dan UHPLC-DAD.

DAFTAR PUSTAKA

- Assegaf, S., Kawilarang, A. P. and Handajani, R. (2020) 'Antibacterial Activity Test of Red Ginger Extract (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Against *Streptococcus pyogenes* In vitro', *Biomolecular and Health Science Journal*, 3(1), p. 24. <https://doi.org/10.20473/bhsj.v3i1.19130>.
- Badary, O. A., Hamza, M. S. and Tikamdas, R. (2021) 'Thymoquinone: A promising natural compound with potential benefits for COVID-19 prevention and cure', *Drug Design, Development and Therapy*, 15, pp.

- 1819–1833.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S308863>.
- Chan, C.C., Lam, H., Lee, Y.C., Zhang, X. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*. John Wiley & Sons, New Jersey, ISBN: 978-0-471-25953-4.
- De, A. K. and Bera, T. (2021) 'Analytical method development, validation and stability studies by rp-hplc method for simultaneous estimation of andrografolid and curcumin in co-encapsulated nanostructured lipid carrier drug delivery system', *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 13(5), pp. 73–86. <https://doi.org/10.22159/ijap.2021v13i5.42181>.
- Demirbolat, İ., Kartal, M. and Karik, Ü. (2019) 'Development and validation of a GC-FID method to quantify thymoquinone in black cumin seed oils', *Marmara Pharmaceutical Journal*, 23(3), pp. 506–513. <http://dx.doi.org/10.12991/jrp.2019.157>.
- Enmozhi, S. K. Raja, K., Sebastine, I., Joseph, J. (2020) 'Andrographolide as a potential inhibitor of SARS-CoV-2 main protease: an in silico approach', *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), pp. 1–7. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1760136>.
- Foudah, A. I. Shakeel, F., Yusufoglu, H.S., Ross, S.A., Alam, P. (2020) 'Simultaneous determination of 6-shogaol and 6-gingerol in various ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) extracts and commercial formulations using a green RP-HPTLC-densitometry method', *Foods*, 9(8). <https://doi.org/10.3390/foods9081136>.
- Haridas, M. Sasidhar, V., Nath, P., Abhithaj, J., Sabu, A., Rammanohar, P. (2021) 'Compounds of *Citrus medica* and *Zingiber officinale* for COVID-19 inhibition: in silico evidence for cues from Ayurveda', *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00171-6>.
- Hossain, M.S., Urbi, Z., Sule, A., Rahman, K.M.H. (2014) '*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees: A Review of Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacology', *The Scientific World Journal*, 2014, pp. 1–28, <https://doi.org/10.1155/2014/274905>.
- Illian, D. N. Siregar, E.S., Sumaiyah, S., Utomo, A.R., Nuryawan, A., Basyuni, M. (2021) 'Potential compounds from several Indonesian plants to prevent SARS-CoV-2 infection: A mini-review of SARS-CoV-2 therapeutic targets', *Heliyon*, 7(1), p. e06001. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06001>.
- Jafarzadeh, A., Jafarzadeh, S. and Nemati, M. (2021) 'Therapeutic potential of ginger against COVID-19: Is there enough evidence?', *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 8(4), pp. 267–279. <https://doi.org/10.1016/j.jtcms.2021.10.001>.
- Kajsongkram, T. Rotamporn, S., Limbunruang, S., Thubthimthed, S. (2015) 'Development and Validation of a HPLC Method for 6-Gingerol and 6-Shogaol in Joint Pain Relief Gel Containing Ginger (*Zingiber officinale*)', *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 9(12), pp. 813–817. Available at: <https://www.semanticscholar.org/paper/Development-and-Validation-of-a-HPLC-Method-for-and-Kajsongkram-Rotamporn/70c6e73af7ba19090dfb612450db757240507c17#citing-papers>.
- Kamal, Y. K. T. K. Singh M., Ahmad, S., Alam, P., Salam., S. (2015) 'Stability-indicating RP-HPLC method for the determination of 6-gingerol in polyherbal formulations', *Journal of Analytical Science and Technology*, 6(1), pp. 3–9. <https://doi.org/10.1186/s40543-015-0056-3>.
- Khazdair, M. R., Ghafari, S. and Sadeghi, M. (2021) 'Possible therapeutic effects of *Nigella sativa* and its thymoquinone on COVID-19', *Pharmaceutical Biology*, 59(1), pp. 696–703. <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1931353>.
- Koshak, D. A. E. and Koshak, P. E. A. (2020) '*Nigella sativa* L as a potential phytotherapy for coronavirus disease 2019: A mini review of

- in silico studies', *Current Therapeutic Research - Clinical and Experimental*, 93, p. 100602.
<https://doi.org/10.1016/j.curtheres.2020.100602>.
- Kulyar, M. F., Li, R. and Mehmood, K. (2020) 'Potential influence of *Nagella sativa* (Black cumin) in reinforcing immune system: A hope to decelerate the COVID-19 pandemic', *Phytomedicine*, 85(January), pp. 1–8.
<https://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153277>.
- Mahardika, R. W. Halijah, I., Nurulhusna, A.H., Khalijah, A. (2017) 'Efficacy of four species of Zingiberaceae extract against vectors of dengue, chikungunya and filariasis', *Tropical Biomedicine*, 34(2), pp. 375–387. Available at:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33593018/>
- Mai, C., Nakorn, A. and Park, I. (2018) 'Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS)', *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*, 42(supplement), pp. 93–97. Available at:
[http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding_file/24_PN_FP_Sukanya%20Settharaksa%20\(102-106\).pdf](http://www.tjps.pharm.chula.ac.th/proceedings/backend/proceeding_file/24_PN_FP_Sukanya%20Settharaksa%20(102-106).pdf)
- Murugan, N. A., Pandian, C. J. and Jeyakanthan, J. (2021) 'Computational investigation on *Andrographis paniculata* phytochemicals to evaluate their potency against SARS-CoV-2 in comparison to known antiviral compounds in drug trials', *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(12), pp. 4415–4426.
<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1777901>.
- Nikam, A. R., Sathiyarayanan, L. and Mahadik, K. R. (2013) 'Validation of reversed-phase high-performance liquid chromatography method for simultaneous determination of 6-, 8-, and 10-shogaol from ginger preparations', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(SUPPL.1), pp. 432–437,
<https://doi.org/10.22159/ijpps.2020v12i4.36446>.
- Pancham, Y. Patil, M., Girish, B., Mannur, V. (2019) 'Development and Validation of Analytical Method for Determination of Andrographolide in Bulk Powder', *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 7(1), pp. 2899–2903.
<https://doi.org/10.21276/ijprhs.2019.01.08>.
- Rajagopal, K. Varakumar, P., Baliwada, A., Byran, G. (2020) 'Activity of phytochemical constituents of *Curcuma longa* (turmeric) and *Andrographis paniculata* against coronavirus (COVID-19): an in silico approach', *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(1), pp. 1–10.
<https://doi.org/10.1186/s43094-020-00126-x>.
- Rathinavel, T. Palanisamu, M., Palanisamy, S., Subramanian, A., Thangaswamy, S. (2020) 'Phytochemical 6-Gingerol – A promising Drug of choice for COVID-19', *International Journal of Advanced Science and Engineering*, 06(04), pp. 1482–1489.
<http://dx.doi.org/10.29294/IJASE.6.4.2020.1482-1489>.
- Sa-Ngiamsuntorn, K. Suksatu, A., Pewkliang, Y., Thongsri, P., Kanjanasirirat, P., Manopwisedjaroen, S., Charoensutthivarakul, S., Wongtrakoongate, P., Pitiporn, S., Chaopreecha, J., Kongsomros, S., Jearawuttanakul, K., Wannalo, W., Khemawoot, P., Chutipongtanate, S., Borwornpinyo, S., Thitithanyanont, A., dan Hongeng, S. (2021) 'Anti-SARS-CoV-2 Activity of *Andrographis paniculata* Extract and Its Major Component Andrographolide in Human Lung Epithelial Cells and Cytotoxicity Evaluation in Major Organ Cell Representatives', *Journal of Natural Products*, 84(4), pp. 1261–1270.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.0c01324>.
- Siddhartha, K. M., Neelam, S. S. and Rajendran, S. S. (2007) 'Plant Review *Andrographis paniculata* (Kalmegh): A Review', *Pharmacognosy Reviews*, 1(2), pp. 283–298. Available at:
<https://www.phcogrev.com/article/2007/1/2-11>
- Singh, B., Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N. (2020) 'Phenolic composition, antioxidant potential

- and health benefits of citrus peel', *Food Research International*, 132(February), p. 109114.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109114>.
- Srivastava, Ritesh Kumar and Kumar, S.S., 2017. Analytical method validation: an updated review. *Eur. J. Pharm. Med. Res.* 4, 774–784. Available at: https://storage.googleapis.com/journal-uploads/ejpmr/article_issue/1504521021.pdf
- Sultana, S. Asif, H.M., Akhtar, N., Iqbal, A., Nazar, H., Rehman, R.U. (2015) 'Nigella sativa : Monograph', 4(4), pp. 103–106. Available at: <https://www.phytojournal.com/archives/2015.v4.i4.687/nigella-sativa-monograph>
- Supu, R. D., Diantini, A. and Levita, J. (2019) 'RED GINGER (Zingiber officinale var. rubrum): ITS CHEMICAL CONSTITUENTS, PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES AND SAFETY', *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), pp. 23–29. <https://doi.org/10.33751/jf.v8i1.1168>.
- Susilo, A., Rumende, C.M., Pitoyo, C.W., Santoso, W.D., Yulianti, M., Herikurniawan, H., Sinto, R., Singh, G., Nainggolan, L., Nelwan, E.J., Chen, L.K., Widhani, A., Wijaya, E., Wicaksana, B., Maksum, M., Annisa, F., Jasirwan, C.O.M., Yuniastuti, E. (2020) 'Coronavirus Disease 2019: Tinjauan Literatur Terkini', *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(1), p. 45. <http://dx.doi.org/10.7454/jpdi.v7i1.415>.
- Syukri, Y., Martien, R., Lukitaningsih, E., Nurgoho, A. E. (2016) 'Quantification of andrographolide isolated from andrographis paniculata nees obtained from traditional market in yogyakarta using validated HPLC', *Indonesian Journal of Chemistry*, 16(2), pp. 190–197. <https://doi.org/10.22146/ijc.21163>.
- Syukri, Y., Nugroho, A.E., Martien, R., Lukitaningsih, E. (2015) 'Validasi Penetapan Kadar Isolat Andrografolid dari Tanaman Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Menggunakan HPLC', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(1), p. 8. <http://dx.doi.org/10.29208/jsfk.2015.2.1.42>
- Taleuzzaman, M., Imam, S. S. and Gilani, S. J. (2018) 'Quantitative Determination of thymoquinone in Nigella Sativa and its nano formulation using validated stability indicating HPTLC densitometric method', *International Current Pharmaceutical Journal*, 6(10), pp. 53–60. <https://doi.org/10.3329/icpj.v6i10.35897>.
- Tan, M. C. S., Oyong, G., Shen, C., Ragasa, C. (2016) 'Secondary metabolites from Andrographis paniculata (Burm.f.) nees', *Der Pharmacia Lettre*, 8(13), pp. 157–160. Available at: https://www.researchgate.net/publication/305928113_Secondary_Metabolites_from_Andrographis_paniculata_Burm_f_Nees
- Tang, X., Xu, C., Yagiz, Y., Simonne, A., Marshall, M.R. (2018) 'Phytochemical profiles, and antimicrobial and antioxidant activities of greater galangal [Alpinia galanga (Linn.) Swartz.] flowers', *Food Chemistry*, 255, pp. 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.027>.
- Trivedi, S., Belgamwar, V. and Wadher, K. (2021) 'Development and Validation of Ultra Visible Spectrophotometric Method for the Estimation of Thymoquinone', *Asian Journal of Applied Chemistry Research*, 8(2), pp. 25–30. <https://doi.org/10.9734/ajacr/2021/v8i230189>.
- Yudi Utomo, R. and Meiyanto, E. (2020) 'Revealing the Potency of Citrus and Galangal Constituents to Halt SARS-CoV-2 Infection', 2(March), pp. 1–8. <https://doi.org/10.20944/preprints202003.0214.v1>.