

**UJI ANTIVIRUS SENYAWA ETHYL 4-(4-HYDROXY-3-METHOXYPHENYL)-
6-METHYL-2-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDROPYRIMIDINE-5-CARBOXYLATE
DENGAN MODEL NEWCASTLE DISEASE
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**



Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Fakultas Farmasi

Oleh:

DHEA ARUM EKA AYU SAJDAH

K 100 180 198

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2022**

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI ANTIVIRUS SENYAWA *ETHYL 4-(4-HYDROXY-3-METHOXYPHENYL)-6-METHYL-2-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDROPYRIMIDINE-5-CARBOXYLATE*
DENGAN MODEL NEWCASTLE DISEASE**

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

**DHEA ARUM EKA AYU SAJDAH
K 100 180 198**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Apt. Azis Saifudin, Ph.D.

NIK.956

HALAMAN PENGESAHAN

UJI ANTIVIRUS SENYAWA ETHYL 4-(4-HYDROXY-3-METHOXYPHENYL)-6-METHYL-2-OXO-1,2,3,4- TETRAHYDROPYRIMIDINE-5-CARBOXYLATE DENGAN MODEL NEWCASTLE DISEASE

Oleh:

DHEA ARUM EKA AYU SAJDAH

K100180198

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
dan dinyatakan telah memenuhi syarat pada:

13/08/2022

Dewan Penguji:

Ketua Dewan Penguji: apt. Ika Trisharyanti Dian K., M.Farm.

Anggota 1 Dewan Penguji: apt. Peni Indrayudha, Ph.D.

Anggota 2 Dewan Penguji/Pembimbing: apt. Azis Saifudin, Ph.D.

Ika *Dewi* *Peni*

Mengesahkan
Dekan,



[Signature]
apt. Erindyah Retno W., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam publikasi ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 21 Mei 2022

Penulis

DHEA ARUM EKA AYU SAJDAH
K 100 180 198

UJI ANTIVIRUS SENYAWA ETHYL 4-(4-HYDROXY-3-METHOXYPHENYL-2-OXO-1,2,3,4-TETRAHYDROPYRIMIDINE-5-CARBOXYLATE DENGAN MODEL NEWCASTLE DISEASE

Abstrak

Newcastle Disease termasuk amplop virus yang memiliki dua protein membran, protein hemagglutinin-neuraminidase (HN) yang terkait dengan pelekatan dan pelepasan sel, dan fusi protein fusi (F) yang memediasi selubung virus dengan membran seluler. Infeksi *Newcastle Disease* di unggas adanya tanda kelainan patologi di organ limfoid humoral (bursa fabricius) dan seluler (timus dan limpa). Kelainan patologi tersebut mampu mempengaruhi kerja sistem kekebalan spesifik dan non-spesifik dalam menghambat infeksi virus *Newcastle Disease*. Senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate dapat digunakan sebagai antiviral. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antivirus senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate terhadap virus *Newcastle Disease*, yang diinokulasikan pada ayam berembrio. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimental dengan menggunakan 13 telur ayam berembrio yang dibagi atas 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Uji yang digunakan yakni uji hemagglutinasi, metode ini untuk mengetahui titer virus. Titer virus dapat diketahui dengan melihat sumuran terakhir menunjukkan hemagglutinasi positif, yaitu sumuran dengan faktor pengenceran terbesar dari isolat yang terjadi hemagglutinasi. Mikrotiter pada mikroplate yang dihitung dengan rumus daya hambat dapat menunjukkan presentase penghambatan infeksi. Nilai yang didapat pada konsentrasi 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ adalah 0% pada replikasi I, II, III. Pada konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ didapat 86,621% pada replikasi I. Sedangkan pada kelompok konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diperoleh 86,621% pada replikasi I; 99,951% pada replikasi II; 99,609% pada replikasi III. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate efektif mampu menghambat virus *Newcastle Disease* pada konsentrasi dosis 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Kata Kunci: *Newcastle Disease*, senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate, hemagglutinasi, konsentrasi

Abstract

Newcastle Disease is kind of a viral envelope who has two membrane proteins, the hemagglutinin-neuraminidase (HN) protein which is associated with cell attachment and release, and the fusion protein (F) which mediates the viral envelope with the cellular membrane (Uddin et al., 2017). *Newcastle Disease* infection in poultry is characterized by pathological abnormalities in the humoral (bursa fabricius) and cellular (thymus and spleen) lymphoid organs. These pathological abnormalities can affect the work of the specific and non-specific immune systems in inhibits *Newcastle Disease* virus infection. Compound by ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate can be used as an antiviral. This study has purpose to determine the effect of activity of the compound by ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate when it use to *Newcastle Disease* virus, which was inoculated in embryonic chickens. The method used in this study was an experimental method using 13 embryonic chicken eggs which were divided for 4 groups, that was 1 control groups and 3 treatment groups. The test used is the hemagglutination test, this method is to determine the virus titer. Virus titer can be

determined by looking at the last well that shows positive hemagglutination, that is the well with the largest dilution factor of the isolates where hemagglutination occurs. The microtiter on the microplate calculated by the inhibitory formula can show the percentage of infection inhibition. The value obtained at a concentration of 1 μ g/mL was 0% in I, II, III replications. Then, at a concentration of 10 μ g/mL obtained 86.621% in the third replication. While in the concentration group of 100 μ g/mL obtained 86.621% in replication I; 99.951% in replication II; 99.609% in replication III. The results showed that the administration of the compound ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate was effective in inhibiting the *Newcastle Disease virus* at a dose concentration of 100 μ g/mL.

Keywords: *Newcastle Disease*, compound ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate, hemagglutination, concentration

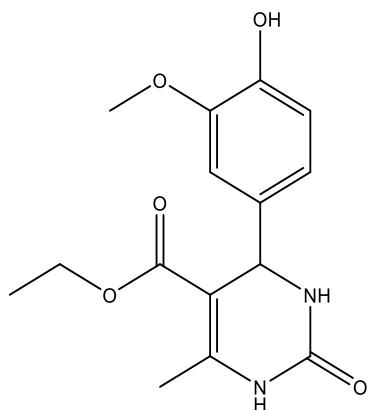
1.PENDAHULUAN

Newcastle Disease Virus termasuk dalam genus *Avulavirus*, famili *Paramyxoviridae*, dan ordo *Mononegavirales*. NDV adalah amplop virus yang memiliki dua protein membran, protein hemagglutinin-neuraminidase (HN) yang terkait dengan pelekatan dan pelepasan sel, dan fusi protein fusi (F) yang memediasi selubung virus dengan membran seluler (Uddin *et al.*, 2017).

Pemilihan *Newcastle Disease Virus* dikarenakan sebagai strategi dalam mencari obat antiviral SARS-COV2 (COVID 19). SARS-COV2 memiliki kemampuan dalam mengikat reseptor ACE2 manusia, yang sebagai faktor berpengaruh dalam patogenitasnya. Lokasi pemotongan dikenali oleh protease like-furin seperti ciri khas *Newcastle Disease* (Nugraha, 2021).

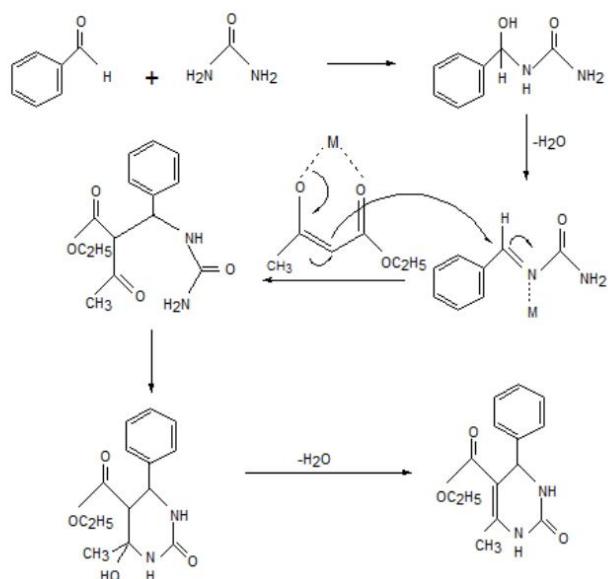
Vaksinasi merupakan usaha pencegahan *Newcastle Disease Virus*. Umumnya dilakukan selama 4 hari kemudian 4 minggu dan diulangi selama 4 bulan. Cara tersebut mampu merangsang pembentukan antibodi dengan titer tinggi (Darminto, 1994).

Penelitian ini menggunakan senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate* pada Gambar 1. Senyawa disintesis dengan tahapan yaitu ditambahkan 3,5-dimethylbenzaldehid (4 mmol), urea (5 mmol), etil asetoasetat (5 mmol) dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat (dijaga pH 5) (Fauzi, 2022). Campuran di refluks selama 45 menit pada suhu 80°C. Campuran dicuci menggunakan aquadest dan disaring. Hasil produk kemudian di rekristalisasi dengan etanol. Menurut penelitian (Andrei *et al.*, 2019) menyatakan bahwa obat-obat antiviral merupakan analog nukleosida sintetik. Resistensi virus dan mutasi virus terhadap analog nukleosida sintetik telah dilaporkan pada setiap antiviral.



Gambar 1. Senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate

Produk berwarna putih jernih, berbentuk serbuk, memiliki massa dan berat sebesar 306.



Gambar 2. Mekanisme reaksi senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4 tetrahydropyrimidine-5-carboxylate

Mekanisme reaksi pembentukan senyawa pada Gambar 2 dapat diterangkan bahwa katalis asam akan memprotonasikan atom oksigen di gugus karbonil benzaldehid kemudian mengaktivasi penyerangan pasangan electron bebas dari arah atom nitrogen urea ke arah atom karbon pada gugus karbonil benzaldehid yang bersifat elektrofil membentuk intermediet ion iminium. Etil asetoasetat akan mengalami protonasi di gugus karbonil berikatan dengan atom H di zeolite membentuk enol yang kemudian menyerang ion iminium oleh etil asetoasetat menghasilkan ureida rantai terbuka melalui siklisasi melepas cairan dan membentuk produk (Saripudin and Darmawan, 2018)

Langkah untuk mengetahui hasil yaitu dengan metode hemagglutinasi. Hemagglutinasi digunakan untuk diagnosis titer virus. Metode ini bergantung pada fitur spesifik dari beberapa virus yang dapat

menyerap ke sel darah merah (eritrosit). Secara khusus, hemaglutinin (HA), suatu glikoprotein selubung dari beberapa virus berselubung, memberikan sifat ini. Prinsip aglutinasi adalah ketika senyawa (antibodi) berikatan atau bereaksi dengan sel darah merah (antigen). Faktor-faktor yang mempengaruhi reaksi tersebut diantaranya muatan ion sel darah merah, kesegaran serum, pH, suhu, rasio antibodi terhadap antigen, kekuatan ion (Raehun *et al.*, 2019). Titer virus dapat diketahui dengan melihat sumuran terakhir menunjukkan hemaglutinasi positif, yaitu sumuran dengan faktor pengenceran terbesar dari isolat yang terjadi hemaglutinasi. Hemaglutinasi ditandai oleh adanya agregat-agregat di dasar sumur (Sulistyani *et al.*, 2009). Di dalam kondisi standar, 1 unit HA sesuai dengan 104 partikel per mL. Hemaglutinasi adalah metode klasik untuk diagnosis virus, tetapi masih digunakan. Salah satu keuntungan dari metode ini adalah tidak memerlukan peralatan apa pun. Selain itu, ini kuat dan cepat dalam diagnostik, tetapi sensitivitasnya agak terbatas. Metode eksperimental yang digunakan di laboratorium virus untuk tujuan penelitian, termasuk kultivasi virus, kuantisasi, pemurnian, dan analisis genetik (Ryu, 2016). Tujuan penelitian yakni untuk melihat aktivitas efek dari senyawa hasil sintesis ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate terhadap virus *Newcastle Disease*.

2.METODE

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimen dengan uji menggunakan sintesis ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine untuk membuktikan pengaruh pemberian senyawa hasil sintesis ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate terhadap virus *Newcastle Disease*.

2.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan pada penelitian ini yakni inkubator, nampan telur, microplate dasar U, multimikro pipet, vial, spiritus, bor telur. Bahan yang digunakan pada penelitian kali ini adalah telur ayam berembrio yang berumur 9 hari, bakteri *ampicillin*, bakteri *streptomycin*, vaksin *Newcastle Disease virus* menggunakan vaksin medivac ND La Sota dibeli di Poultry Shop Jl. Sudirman Solo, Eritrosit ayam (sebagai marker keberhasilan senyawa dan virus menginfeksi uji), Etanol 96%, Etanol 70%, Larutan PBS (Phosphate Buffer Saline), DMSO (sebagai pelarut senyawa), aquades.

2.2 Sintesis Senyawa

3,5-dimethylbenzaldehid (4 mmol), urea (5 mmol), etil asetoasetat (5 mmol) dalam labu alas bulat kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat (dijaga pH 5) (Fauzi, et. al, tesis S2). Campuran direfluks selama 45 menit pada suhu 80°C. Campuran dicuci menggunakan aquades dan disaring. Hasil produk kemudian direkristalisasi dengan etanol 70%. Pada penelitian, digunakan senyawa yang sudah jadi.

2.3 Pembuatan Larutan Stok Senyawa

Larutan standar dibuat dengan menimbang 10,0 mg serbuk senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate, kemudian dimasukkan kedalam labu takar 10 mL, dilarutkan dengan DMSO hingga tanda batas, dan diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL, dilanjutkan dengan pengenceran bertingkat dengan di ad 1 mL dan diperoleh konsentrasi 100 µg/mL, 10 µg/mL, dan 1 µg/mL.

2.4 Persiapan Telur Ayam Berembrio sebagai Uji

Telur ayam berembrio yang digunakan berumur 9 hari, memiliki bentuk dan berat yang hampir mirip, rongga udara telur terletak pada ujung telur. Telur ditempatkan pada inkubator dengan suhu 37°C (Kusuma and Purwaningrum, 2012)

2.5 Preparasi Antibiotik

Antibiotik yang digunakan ialah streptomycin 200 mg dan ampicillin 200 mg. Masing-masing antibiotik tersebut dilarutkan dalam akuades steril 1 mL, kemudian dicampur.

2.6 Preparasi Virus untuk Uji Antiviral

Virus *Newcastle disease* (ND) diperoleh dari vaksin Medivac ND La Sota dari Poultry Shop Jl. Sudirman Solo. Medivac merupakan vaksin yang diproduksi dari Medion menggunakan telur SPF untuk memproduksi vaksin untuk memastikan produk bebas dari kontaminasi mikroorganisme patogen penyebab penyakit unggas. Semua vaksin harus melewati berbagai uji laboratorium seperti sterilitas, kemurnian, keamanan dan potensi, serta uji coba lapangan pada hewan hidup. Standar Kualitas Medivac sesuai dengan USDA, Farmakope Eropa dan Inggris, Standar ASEAN dan Farmakope Kesehatan Hewan Indonesia (Medion Farma, 2022). Vaksin berbentuk padat kering. Penyimpanan vaksin pada suhu -4C. Vaksin 50 dosis sejumlah 3. Masing-masing dilarutkan 1 mL larutan PBS steril, diambil 3 mL dalam eppendorf ditambah 1,8 mL antibiotik, tujuannya untuk menghindari kontaminasi, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 60 menit untuk mengoptimalkan kerja antibiotik (Setyasari, 2007).

2.7 Preparasi Eritrosit Ayam

Darah ayam segar dicampur EDTA sejumlah 20 mg tujuannya agar darah ayam tersebut tidak menggumpal. Cara mendapatkan eritrosit yaitu dengan teknik pengambilan darah pada ayam yang masih hidup dengan sput 3 ml dimasukkan ke vial yang sebelumnya sudah diisikan antikoagulan. Darah tersebut disentrifuse selama 1 menit dengan kecepatan 3000 rpm (rotasi per menit). Supernatan yang terbentuk dibuang, lalu sisa dari endapan dicuci dengan menambah PBS, lalu disentrifuge lagi selama 1 menit. Setelah pembentukan endapan, supernatannya dibuang. Kemudian, dicuci ulang sebanyak 3 kali hingga mendapat konsentrasi eritrosit ayam sebesar 100%. Suspensi eritrosit ayam dengan konsentrasi 0,5% diperoleh dengan penambahan PBS hingga konsentrasi 0,5%.

2.8 Uji Daya Antiviral

Uji ini dibagi atas 3 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 3 telur ayam berembrio serta 2 kelompok kontrol dengan masing-masing 2 telur ayam berembrio. Kelompok 1 virus dan senyawa 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil 0,2 mL. Kelompok 2 virus dan senyawa 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil 0,2 mL. Kelompok 3 virus dan senyawa 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ diambil 0,2 mL. Kelompok kontrol menggunakan *Newcastle Disease Virus* yang sudah dicampur dengan antibiotik yang telah diaktifkan diambil 0,2 mL. Kemudian diinjeksikan ke dalam telur ayam berembrio yang telah dilubangi dengan bor telur. Setelah diinokulasikan, lubang telur ditutup menggunakan selotip. Kemudian telur diinkubasi selama 3 hari dalam mesin penetas.

2.9 Uji Hemaglutinasi

Uji hemaglutinasi dilakukan di dalam pelat mikro maka disebut sebagai uji hemaglutinasi mikrotiter untuk mengetahui titer isolat, yang mempunyai 96 sumuran, terdiri dari 8 baris dan tiap baris mempunyai 12 sumuran. Langkah pertama yakni lubang mikroplate diteteskan larutan PBS sebanyak 50 μL pada lubang 1 sampai 12. Hasil inokulasi virus ditambahkan 50 μL pada semua lubang (baris A sampai baris D). Baris A sebagai kelompok I, Baris B sebagai kelompok II, Baris C sebagai kelompok IV (kontrol virus). Baris A di microplate lain sebagai kelompok I, Baris B sebagai kelompok IV (kontrol virus) masing-masing baris serta diencerkan diambil seri konsentrasi $\frac{1}{2}$ kemudian $\frac{1}{4}$ dan seterusnya hingga pada seri sumuran pada lubang no 12 dan yang paling akhir dibuang. Terakhir, diberikan eritrosit ayam dengan konsentrasi 0,5% 50 μL ke semua sumuran, mikroplate dikocok dan didiamkan selama 15 menit. Hasil uji HA positif ditandai oleh adanya endapan dari eritrosit berupa titik didalam tengah sumuran. Perhitungan dimulai dari lubang positif dari lubang pertama.

3.HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Efek penambahan antibiotik dan pengeraaan pada LAF terhadap adanya kontaminasi pada pertumbuhan virus dalam percobaan

Efek penambahan antibiotik dan pengeraaan pada LAF terhadap adanya kontaminasi pada pertumbuhan virus dalam percobaan			
<i>Newcastle Disease Virus</i> yang dikerjakan tanpa LAF	<i>Newcastle Disease Virus</i> yang dikerjakan pada LAF	<i>Newcastle Disease Virus</i> yang ditambahkan antibiotik yang dikerjakan tanpa LAF	<i>Newcastle Disease Virus</i> yang ditambahkan antibiotik yang dikerjakan pada LAF
Adanya kontaminasi	Adanya kontaminasi	Sedikit terjadi	Sedikit terjadi

		kontaminasi	kontaminasi
--	--	-------------	-------------

Tabel 2. Hasil titer daya hambat antivirus senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate*

Replikasi	Hasil titer daya hambat pada perlakuan				
	100 µg/mL	10 µg/mL	1 µg/mL	Kontrol 1	Kontrol 2
I	2^9	2^9	2^{12}	2^{12}	2^{12}
II	2^1	2^{12}	2^{12}	2^{12}	2^{12}
III	2^4	2^{12}	2^{12}	2^{12}	2^0

Tabel 3. Hasil persentase daya hambat antivirus senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate* terhadap Newcastle Disease Virus

Replikasi	Hasil Persentase Daya Hambat		
	1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL
I	0%	86,621%	86,621%
II	0%	0%	99,951%
III	0%	0%	99,609%

Tabel 4. Perbandingan hasil daya hambat antivirus senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate* dengan Ribavirin dalam menghambat Newcastle Disease Virus

Senyawa <i>ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate</i>			Ribavirin (Omer <i>et al.</i> , 2014)		
1 µg/mL	10 µg/mL	100 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL
Positif aglutinasi	Positif aglutinasi	Positif dan negatif aglutinasi	Positif aglutinasi	Negatif aglutinasi	Negatif aglutinasi
Positif aglutinasi	Positif aglutinasi	Positif dan negatif aglutinasi	Positif aglutinasi	Negatif aglutinasi	Negatif aglutinasi

Positif aglutinasi	Positif aglutinasi	Positif dan negatif aglutinasi	Positif aglutinasi	Negatif aglutinasi	Negatif aglutinasi
--------------------	--------------------	--------------------------------	--------------------	--------------------	--------------------

+ = aglutinasi, - =tdk terjadi aglutinasi

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan pada virus yang dilakukan tanpa LAF terjadi adanya kontaminasi. Kemudian, ketika virus dilakukan pada LAF masih terjadi adanya kontaminasi. Lalu, apabila virus ditambahkan antibiotic ketika dikerjakan tanpa LAF menunjukkan sedikit terjadi adanya kontaminasi. Sedangkan, ketika virus ditambahkan antibiotik dan dikerjakan pada LAF menunjukkan adanya kontaminasi walaupun sedikit. Hal ini menunjukkan virus yang ditambahkan antibiotic dan dikerjakan pada LAF maka faktor tersebut dapat mempengaruhi hasil kerja penelitian titer daya hambat antivirus senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate* terhadap virus *Newcastle Disease*.

Hasil titer yang didapatkan pada Tabel 2 digunakan untuk menghitung persentase daya hambat pada Tabel 3. Dari perhitungan pada Tabel 3 didapatkan bahwa untuk konsentrasi 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mencapai 0% pada semua replikasi. Pada konsentrasi dosis 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ daya hambatnya pada replikasi I 86,621%; replikasi II 0%; replikasi III 0% maka tidak bisa diketahui hasil tersebut efektif atau tidak karena 2 replikasi lainnya tidak menunjukkan adanya penghambatan. Perlu dilakukan pengulangan pada penelitian. Pada konsentrasi dosis 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mencapai untuk replikasi I 86,621%; replikasi II 99,951%; replikasi III 99,609% maka hasil yang diinginkan tercapai. Hal tersebut mampu menunjukkan bahwa konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mempunyai daya hambat terbesar dibandingkan dengan konsentrasi 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Dari hal tersebut, maka dapat diambil kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi dosis maka semakin tinggi daya hambat untuk menginfeksi virus *Newcastle Disease*. Senyawa pada konsentrasi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mampu menghambat serta mematikan semua virus *Newcastle Disease*.

Pada Tabel 4 untuk kontrol positif, dilakukan perbandingan dari hasil titer senyawa dibandingkan dengan Ribavirin dari jurnal ilmiah yang sudah diketahui aktivitasnya dalam menghambat Virus *Newcastle Disease*. Hasil positif aglutinasi menunjukkan adanya kematian hemagglutinasi pada penelitian. Sedangkan, negatif aglutinasi adanya kehidupan hemagglutinasi dalam pengujian. Dalam penelitian menunjukkan banyak positif aglutinasi dibandingkan ribavirin yang dalam menghambat virus yang menunjukkan banyak negatif aglutinasi maka penelitian kurang sensitif dalam melihat efektivitas senyawa terhadap virus *Newcastle Disease*.

Pemilihan konsentrasi bertujuan untuk mengetahui besar daya hambat dari berbagai konsentrasi yang bervariasi. Kemudian, dilihat hasil titer cairan allantois embrio ayam pada masing-masing

konsentrasi sebagai respon daya hambat senyawa terhadap virus *Newcastle disease* dalam allantois embrio ayam. Kontrol virus digunakan sebagai pembanding titer virus pada ruang alantois telur ayam yang diberi senyawa dan yang tidak diberikan senyawa.

4.PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Pengerjaan menggunakan virus yang ditambahkan antibiotik dan dikerjakan pada LAF menunjukkan kontaminasi yang sedikit ketimbang tanpa penambahan antibiotik dan tanpa LAF. Maka dari itu, faktor tersebut dapat mempengaruhi hasil kerja penelitian titer daya hambat antivirus senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate* terhadap virus *Newcastle Disease*. Berdasarkan penelitian ini, pemberian senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate* efektif mampu menghambat virus *Newcastle Disease* pada konsentrasi dosis 100 µg/mL. Untuk dosis yang lebih rendah dengan konsentrasi 10 µg/mL juga mampu menghambat aktivitas virus namun, kurang maksimal dan perlu penelitian lebih lanjut karena pada replikasi lainnya tidak ada penghambatan. Kemudian, pada konsentrasi 1 µg/mL tidak tercapai adanya penghambatan. Penelitian menunjukkan kurang adanya sensitifitas dalam melihat efektivitas senyawa terhadap virus *Newcastle Disease*.

4.2 Saran

Pada penelitian ini didapatkan hasil yang tidak bisa dipastikan keakuratannya dikarenakan replikasi yang tidak menunjukkan hasil yang mendekati sama serta kurang adanya sensitifitas dalam melihat efektivitas senyawa *ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate* terhadap virus *Newcastle Disease*.

PERSANTUNAN

Ungkapan terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan pelayanan pendidikan, kepada Fakultas Farmasi UMS yang telah menyediakan fasilitas laboratorium untuk terlaksananya penelitian ini, Serta teruntuk keluarga dan teman teman terdekat saya yang sudah memberi semangat dalam proses pengerjaan skripsi ini.

DAFTAR PUSTAKA

Andrei G., Trompet E. and Snoeck R., 2019, Novel therapeutics for Epstein–Barr virus, *Molecules*, 24 (5)

Darminto, 1994, Vaksinasi Penyakit Tetelo Secara Kontak Pada Ayam Buras : Perbandingan Analisis Antara Kondisi Laboratorium dan Lapangan.

Fauzi A., 2022, Daftar Senyawa Sintesis.

Kusuma A.M. and Purwaningrum O., 2012, Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruitz & Pav*) terhadap Virus Newcastle Disease (Nd) dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya, 08 (01), 51–70.

Medion Farma, 2022, Medivac, Terdapat di: <https://www.medionfarma.co.id/en/medivac-en/>.

Nugraha Y., 2021, Strategi Mencari Obat Antiviral SARS- COV2 (COVID-19) Strategi Mencari Obat Antiviral SARS-COV 2 (August 2020)

Omer M.O., Almalki W.H., Shahid I., Khuram S., Altaf I. and Imran S., 2014, Comparative study to evaluate the anti-viral efficacy of *Glycyrrhiza glabra* extract and ribavirin against the Newcastle disease virus, *Pharmacognosy Research*, 6 (1), 6–11.

Rae hun R., Jiwintarum Y. and Fauzi I., 2019, Pengaruh Waktu Penyimpanan Antisera Terhadap Daya Aglutinasi Metode Slide, *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS)*, 6 (1), 16.

Ryu W.-S., 2016, *Molecular virology of human pathogenic viruses*, first edit., Academic Press. Terdapat di: <https://www.elsevier.com/books/molecular-virology-of-human-pathogenic-viruses/ryu/978-0-12-800838-6>.

Saripudin A. and Darmawan I., 2018, Produksi Zat Antimikroba Melalui Reaksi Biginelli Menggunakan Katalis Passiflora Flavicarpa 1 , 2 Program Studi Pendidikan Kimia Program Pascasarjana Universitas Negeri Semarang , , Indonesia * Email : aceng.saripudin@yahoo.com, *Walisono Journal Of Chemistry*, 2 (1), 31–36.

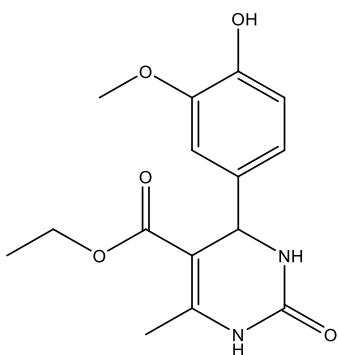
Setyasari R., 2007, Efek Ekstrak Etanol Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga Val.*) terhadap Larva Udang Artemia salina Leach. dan Virus Newcastle Disease, Terdapat di: <http://eprint.ums.ac.id/id/eprint/16878>.

Sulistyani N., Azizah I. and Kuswandi M., 2009, Aktivitas Antiviral Ekstrak Etanolik Biji Srikaya (*Annona squamosa L.*) terhadap Virus Newcastle Disease Pada Telur Ayam Berembrio the Antiviral Activity of Srikaya Seed (*Annona squamosa L.*) Ethanol Extract Against Newcastle Disease Virus in Chicken Embryo, 20 (2), 62–67.

Uddin H., Islam K., Barua M., Islam S. and Ahad A., 2017, Characterization of Hemagglutination Activity of Emerging Newcastle Disease Virus in Bangladesh, *International Journal of One Health*, 3, 28–35.

Lampiran

Lampiran 1. Senyawa



Keterangan :

IUPAC : ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate

Chemical Formula: C₁₅H₁₈N₂O₅

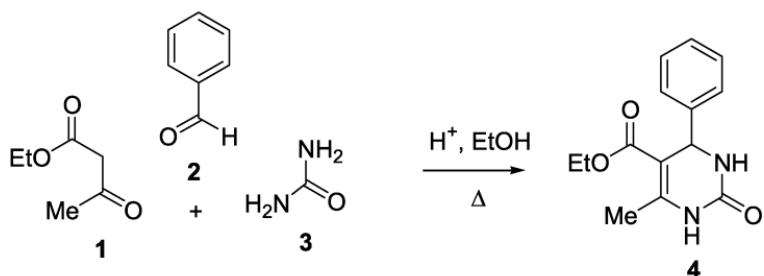
Exact Mass: 306.12

Molecular Weight: 306.32

m/z: 306.12 (100.0%), 307.12 (17.0%), 308.13 (2.3%)

Elemental Analysis: C, 58.82; H, 5.92; N, 9.15; O, 26.12

Reaksi



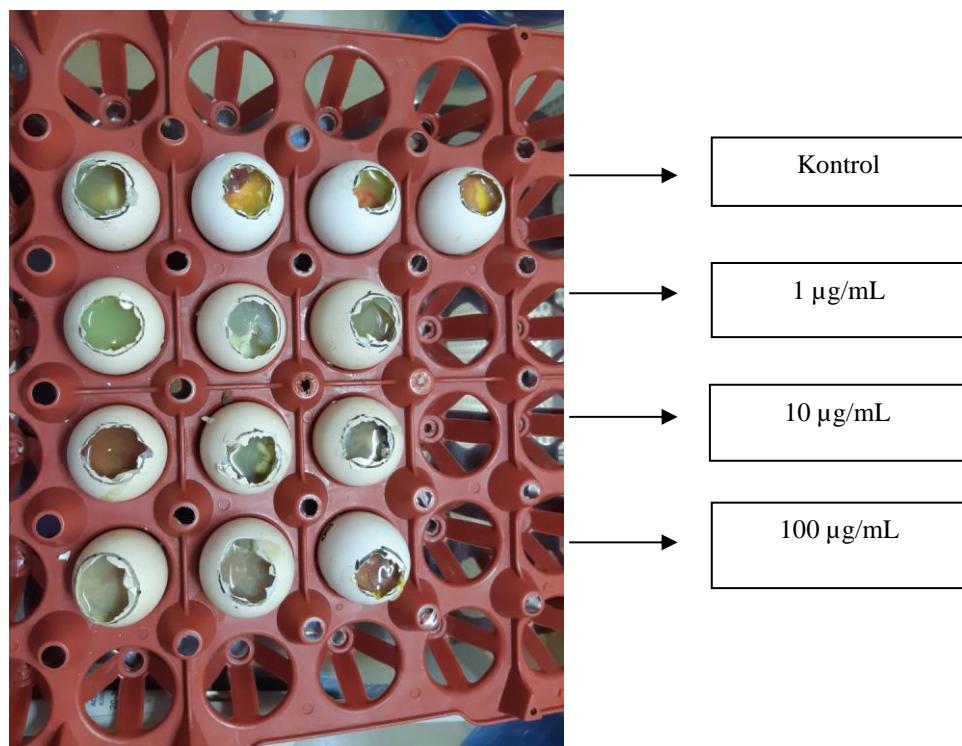
Scheme 1. The original Biginelli dihydropyrimidine synthesis (1893).

Pada 1893, P.Biginelli memaparkan adanya reaksi siklokondensasi asam-katalis etil asetoasetat (1), benzaldehida (2) dan urea (3). Reaksi dilakukan hanya dengan memanaskan campuran tiga komponen yang dilarutkan dalam etanol dengan katalis jumlah HCl pada suhu refluks. Produk ini sintesis satu pot, tiga komponen baru yang diendapkan pada pendinginan campuran reaksi diidentifikasi sebagai 3,4-dihydropyrimidin-2(1H)-one 4, dan reaksi tersebut saat ini disebut sebagai Reaksi Biginelli, Kondensasi Biginelli atau sebagai Sintesis Biginelli dihydropyrimidin.

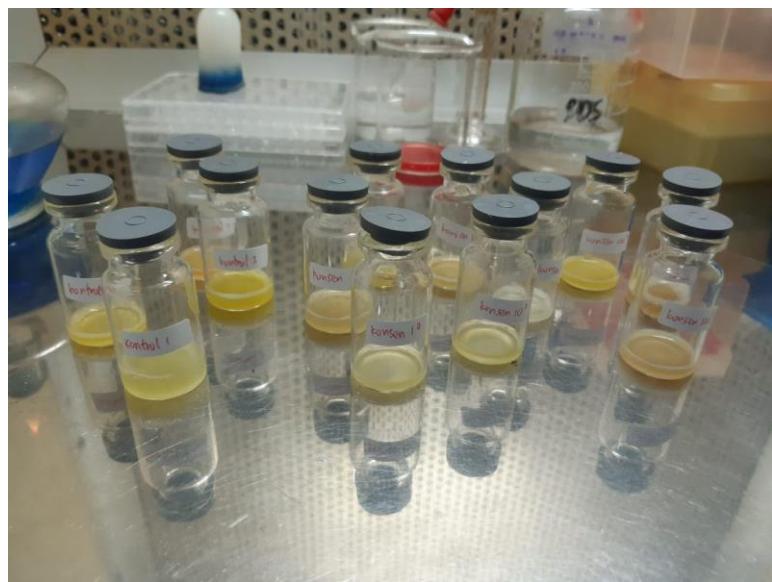
Lampiran 2. Senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidine-5-carboxylate



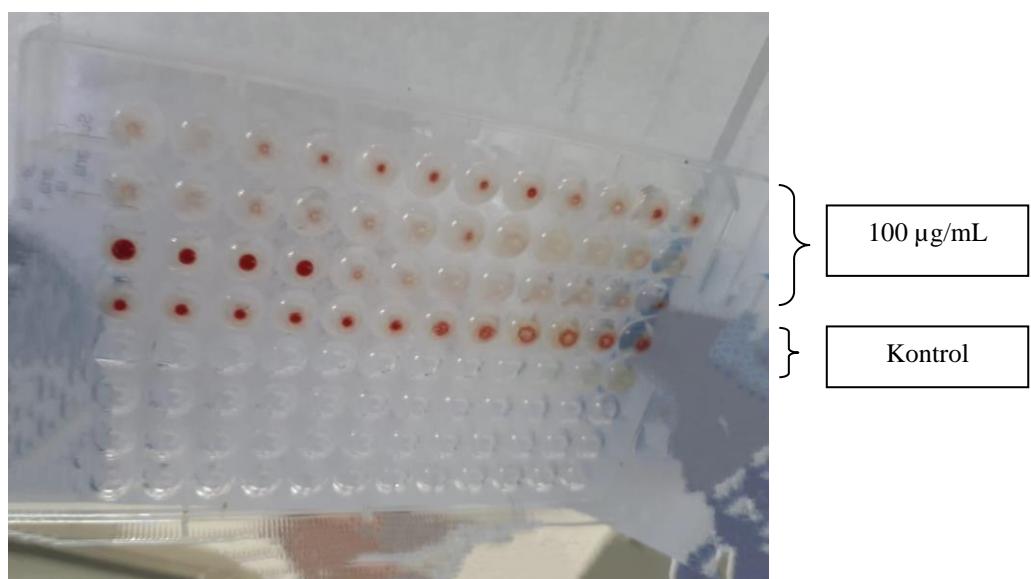
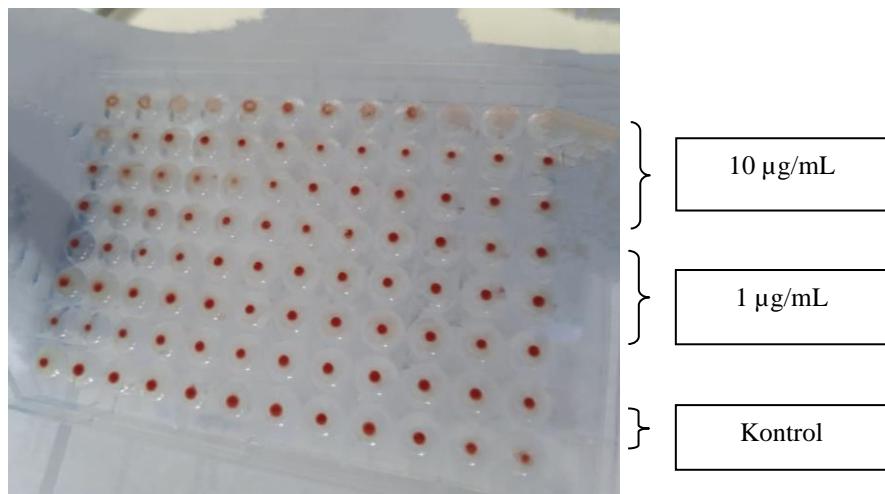
Lampiran 3. Telur yang berembrio



Lampiran 4. Hasil inokulasi

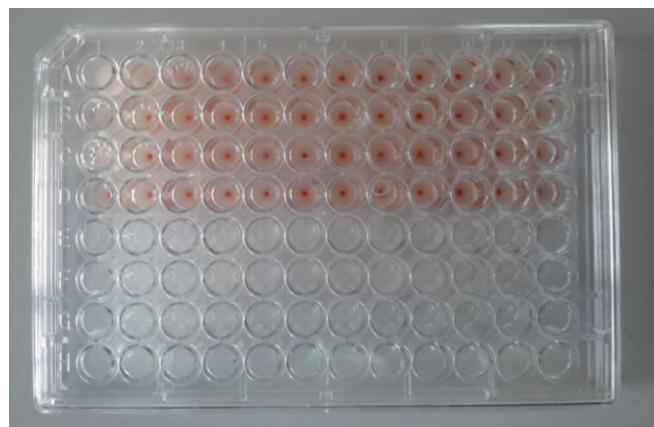


Lampiran 5. Hasil titer



Lampiran 6. Kontrol Kerja

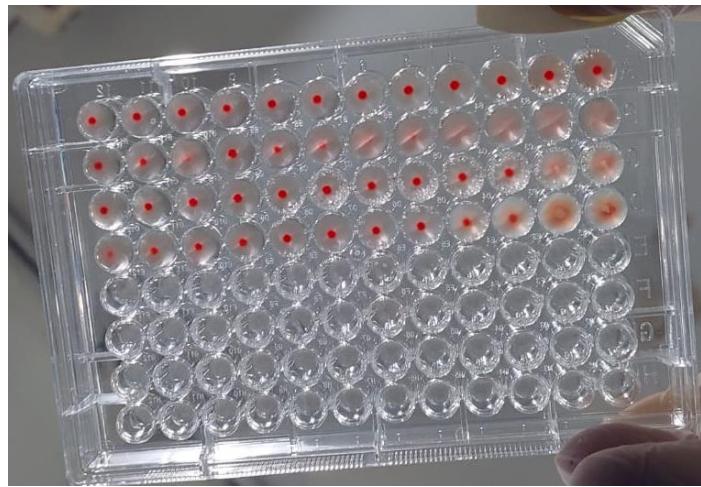
Newcastle Disease Virus yang dikerjakan tanpa LAF



Newcastle Disease Virus yang dikerjakan menggunakan LAF



Newcastle Disease Virus yang ditambahkan dengan antibiotik yang dikerjakan tanpa LAF



Newcastle Disease Virus yang ditambahkan dengan antibiotik yang dikerjakan pada LAF



Lampiran 7. Kontrol Positif

Table 2: Toxicity and anti-viral effect of Ribavirin against Newcastle disease virus in embryonated eggs

No of eggs	G Normal Saline		H Virus		F (Anti-viral with antibiotics+Normal saline) Viab.			E (Anti-viral agent with antibiotics+4HA virus)					
	Viab.	HA activity	Viab.	HA activity	F1 10 µg/ml	F2 20 µg/ml	F3 40 µg/ml	E1 10 µg/100 ml		E2 20 µg/100 ml		E3 40 µg/100 ml	
					HA activity	Viab.	HA activity	HA activity	Viab.	HA activity	Viab	HA activity	Viab
1	Live	-ve	Dead	+ve	Live	Live	Dead	+ve	Dead	-ve	Live	-ve	Dead
2	Live	-ve	Dead	+ve	Live	Live	Dead	+ve	Dead	-ve	Live	-ve	Dead
3	Live	-ve	Dead	+ve	Live	Live	Dead	+ve	Dead	-ve	Live	-ve	Dead
4	Live	-ve	Dead	+ve	Live	Live	Dead	+ve	Dead	-ve	Live	-ve	Dead
5	Live	-ve	Dead	+ve	Live	Live	Dead	+ve	Dead	-ve	Live	-ve	Dead

Viab=Viability; HA=Hemagglutination activity; +ve=Positive; -ve=Negative

Lampiran 8. Perhitungan Persentase Daya Hambat

Daya hambat dari senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate terhadap virus Newcastle Disease yang menginfeksi telur ayam berembrio dapat dihitung presentasinya dengan menggunakan rumus :

$$P = \frac{(A-B)}{A} \times 100\%$$

Dimana :

P = persentase penghambatan infeksi

A = jumlah titer pada telur ayam berembrio tanpa perlakuan senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate

B = Jumlah titer pada telur ayam berembrio dengan perlakuan senyawa ethyl 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-6-methyl-2-oxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimide-5-carboxylate

Dari rumus tersebut persentase daya hambatnya, yaitu :

- 1 μ g/mL

Kontrol 1

I

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

II

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

III

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

Kontrol 2

I

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

II

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \end{aligned}$$

= 0%

III

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

- 10 µg/mL

Kontrol 1

I

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^9) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-512) / 4096 \times 100\% \\ &= 3548/4096 \times 100\% \\ &= 86,621\% \end{aligned}$$

II

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

III

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

Kontrol 2

I

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^9) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-512) / 4096 \times 100\% \\ &= 3548/4096 \times 100\% \\ &= 86,621\% \end{aligned}$$

II

$$\begin{aligned} P &= (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\% \\ &= (4096-4096) / 4096 \times 100\% \\ &= 0\% \end{aligned}$$

III

$$P = (2^{12} - 2^{12}) / 2^{12} \times 100\%$$

$$= (4096-4096)/ 4096 \times 100\% \\ = 0\%$$

- 100 µg/mL

Kontrol 1

I

$$P = (2^{12} - 2^9) / 2^{12} \times 100\% \\ = (4096-512) / 4096 \times 100\% \\ = 3548 / 4096 \times 100\% \\ = 86,621\%$$

II

$$P = (2^{12} - 2^1) / 2^{12} \times 100\% \\ = (4096-2) / 4096 \times 100\% \\ = 4094 / 4096 \times 100\% \\ = 99,951\%$$

III

$$P = (2^{12} - 2^4) / 2^{12} \times 100\% \\ = (4096-16) / 4096 \times 100\% \\ = 4080 / 4096 \times 100\% \\ = 99,609\%$$

Kontrol 2

$$P = (2^0 - 2^9) / 2^0 \times 100\% \\ = (1-512) / 1 \times 100\% \\ = -511 / 1 \times 100\% \\ = -51100\%$$

II

$$P = (2^0 - 2^1) / 2^0 \times 100\% \\ = (1-2) / 1 \times 100\% \\ = -1 / 1 \times 100\% \\ = -100\%$$

III

$$P = (2^0 - 2^4) / 2^0 \times 100\% \\ = (1-16) / 1 \times 100\%$$

$$= -15/1 \times 100\%$$

$$= -1500\%$$

