

PENELITIAN | RESEARCH

## Efektivitas Pentagamavunon-0 (PGV-0) pada fase awal infeksi virus Dengue-2

*Effectiveness of Pentagamavunon-0 (PGV-0) in the early phase infection of Dengue-2 virus*

Dewi Marbawati<sup>1\*</sup>, Sardjiman<sup>2</sup>, Risfah Yulianti<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Balai Litbang P2B2 Banjarnegara, Jl. Selamanik No 16 A Banjarnegara, Jawa Tengah, Indonesia

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sekip Utara, Yogyakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Jl. Perintis Kemerdekaan KM 11 Makasar, Sulawesi Selatan, Indonesia

**Abstract.** *Dengue virus infects 50 to 100 million people every year, however, specific treatment or effective antiviral drugs to treat viral infections has not been found yet. Curcumin known has perform the inhibition of ubiquitin-proteasome system that causes a decrease of Japanese encephalitis, one kind of flavivirus. Structural modifications was known to increase the biological activity of curcumin. Pentagamavunon-0 (PGV-0) is known have activity similar to or even better than curcumin. This study aims to determine the effect of PGV-0 in the early phase of infection of dengue- virus 2 (one day of infection). This study includes quasi-experimental study. The method used for the detection of Dengue-2 virus was immunocytochemistry, which previously tested by PGV-0 cytotoxic test against vero cells. Cytotoxic test results indicate safe concentrations (no toxic effects) of PGV-0 against vero cells is 4.44  $\mu$ M. Calculation of positive rate compared with the positive control (14.55  $\pm$  7.25) showed that the value of positive rate due to one-day Dengue virus-2 infection with PGV-0 treatment was smaller (3.8  $\pm$  3.89). It was concluded that the PGV-0 is able to decrease the positive rate due to Den-2 infection in the initial period of infection.*

**Keywords:** *dengue, Pentagamavunon-0 (PGV-0), immunocytochemistry, vero cells*

**Abstrak.** Virus Dengue menginfeksi 50 sampai 100 juta orang per tahun, namun terapi yang spesifik atau obat antivirus yang efektif belum ditemukan. Kurkumin diketahui mampu melakukan penghambatan system ubiquitin-proteasome yang menyebabkan penurunan produksi salah satu jenis *Flavivirus* yaitu *Japanese encephalitis*. Modifikasi struktur kurkumin terbukti meningkatkan aktivitas biologisnya. Pentagamavunon-0 (PGV-0) diketahui memiliki aktifitas mirip atau bahkan lebih baik dari kurkumin. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pemberian PGV-0 pada fase awal infeksi virus Dengue-2 (satu hari infeksi). Penelitian ini termasuk penelitian kuasi-eksperimental. Metode yang digunakan untuk deteksi virus Dengue-2 dalam penelitian ini adalah imunositokimia, setelah sebelumnya dilakukan uji sitotoksik PGV-0 terhadap sel vero. Hasil uji sitotoksik menunjukkan konsentrasi yang aman (tidak memberikan efek toksik) dari PGV-0 terhadap sel Vero adalah 4,44  $\mu$ M. Hasil uji imunositokimia menunjukkan nilai rata-rata sel positif akibat infeksi Dengue-2 satu hari dengan perlakuan PGV-0 jauh lebih kecil (3,8  $\pm$  3,89) dibandingkan kontrol positifnya (14,55  $\pm$  7,25). Disimpulkan bahwa PGV-0 mampu menurunkan *positive rate* akibat infeksi Den-2 pada periode awal infeksi.

**Kata Kunci:** dengue, Pentagamavunon-0 (PGV-0), imunositokimia, sel vero

Naskah masuk: 13 Oktober 2014 | Revisi: 17 Desember 2014 | Layak terbit: 29 Desember 2014

\* Korespondensi: dewimarba@yahoo.co.id | Telp/Faks: +62 (0) 81575271723/(0286)594972

## LATAR BELAKANG

Demam Berdarah Dengue (DBD) merupakan penyakit infeksi akut yang banyak menjangkiti penduduk negara-negara tropis dan sub tropis. Badan Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan kasus infeksi Dengue di seluruh dunia sekitar 50 juta kasus setiap tahunnya, lebih dari 500.000 kasus setiap tahun di rawat di rumah sakit dan ribuan orang diantaranya meninggal dunia.<sup>1</sup> Penyakit ini disebabkan oleh virus Dengue yang merupakan virus RNA dan termasuk dalam famili *Flaviviridae*. Virus Dengue diketahui terdiri dari empat serotipe yaitu Dengue-1, Dengue-2, Dengue-3 dan Dengue-4.<sup>2,3</sup> Jenis virus yang mendominasi di Indonesia adalah serotipe Dengue-2 dan Dengue-3.<sup>4</sup> Virus masuk ke dalam tubuh manusia melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* atau *Aedes albopictus*.

Terapi yang spesifik atau obat antivirus yang efektif untuk mengobati infeksi virus belum ditemukan. Penggunaan interferon, ribavirin, 6-azauridine dan glycyrrhizin diketahuimenghambat perkembangbiakan flavivirus termasuk virus Dengue secara *in vitro*.<sup>5</sup>

Kurkumin merupakan kandungan alami dari rimpang *Curcuma longa* tanaman *Zingiberaceae* yang banyak terdapat di daerah tropis, seperti Asia Tenggara dan India serta telah terbukti mempunyai aktivitas preventif terhadap beberapa virus, seperti *vasicular stomatis* (VSV), HSV 1 dan 2, *parainfluenza-3*, *retrovirus-1*, *feline corona virus*, *feline herpes virus* dan virus-virus lainnya dengan  $EC_{50}$  0.019-0.105  $\mu$ M.<sup>6,7,8</sup> Kurkumin juga diketahui mampu melakukan penghambatan sistem *ubiquitin-proteasome* yang menyebabkan penurunan produksi virus *Japanese encephalitis*.<sup>9</sup>

Keberadaan gugus metilen aktif (-CH<sub>2</sub>-) diantara dua gugus keton pada struktur kurkumin membuat senyawa ini mudah rusak oleh pengaruh pH dan cahaya.<sup>10</sup> Modifikasi struktur kurkumin terbukti dapat meningkatkan aktivitas biologisnya. Pentagamavunon-0 ((2,5-bis (4-hydroxy-3-metoksibenzilidin) siklo-pentanon)) merupakan senyawa dengan modifikasi struktur rantai tengah kurkumin di mana kelompok asetil aseton diganti dengan siklo-pentanon. Senyawa ini relatif mudah dalam sintesisnya dan kurang toksik dibanding senyawa analog kurkumin lainnya.<sup>11</sup> Pentagamavunon-0 (PGV-0) diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antiinflamasi melalui penghambatan siklooksigenase pada tikus jantan Wistar dan sitotoksik pada sel myeloma.<sup>11,12</sup>

Penelitian mengenai pemanfaatan PGV-0 sebagai anti-virus jarang ditemukan, namun diketahui bahwa PGV-0 sebagai salah satu senyawa turunan kurkumin mampu berinteraksi

dengan komponen seluler seperti DNA, membran lipid dan protein seluler lainnya yang akan mempengaruhi proses biologi di dalam sel.<sup>13</sup> Ketidakterdediaan data mengenai pemanfaatan PGV-0 sebagai anti-virus ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian efektivitas PGV-0 pada fase awal infeksi virus Dengue-2 (satu hari infeksi).

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini termasuk penelitian kuasi eksperimental, dilakukan di Laboratorium Parasitologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

### Sintesis PGV-0 di Laboratorium Farmasi UGM.

Bahan utama sintesis PGV-0 adalah vanilin (15,4 g; 0,1 mol) ditambahkan siklopentanon (4,4 ml; 0,05 mol) diaduk sampai homogen pada suhu 25-30°C. Ditambahkan 2,0 ml HCl pekat, diaduk selama 1 jam (sampai memadat). Hasil reaksi didiamkan selama 2 hari pada suhu kamar, selanjutnya diisolasi dengan maserasi campuran asam asetat glasial:air (1:1), kemudian disaring dengan cepat dalam keadaan dingin dan dilanjutkan dengan campuran asam asetat glasial-air sampai warna hijau tua hilang. Dicuci dengan air panas sampai bebas asam dan dikeringkan.<sup>11</sup>

### Uji Sitotoksik PGV-0 terhadap sel Vero

Uji Sitotoksik dilakukan menggunakan MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazolium bromida]. Pentagamavunon -0 (PGV-0) dengan 7 (tujuh) seri konsentrasi yaitu 142,05; 71,02; 35,51; 17,76; 8,88; 4,44 dan 2,22  $\mu$ M ditambahkan pada sel Vero. Pelarut yang digunakan untuk melarutkan senyawa uji ini adalah dimetilsulfoksida (DMSO). Hasil uji sitotoksitas dibaca dengan *Elisa reader* dengan panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi yang diperoleh dikonversikan dalam bentuk persentase sel hidup atau viabilitas sel yang dapat dihitung dengan rumus berikut:<sup>14</sup>

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{absorbansi sel perlakuan} - \text{absorbansi media}}{\text{absorbansi kontrol sel} - \text{absorbansi media}} \times 100$$

### Uji antiviral menggunakan metode Imunositokimia

Sel Vero ditumbuhkan dalam *well plate* (sumuran), masing-masing plate diberi *deck glass* yang sudah dilapisi *poly L-lisin* sebagai tempat menempelnya sel. Sumuran dibagi menjadi kelompok sel yang diinfeksi virus Dengue-2 inkubasi 1 hari dan diberi PGV-0, kontrol positif dan kontrol negatif. Masing-masing dibuat tiga kali ulangan.

Metode imunositokimia yang digunakan adalah *Streptavidin Biotin Peroxidase Complex* (SBPC). Sediaan direndam dalam *peroxidase blocking solution* setelah sebelumnya difiksasi dengan metanol dingin dan dicuci PBS, kemudian diinkubasikan dalam *background sniper*. Antibodi primer (antibodi monoklonal DSSE10 1:10) ditambahkan pada tiap preparat, kemudian diinkubasikan pada kondisi lembab selama semalam. Sediaan dicuci dengan PBS, ditambahkan *Trekkie universal link* dan dicuci dengan PBS kembali. Reagen trekavidin-HRP ditambahkan dan diinkubasikan selama 10 menit. Preparasi substrat dilakukan dengan *chromogen* DAB : 1 µL betazoid DAB *chromogen* diencerkan dengan betazoid DAB *substrate buffer*. Preparat diinkubasikan dalam substrat *chromogen* kromogen DAB dan dicuci dengan air mengalir. Cat mayer hematoxylin ditambahkan, dicuci dan dikeringkan. Preparat dicelupkan ke dalam alkohol, dikeringkan, ditetesi entellan, ditutup dengan kaca penutup dan diperiksa di bawah mikroskop.<sup>15</sup>

Daya antiviral Dengue-2 dilihat dari hasil imunositokimia SBPC dihitung *positive rate* virus Dengue-2 pada sel Vero dengan menghitung jumlah sel positif yang terinfeksi virus Dengue-2 dan sel negatif dalam 10 lapangan pandang, dibagi jumlah sel seluruhnya dikalikan 100%.<sup>15</sup>

## HASIL

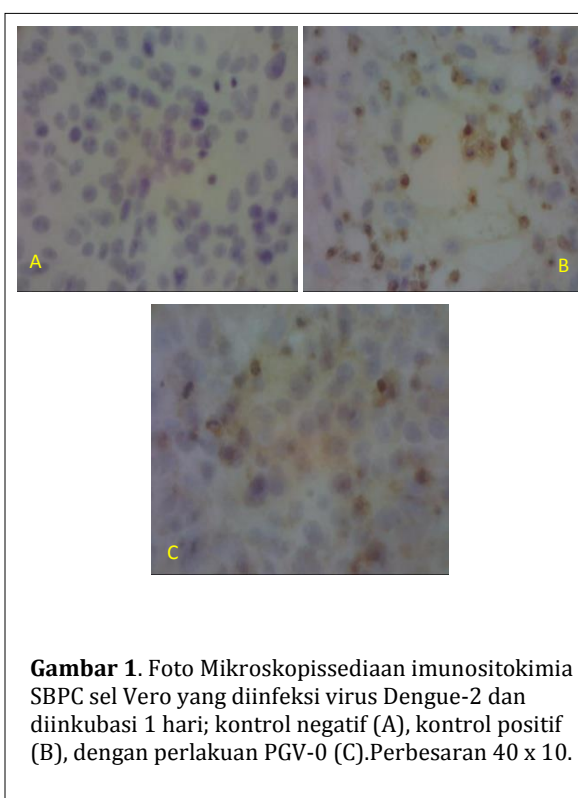
Uji sitotoksitas dilakukan untuk mengetahui potensi sitotoksik PGV-0 terhadap sel vero. Persentase sel vero yang hidup dihitung berdasarkan perbandingan antara absorbansi perlakuan dengan kontrol sel vero. Nilai absorbansi didapatkan dari pembacaan ELISA yang dimasukkan dalam rumus viabilitas sel (% sel hidup). Dalam penelitian ini diketahui konsentrasi tertinggi DMSO (142,05 µM) melalui pengamatan mikroskopis dan perhitungan sel hidup tidak berpengaruh terhadap kematian sel Vero. Hasil uji sitotoksik dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

**Tabel 1.** Persentase sel Vero hidup setelah pemberian Pentagamavunon-0 (PGV-0)

| No. | Konsentrasi PGV-0 (µM) | % sel Vero hidup |
|-----|------------------------|------------------|
| 1   | 142,05                 | 40,4             |
| 2   | 71,02                  | 38,9             |
| 3   | 35,51                  | 39,0             |
| 4   | 17,76                  | 82,5             |
| 5   | 8,88                   | 76,8             |
| 6   | 4,44                   | 114,4            |
| 7   | 2,22                   | 116              |

Hasil uji sitotoksik PGV-0 pada sel Vero didapatkan konsentrasi yang aman dari PGV-0 terhadap sel vero adalah 4,44 µM. Konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi PGV-0 tertinggi yang tidak berpengaruh terhadap sel vero (sel hidup mencapai 100%). Uji sitotoksik dilanjutkan dengan uji antiviral menggunakan metode imunositokimia dengan menggunakan konsentrasi aman dari hasil uji sitotoksik. Masa infeksi dilakukan selama 1 hari untuk mengetahui efek PGV-0 jika diberikan pada awal infeksi.

Nilai *positive rate* pemeriksaan imunositokimia SBPC pada sel Vero yang diinfeksi virus Dengue-2 inkubasi satu hari dan diberi PGV-0 adalah 3,8 ± 3,89 sel. Nilai ini jauh lebih kecil dibandingkan *positive rate* kontrol positif yaitu 14,55 ± 7,25 sel. Pada kontrol positif, sediaan sel Vero yang diinfeksi virus Dengue-2 dan diinkubasi 1 hari tampak reaksi yang positif, yang ditandai sitoplasma sel yang berwarna coklat. Sedangkan, kontrol negatif menunjukkan warna biru pada bagian sitoplasmanya. Pada perlakuan dengan PGV-0 nampak sel yang terwarnai coklat lebih sedikit dibanding kontrol positif. Hasil perhitungan uji imunositokimia menunjukkan PGV-0 dapat menurunkan nilai *positive rate* akibat infeksi Dengue-2 pada tahap awal infeksi. Hasil foto mikroskopis imunositokimia SBPC sediaan sel vero yang diinfeksi virus Dengue-2 inkubasi 1 (satu) yang diberikan perlakuan PGV-0 dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Foto Mikroskopis sediaan imunositokimia SBPC sel Vero yang diinfeksi virus Dengue-2 dan diinkubasi 1 hari; kontrol negatif (A), kontrol positif (B), dengan perlakuan PGV-0 (C). Perbesaran 40 x 10.

## PEMBAHASAN

Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT. MTT diabsorpsi ke dalam sel dan direduksi dengan reaksi yang tergantung mitokondria menjadi produk formazan yang dapat diukur secara spektrofotometri dengan menggunakan ELISA reader. Dimetilsulfoksida (DMSO) dipilih sebagai pelarut kurkumin dan PGV-0 karena zat ini dapat bercampur dengan air dan merupakan pelarut yang baik untuk ion anorganik maupun untuk senyawa organik, disamping itu Zandia *et al.*,<sup>16</sup> menyatakan konsentrasi DMSO sebagai pelarut yang kurang dari 2% dapat diabaikan. Hal ini memungkinkan penggunaan DMSO sebagai pelarut senyawa uji tanpa mempengaruhi pertumbuhan dan kematian sel vero.

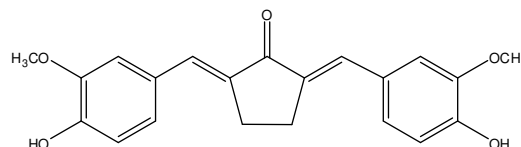
Tahapan awal infeksi Dengue-2 pada sel vero, virus melekat pada permukaan sel dan menyatu dengan membran sel. Invaginasi pada permukaan sel membentuk *vesikula endocytotic* dan *envelope* dari virus kemudian menghilang. Internalisasi oleh endositosis dan fusi membran sel dan virus Dengue-2 ditemukan pada tahap awal infeksi yaitu sekitar 2 jam pertama. Masa laten *in vitro* Dengue berkisar antara 12- 16 jam. Setelah itu virus infeksi dapat ditemukan ekstra sel. Infeksi yang berlanjut menyebabkan jumlah virus intrasel makin berkurang dan pada saat puncak titer virus tercapai, 80% atau lebih virion ditemukan ekstra sel. Waktu dan titer maksimum virus yang dilepas sel tidak terjadi dalam 24 jam. Oleh karena itu penelitian ini mencoba mendeteksi keberadaan virus Dengue yang diinfeksi ke sel Vero dalam waktu satu hari (24 jam) dan diberi perlakuan PGV-0.

Pendeteksian virus Dengue menggunakan metode Imunositokimia yaitu metode untuk identifikasi protein atau antigen dalam sel dan jaringan. Metode ini tergantung pada spesifitas antibodi yang mengikat epitop protein yang digunakan sebagai imunogen. Antibodi yang digunakan dalam pemeriksaan imunositokimia adalah antibodi DSSE10 yang termasuk kelas IgG1 dan tidak menunjukkan reaksi silang dengan antigen *Japanese encephalitis* dan Chikungunya.<sup>17</sup> Pemeriksaan imunositokimia SBPC bersifat kualitatif, tetapi sensitif dan spesifik untuk keperluan diagnostik virus Dengue. Hasil perhitungan uji imunositokimia menunjukkan kemampuan PGV-0 dalam menurunkan *positive rate* infeksi virus Dengue.

Mekanisme antiviral Dengue dari PGV-0 belum dapat diketahui dari penelitian ini. Berbagai antiviral telah diteliti secara meluas mencakup penghambat sintesis RNA virus, inhibitor NS3 protein helikase dan protease, inhibitor yang menghambat pematangan virus Dengue, antibodi monoklonal dan polianion yang mencegah ikatan

dengan reseptor sel host.<sup>18,19</sup> Penelitian antiviral menggunakan Flavonoid, kelas *phytochemical* dari enam jenis flavonoid (Deoxycalyxin A; 3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavonol-3-O-beta-D-galactopyranoside; (3R)-3',8-Dihydroxyvestitol; Sanggenon O, epigallocatechin gallate, Chamajamin) diketahui dapat menghambat replikasi virus Dengue melalui pemblokiran situs glikosilasi Asn-130 dari protein NS1 Dengue.<sup>20</sup> Senyawa yang mirip dengan PGV-0 yaitu kurkumin juga diketahui dapat melakukan penghambatan mekanisme *ubiquitin-proteasome* yang menyebabkan penurunan produksi salah satu jenis Flavivirus yaitu *Japanese encephalitis*.<sup>9</sup>

Pentagamavunon-0 (PGV-0) memiliki struktur yang mengandung suatu kromofor atau ikatan rangkap terkonjugasi dan auktokrom pada -OH (Gambar 2), sehingga penetapan kadarnya dapat dilakukan dengan cara spektrofotometer UV-Visibel.<sup>21,22</sup>



**Gambar 2.** Struktur kimia 2,5-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksienzilidin)-siklopentanon atau PGV-0.<sup>21</sup>

Senyawa analog dari kurkumin ini diketahui memiliki aktifitas mirip atau bahkan lebih baik dari kurkumin. Penghilangan gugus metilen aktif dan gugus karbonil pada bagian tengah struktur kurkumin menyebabkan sifat PGV-0 menjadi semakin non polar, sehingga semakin mudah larut dalam lipid dan lebih mudah berinteraksi dengan dinding sel bakteri maupun virus. Menurunnya nilai *positive rate* akibat infeksi Dengue juga membuktikan bahwa PGV-0 memiliki potensi sebagai anti virus Dengue.

## KESIMPULAN

Pemberian Pentagamavunon-0 (PGV-0) pada konsentrasi 4,44  $\mu$ M terbukti efektif menurunkan nilai *positive rate* akibat infeksi Dengue-2 pada masa inkubasi 1 (satu) hari.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Dr. drh. Sitti Rahmah Umniyati, SU atas bimbingan dan arahan selama kegiatan penelitian. Terimakasih juga penulis ucapkan kepada segenap staf Laboratorium Parasitologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada (UGM) yang telah membantu pelaksanaan penelitian.

## DAFTAR PUSTAKA

1. WHO SEARO. Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever Revised and expanded. Geneva: WHO;2011.
2. Halstead SB. Dengue virus mosquito interactions, Annual Review of Entomology. 2008; 53: 273-91.
3. Harris E, Holden KL, Edgil D, Polacek C, Clyde K. Molecular biology of flaviviruses, Novartis Found Symp. 2006; 277: 23-39.
4. Soegijanto S, Darmowandowo W, Ginting AP, Yamanaka A. Serotype and Clinical Performance of Dengue Virus Infection on the Year 2009. Indones J Trop Infect Disease. 2010; 1(2): 55-5.
5. Crance JM, Natale S, Alain J, Daniel G. Interferon, ribavirin, 6-azauridine and glycyrrhizin: antiviral compounds active against pathogenic flaviviruses. Antiviral Res. Elsevier. 2003; 58: 73-9.
6. Prusty BK, Das BC. Constitutive activation of transcription AP-1 in cervical cancer and suppression of human papillomavirus (HPV) transcription and AP-1 activity in HeLa cells by curcumin. Int J Cancer. 2005; 113: 951-60.
7. Ramendra KS, Diwakar R, Dipti Y, Bhargava A, Balzarini J, De Clercq E. Synthesis, antibacterial and antiviral properties of curcumin bioconjugates bearing dipeptide, fatty acids and folic acid, European Journal of Medicinal Chemistry. 2010; 45: 1078-86.
8. Rai D, Yadav J, Balzarini E, De Clercq and Singh RK. Design and Development of Curcumin Bioconjugates as Antiviral Agent. 2008. [Cited 2011 Maret 16]. Available from <http://nas.oxfordjournals.org/cgi/content/short/52/1/599>.
9. Dutta K, Debapriya G and Anirban B. Curcumin Protects Neuronal Cells from Japanese Encephalitis Virus-Mediated Cell Death and also Inhibits Infective Viral Particle Formation by Dysregulation of Ubiquitin-Proteasome System. J. of NeuroimmunePhar. 2009; 4 (3): 328-37.
10. Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP. Curcumin: The story so far. Eur. J. of Cancer. 2005; 41: 1955-68.
11. Sardjiman. Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Anti-oxidative, anti-inflammatory, antibacterial activities and qualitative-structure Activity Relationship [dissertation]. Yogyakarta: Gadjah Mada University; 2000.
12. Sardjiman SS, Reksohadiprodjo MS, Hakim L, Vand der Goot H, Timmerman H. "1,5-Diphenyl-1-4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationship. Eur. J. of Med.Chem. 1997; 32: 625-30.
13. Meiyanto E, Kurkumin sebagai obat kanker. Menelusuri mekanisme aksinya. Majalah Farmasi Indonesia. 1999; 10(4): 224 - 36.
14. Faujan NA, Noriham A, Norrakiah AS and Babji AS. Antioxidant Activity of Plants Methanolic Extracts Containing Phenolic Compounds. African J of Biotech. 2009; 3: 484-9.
15. Umniyati SR, Sutaryo, Wahyono D, Artama WT. Application of monoclonal antibody DSSC7 for early detection of dengue infection in blood smear preparation based on immunocytochemical streptavidin biotin peroxidase complex assay. In: Int. Joint. Symp. Frontier Sciences from gene to application. Faculty of Medicine. Universitas Gadjah Mada; 2008.
16. Zandia K, Ramedani E, Mohammadi K, Tajbakhsh S, Deilami I, Rastian Z *et al.* Evaluation of Antiviral Activities of Curcumin Derivatives against HSV-1 in Vero Cell Line. Natural Product Communications (NPC). 2010; 5(12): 1935 - 38.
17. Umniyati SR. Teknik Imunositokimia dengan Antibodi Monoklonal DSSC7 untuk Kajian Patogenesis Infeksi dan Penularan Transovarial Virus Dengue serta Surveilansi Virologis Vektor Dengue [disertasi]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 2009.
18. Yennamali R, Subbarao N, Kampmann T, McGeary RP, Young PR, Kobe B, Identification of novel target sites and an inhibitor of the dengue virus E protein, J. Comput Aided Mol. 2009; 23: 333-41.
19. Noble CG, Chen YL, Dong H, Gu F, Lim SP, Schul W, et al., Strategies for development of dengue virus inhibitors. Antiviral Research. 2010; 85: 450-62.
20. Qamar MT, Mumtaz A, Naseem R, Ali A, Fatima T, Jabbar T, et al., Molecular Docking Based Screening of Plant Flavonoids as Dengue NS1 Inhibitors. Bioinformation. 2014; 10(7): 460-465.
21. Yuniarti N, Martono S, Pengaruh 1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on dan kurkumin pada aktivitas enzim glutation S-transferase paru tikus. Jurnal Farmasi Indonesia. 2006; 3(1): 44 - 52
22. Syamsudin. Pengembangan Metode Analisis Pentagamavunon-0 dalam Cairan Biologis secara Kromatografi Cair Kinerja Tinggi [tesis]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada; 2003.

