

Purifikasi Katekin dari Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Purification of Catechin From Gambir (Uncaria gambir Roxb.) Extracts

Arifayu Addiena Kurniatri*, Novi Sulistyningrum, dan Lina Rustanti

Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan RI, Jln. Percetakan Negara No.23 Jakarta 10560, Indonesia

*Korespondensi Penulis : arifayu_ak@litbang.depkes.go.id

Submitted: 04-01-2019; Revised: 06-03-2019; Accepted: 29-04-2019

DOI: <https://doi.org/10.22435/mpk.v29i2.1108>

Abstrak

Uncaria gambir Roxb., salah satu tanaman asli Indonesia yang mengandung katekin dengan kadar yang tinggi. Katekin sangat potensial digunakan untuk bahan baku obat karena efeknya terbukti sebagai antibakteri, antivirus, dan antidislipidemia. Derivatisasi katekin dapat dikembangkan untuk menghasilkan senyawa obat yang efektif sebagai antivirus untuk HIV. Untuk derivatisasi ini diperlukan isolat katekin murni sebagai *starting material* agar diperoleh hasil yang maksimal sehingga proses purifikasi isolat merupakan salah satu tahap yang penting. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan pemurnian isolat katekin dari ekstrak *Uncaria gambir* Roxb. yang selanjutnya akan menjadi bahan awal dalam derivatisasi katekin. Ekstrak gambir yang digunakan untuk isolasi katekin adalah ekstrak gambir kualitas 1 yang diperoleh dari Padang, Sumatera Barat. Ekstrak gambir dikarakterisasi sesuai dengan metode standar yang tertera dalam Farmakope Herbal Indonesia. Isolasi katekin dari ekstrak gambir dilakukan dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etil asetat. Isolat katekin murni diperoleh menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan serangkaian gradien pelarut heksana dan etil asetat. Pemurnian katekin dimonitor menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen kloroform : etil asetat : asam format (5:4:1), kemudian diidentifikasi menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), *spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), dan *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy* (LC-MS). Kemurnian isolat katekin yang didapatkan $99,80\% \pm 0,132$.

Kata kunci: isolat katekin; purifikasi; *Uncaria gambir* Roxb.

Abstract

Uncaria gambir Roxb., one of native plants of Indonesia contains high levels of catechins. Catechins are very potential to be used for medicinal raw materials because their effects are proven to be antibacterial, antiviral, and antidyslipidemic. Derivatization of catechin can be developed to produce drug compounds that are effective as antiviral agents for HIV. Derivatization process needs pure catechin isolate as a starting material in order to obtain maximum result so that the isolation process is one of the important stages. In this study, isolation and purification of catechin isolate from *Uncaria gambir* Roxb. extract was carried out, which will then be the starting material in the derivatization of catechin. Gambir extract used for catechin isolation was a quality 1 gambir extract obtained from Padang, West Sumatra. Gambier extract is characterized according to the standard method stated in Farmakope Herbal Indonesia. Isolation of catechin from gambir extract was done by percolation method using ethyl acetate solvents. Pure catechin isolate was obtained using a vacuum liquid chromatography method with a series of solvent hexane and ethyl acetate gradients. Catechin purification was monitored using Thin Layer Chromatography (TLC) method with eluent chloroform:ethyl acetate:formic acid (5:4:1), then identified using High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy, and Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LC-MS). The purity of catechin isolate obtained was $99.80\% \pm 0.132$.

Keywords: isolate catechin; purification; *Uncaria gambir* Roxb

PENDAHULUAN

Indonesia mempunyai kekayaan hayati yang besar terutama tanaman obat yang secara turun temurun telah digunakan sebagai obat tradisional. Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2010, presentase penduduk umur ≥ 15 tahun yang memilih pengobatan tradisional adalah sebesar 45,17%.¹ Salah satu tanaman obat yang potensial dan banyak ditanam di Indonesia yaitu gambir (*Uncaria gambir* Roxb). Gambir merupakan tanaman khas dari daerah Sumatera Barat, Sumatera Utara, Riau, dan Sumatera Selatan.² Gambir merupakan komoditas tanaman yang memiliki nilai ekonomi yang tinggi bagi Indonesia.³ Indonesia merupakan pemasok gambir terbesar dunia yaitu sebesar 80%, dan 90% pasokan gambir Indonesia dihasilkan dari Sumatera Barat.⁴ Gambir banyak dimanfaatkan masyarakat untuk menyirih, menyamak, kosmetik, dan obat herbal.⁵

Kandungan kimia gambir adalah katekin (7-33%), asam kateku tanat (20-55%), pirokatekol (20-30%), gambir fluoresen (1-3%), kateku merah (3-5%), kuersetin (2-4%), minyak tertentu (1-2%), lilin (1-2%), dan alkaloid dalam kadar kecil. Selain itu, gambir juga mengandung katekin yang mempunyai gugus galat, seperti galokatekin dan katekin galat.⁶ Kandungan katekin dalam daun gambir sangat tinggi sehingga sangat potensial untuk dikembangkan menjadi bahan baku senyawa derivat katekin.

Berbagai penelitian melaporkan bahwa katekin memiliki efek positif bagi kesehatan manusia dan tidak berpotensi mutagenik.⁷ Hal ini karena katekin dan derivatnya dapat bermanfaat sebagai antioksidan yang tinggi diantaranya dapat digunakan sebagai antibakteri dan antivirus.^{8,9,10} Katekin dari gambir juga dapat dikembangkan potensinya sebagai antidislipidemia.^{11,12} Penelitian secara praklinik menunjukkan adanya korelasi positif antara konsumsi katekin dalam teh hijau dengan kesehatan jantung melalui banyak mekanisme yaitu antioksidasi, antihipertensi, antiinflamasi, antiproliferasi, antitrombogenik, dan menurunkan kadar lemak.¹³ Mekanisme katekin dalam menghambat aktivitas enzim CoA reduktase yang berperan dalam sintesis kolesterol telah ditelusuri secara *in silico* dan ditemukan bahwa katekin lebih efektif

dibandingkan dengan simvastatin.¹⁴ Penelitian mengenai katekin lebih banyak diambil dari teh hijau. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa katekin dari teh hijau memiliki efek mampu melawan berbagai virus diantaranya HSV-1, EBV, adenovirus, dan mampu menghambat virus HIV.¹⁵

Sampai saat ini belum ada obat yang sepenuhnya dapat menyembuhkan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV)/*Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS). *Antiretroviral* (ARV) yang sudah ada berfungsi untuk menghambat replikasi virus, salah satunya yaitu dengan mengikat enzim *reverse transcriptase* dan *protease* yang diperlukan dalam replikasi HIV. Harga ARV cukup tinggi dan sebagian ARV yang dipakai di Indonesia merupakan produk impor. Selain itu, ARV yang selama ini digunakan memiliki banyak keterbatasan, antara lain munculnya interaksi dengan obat-obatan lain karena pasien dengan AIDS sebagian besar mengkonsumsi obat lain selain ARV, jumlah dan jenis obatnya terbatas, banyak efek samping yang ditimbulkan sehingga mengakibatkan rendahnya tingkat kepatuhan pasien serta munculnya resistensi.^{16,17} Resistensi juga dipicu oleh variasi genetik dari virus.¹⁸ Banyak tanaman obat yang secara empirik telah digunakan masyarakat sebagai terapi imun dan terapi *adjuvant* pada infeksi HIV/AIDS. Derivatisasi katekin dapat dikembangkan untuk menghasilkan senyawa obat yang efektif sebagai antivirus untuk HIV.¹⁹ Proses derivatisasi memerlukan isolat katekin murni. Ekstrak *Uncaria gambir* Roxb. dalam penelitian ini diisolasi dan dimurnikan, yang hasilnya dapat dimanfaatkan dalam proses derivatisasi katekin.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi Puslitbang Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Litbang Kesehatan Jakarta. Sampel berupa ekstrak gambir kualitas 1 (ekstrak gambir dengan kadar katekin $> 90\%$) dari Padang, Sumatera Barat. Bahan-bahan lain, meliputi baku standar katekin, etanol p.a, etil asetat p.a, HCl 32% p.a, aseton p.a, toluen p.a, n-heksana p.a, kloroform p.a, asam format, plat KLT aluminium silika gel 60GF²⁵⁴, etil asetat teknis, n-heksana teknis, metanol HPLC

grade, asetonitril HPLC grade, silika gel 60G, for column. Alat berupa serangkaian alat perkolasi, oven, seperangkat peralatan kromatografi kolom cair vakum, *vacuum rotary evaporator* (Buchi), lampu UV 256 dan 366 nm, *sonicator*, spektrofotometer UV, HPLC analitik (Waters), NMR (JEOL), dan LC-MS.

Ekstrak gambir dikarakterisasi sesuai dengan metode standar yang tertera dalam Farmakope Herbal Indonesia.²⁰ Isolasi katekin dari ekstrak gambir dilakukan dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etil asetat dan diuapkan pelarutnya. Purifikasi katekin dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) menggunakan gradien eluen heksan-etil asetat (Tabel 1). Keberadaan senyawa katekin dalam setiap fraksi proses KCV dimonitor dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Fraksi dengan R_f yang sama dan spot KLT tunggal dikumpulkan dan dievaporasi. Kadar katekin ditentukan dengan spektrofotometer UV. Isolat yang sudah kering diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan HPLC, LC-MS, dan NMR.

Karakterisasi ekstrak gambir dilakukan

dengan prosedur sesuai Farmakope Herbal Indonesia, didapatkan hasil sebagaimana tercantum pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil karakterisasi, kadar katekin dalam ekstrak gambir sebesar $92,45\% \pm 0,247$. Setelah dilakukan perkolasi menggunakan etil asetat, dihasilkan isolat katekin sebanyak 80,74% dengan kadar $99,80\% \pm 0,132$. Hasil monitoring dengan KLT menunjukkan masih terdapat pengotor dalam isolat ini, sehingga dilakukan proses purifikasi dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV).

Proses KCV menghasilkan fraksi-fraksi, yang selanjutnya dimonitor dengan KLT menggunakan eluen kloroform:etil asetat: asam format (5:4:1). Fraksi yang memiliki spot dengan R_f sama dikelompokkan menjadi satu dan dibandingkan dengan baku standar katekin dan dievaporasi. Sedikitnya terdapat 4 fraksi gabungan hasil KCV. Hasil monitoring menggunakan KLT, katekin terdapat pada fraksi gabungan nomor 2 (Gambar 2). Katekin murni yang diperoleh dari proses KCV penelitian ini sebanyak 74,79%.

Tabel 1. Prosentase Perbandingan Eluen (*Gradien Eluen*) dalam Proses KCV Purifikasi Katekin dari Ekstrak *Uncaria gambir* Roxb.

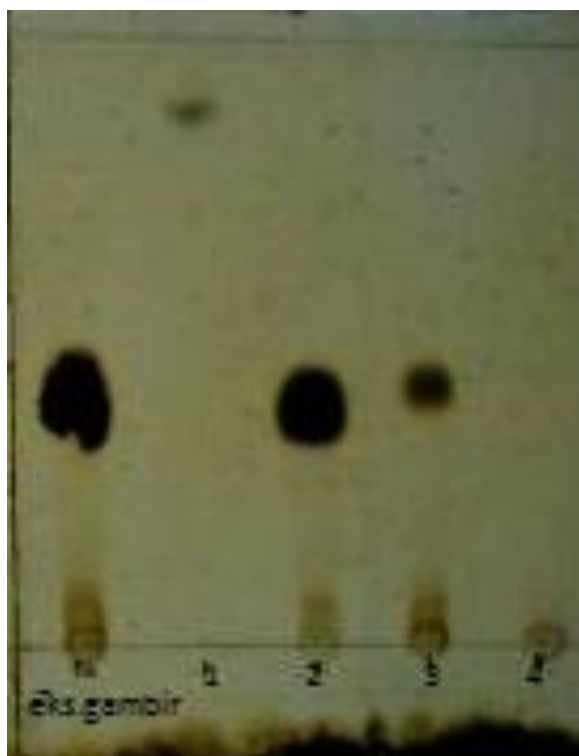
No.	% Perbandingan Eluen		
	Heksan	Etil Asetat	Metanol
1.	100	0	0
2.	80	15	5
3.	60	35	5
4.	50	45	5
5.	45	55	5
6.	0	100	0
7.	0	0	100

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Ekstrak Gambir

Parameter	Hasil (%)	Referensi (%) ²⁰
Susut pengeringan	$16,04 \pm 0,035$	
Kadar Air	$11,96 \pm 0,035$	<14
Kadar Abu Total	$1,01 \pm 0,035$	<0,5
Kadar Abu Tidak Larut Asam	$0,42 \pm 0,099$	<0,1
Kadar Katekin	$92,45 \pm 0,247$	>90

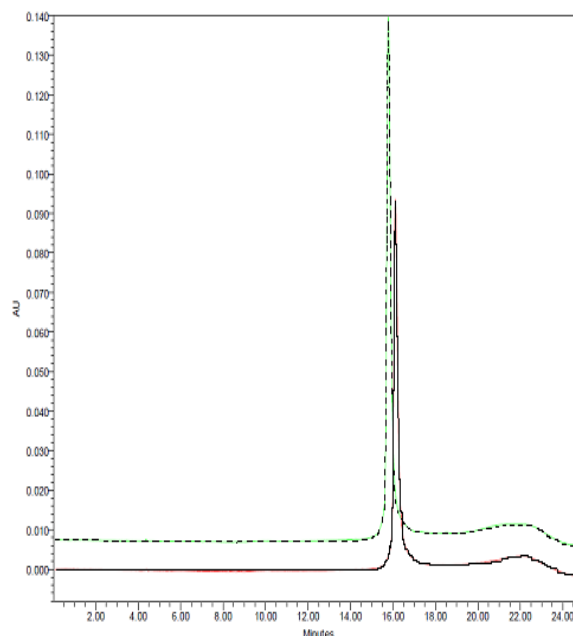


Gambar 1. Purifikasi Isolat Katekin dengan Metode KCV



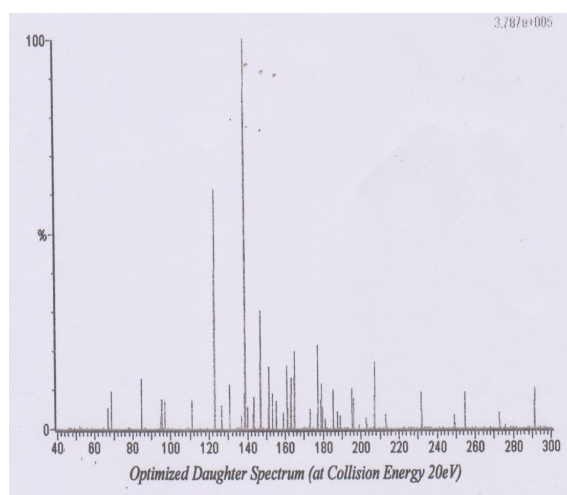
Gambar 2. Profil KLT Fraksi Gabungan Hasil KCV, Eluen Kloroform:Etil Asetat:Asam Format (5:4:1). Kiri-Kanan: Ekstrak Gambir; (1) Fraksi 1; (2) Fraksi 2; (3) Fraksi 3; (4) Fraksi 4

Kromatogram hasil analisa HPLC isolat katekin (Gambar 3) menunjukkan bahwa isolat katekin memiliki pola dan waktu retensi yang sama dengan baku standar katekin.



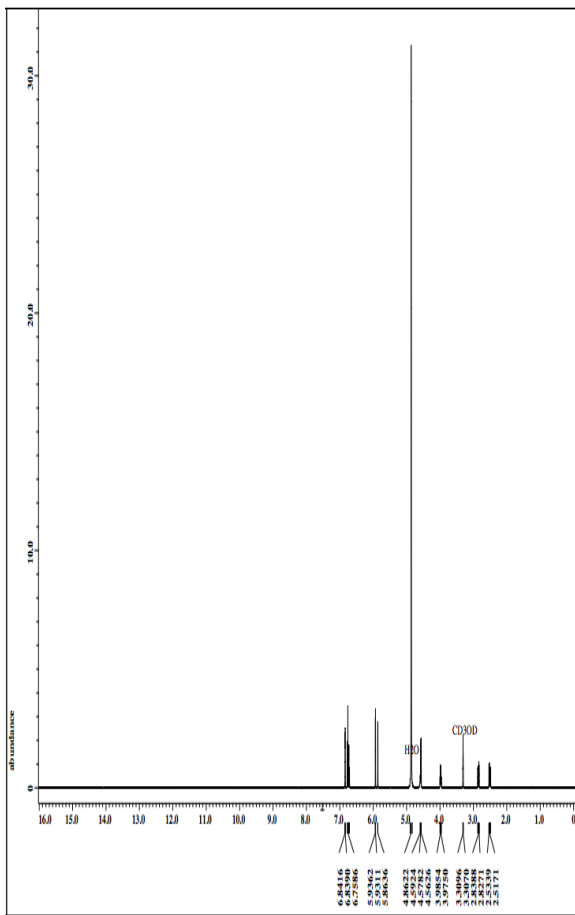
Gambar 3. Profil HPLC Analitik Isolat Katekin Dibandingkan dengan Baku Standar Katekin

Hasil pengukuran isolat katekin dengan LC-MS adalah sebagai berikut:

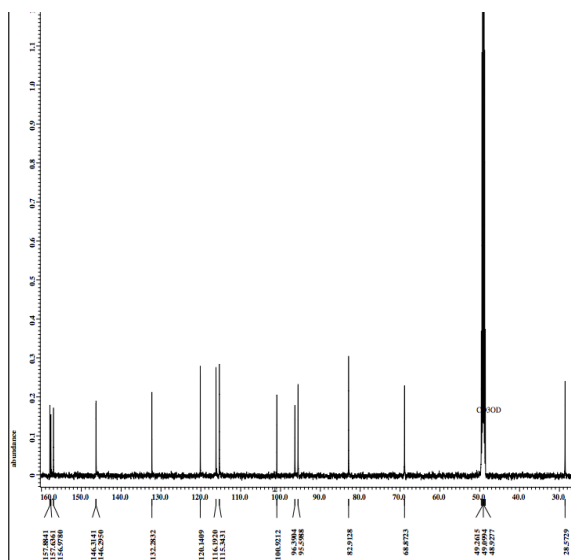


Gambar 4. Profil LC-MS Isolat Katekin dengan ES(+) Ion Parent m/z 291,03

Hasil NMR proton dan karbon isolat katekin yang didapat adalah sebagai berikut ini:



Gambar 5. Spektra 1H-NMR Isolat Katekin



Gambar 6. Spektra 13C-NMR Isolat Katekin

PEMBAHASAN

Karakterisasi sampel ekstrak gambir yang dilakukan dalam penelitian ini dimaksudkan untuk menjamin bahwa ekstrak mempunyai nilai

parameter tertentu yang konstan. Berdasarkan hasil karakterisasi, kadar air ekstrak gambir yang diperoleh yaitu $11,96\% \pm 0,035\%$ yang berarti telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal, yaitu tidak melebihi 14%.²⁰ Penetapan kadar air ini bertujuan untuk menghindari cepatnya pertumbuhan jamur dalam ekstrak. Kadar air yang cukup tinggi dari ekstrak ini dikarenakan katekin memiliki banyak gugus hidroksi yang mengakibatkan ekstrak bersifat higroskopis sehingga perlu diperhatikan penyimpanannya, di laboratorium dapat disimpan dalam desikator. Kadar air yang cukup tinggi ini juga disebabkan karena proses pembuatan ekstrak. Daun dan ranting pohon gambir mengalami proses pengukusan untuk mendapatkan ekstrak gambir. Kadar susut pengeringan ekstrak sebesar $16,04\% \pm 0,035\%$. Susut pengeringan memiliki nilai yang lebih besar dari kadar air. Hal ini menunjukkan bahwa selain air, minyak atsiri yang terkandung dalam ekstrak gambir juga ikut menguap pada suhu 105°C .

Ekstrak gambir yang digunakan memiliki kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam sebesar $1,01\% \pm 0,35\%$ dan $0,42\% \pm 0,099\%$. Parameter ini tidak memenuhi persyaratan Farmakope Herbal sehingga ekstrak ini tidak bisa digunakan sebagai bahan baku sediaan farmasi namun masih bisa digunakan sebagai bahan penelitian skala laboratorium. Pada penetapan kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam, ekstrak dipanaskan pada suhu 700°C . Pemanasan ini mengakibatkan senyawa organik menguap sehingga menyisakan senyawa mineral dan anorganik saja. Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam menggambarkan kandungan mineral dalam ekstrak, utamanya kandungan logam berat karena pemanasan di atas 600°C tidak menghilangkan logam berat. Dalam hal ini kadar abu total menunjukkan sisa senyawa anorganik dalam ekstrak, sedangkan kadar abu tidak larut asam menunjukkan kandungan unsur anorganik yang tidak larut asam.

Pemeriksaan organoleptik ekstrak meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa. Dari hasil pengamatan didapatkan hasil ekstrak berbentuk padatan berwarna coklat kemerahan dengan rasa pahit. Penentuan organoleptik ini ditentukan dengan panca indera dan bertujuan

untuk pengenalan awal secara sederhana yang masih bersifat subjektif. Berdasarkan hasil spektrofotometri, kadar katekin dari ekstrak diperoleh sebesar $92,45\% \pm 0,247\%$. Kadar ini telah memenuhi persyaratan Farmakope Herbal dimana kadar katekin pada ekstrak gambir kualitas 1 tidak boleh kurang dari 90%.²⁰ Hal ini menunjukkan sampel ekstrak *Uncaria gambir* Roxb. yang digunakan memiliki kualitas yang baik.

Kandungan kimia terbanyak dari ekstrak gambir adalah katekin.²¹ Isolasi katekin dilakukan berdasarkan perbedaan kelarutan menggunakan pelarut dengan berbagai tingkat kepolaran. Pelarut yang kepolarannya mendekati kepolaran air seperti metanol, alkohol, eter, atau aseton dapat digunakan untuk melarutkan katekin. Demikian pula dengan pelarut jenis semi polar seperti etil asetat dan kloroform, pelarut jenis ini masih dapat melarutkan katekin dengan baik. Senyawa yang diduga bukan katekin tidak akan larut. Hasil percobaan yang telah dilakukan sebelumnya diperoleh bahwa katekin dapat larut paling baik dalam etil asetat, sehingga dalam penelitian ini digunakan metode perkolasi dengan pelarut etil asetat untuk hasil isolat mengisolasi katekin dari ekstrak gambir. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Widiyarti²² bahwa ekstraksi katekin dari gambir dengan pelarut etil asetat memperoleh hasil yang tinggi dan ekstraknya memiliki aktivitas antioksidan. Penelitian lain menyebutkan ekstraksi katekin dari daun teh memperoleh hasil yang optimum dengan kombinasi pelarut etil asetat-diklorometana.²³ Proses isolasi katekin yang dilakukan diperoleh rendemen sebesar 80,74%, dengan kadar katekin $99,80\% \pm 0,132$. Hasil KLT terhadap isolat katekin menunjukkan bahwa isolat tersebut masih belum murni, sedangkan untuk keperluan derivatisasi diperlukan isolat katekin murni. Oleh karena itu, dilakukan pemurnian dengan metode KCV untuk menghilangkan senyawa selain katekin di dalam isolat.

Hasil monitoring KLT dari tiap fraksi dibandingkan dengan katekin baku menunjukkan keberadaan senyawa katekin dalam fraksi gabungan nomor 2 (Gambar 3). Fraksi dengan spot KLT tunggal menunjukkan satu senyawa di dalam fraksi, diperkirakan katekin murni ada

di dalamnya. Kromatogram hasil analisa HPLC menunjukkan waktu retensi dan profil isolat katekin yang sama dengan baku standar katekin, memperkuat hipotesa bahwa benar senyawa yang didapat adalah katekin dengan kemurnian yang relatif tinggi. Hasil analisa LC-MS isolat (Gambar 4) dengan ion parent m/z 291,03 [M+1] menunjukkan berat molekul senyawa yang didapat adalah benar katekin m/z 290. Hasil LC-MS diperkuat dengan data analisa 1H dan 13C-NMR (Gambar 5 dan 6) bahwa senyawa yang didapatkan adalah benar merupakan senyawa katekin.

KESIMPULAN

Penelitian ini telah berhasil mendapatkan isolat katekin dari ekstrak *Uncaria gambir* Roxb. dengan kadar $99,80\% \pm 0,132$. Isolat katekin yang diperoleh setelah dimurnikan dengan metode kromatografi kolom vakum telah berhasil diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan HPLC, LC-MS, dan NMR.

SARAN

Pengembangan derivat katekin sebagai kandidat bahan baku senyawa antiretroviral memerlukan penelitian lanjut untuk menghasilkan isolat katekin murni pada skala produksi agar derivat katekin bisa lebih berpotensi dikembangkan secara mandiri di Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada semua pihak yang telah berperan serta dalam mendukung terlaksananya penelitian ini, antara lain Badan Litbang Kesehatan atas pendanaan, Pusat Kimia Terapan LIPI, serta semua anggota tim penelitian yang telah bekerja sama sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Litbang Kesehatan. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar Tahun 2010. Jakarta: Kemenkes RI; 2010. [Diunduh 2 Maret 2011]. <http://www.litbang.depkes.go.id>.
2. Nasution AH, Asmarantaka RW, Baga LM. Efisiensi pemasaran gambir di Kabupaten Lima Puluh Kota, Sumatera Barat. Buletin Ilmiah Litbang Perdagangan. 2016;9(2):221-39.

3. Rauf A, Rahmawaty, Siregar AZ. The condition of *Uncaria gambir* Roxb. as one of important medicinal plants in North Sumatra Indonesia. *Procedia Chemistry*. 2015;14:3-10.
4. Evalia NA, Sa'id EG, Suryana RN. Strategi pengembangan agroindustri dan peningkatan nilai tambah gambir di Kabupaten Lima Puluh Kota Sumatera Barat. *Jurnal Manajemen dan Agribisnis*. 2012;9(3):173-82.
5. Isnawati A, Raini M, Sampurno OD, Mutiatikum D, Widowati L, Gitawati R. Karakterisasi tiga jenis ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb) dari Sumatera Barat. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 2012;4(4):201-8.
6. Isnawati A. Analisa kualitatif dan kuantitatif senyawa katekin dan kuersetin pada 3 kualitas mutu ekstrak gambir. Laporan Penelitian. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan. 2009.
7. Sulistyanningrum N, Rustanti L, Alegantina S. Uji mutagenik ames untuk melengkapi data keamanan ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2013;3(1):36-45.
8. Silvan JM, Mingo E, Hidalgo M, Pascual-Teresa S, Carrascosa AV, Martinez-Rodriguez AJ. Antibacterial activity of a grape seed extract and its fractions against *Campylobacter* spp. *Food Control*. 2013;29(1):25-31.
9. Yang ZF, Bai LP, Huang WB, Li XZ, Zhao SS, Zhong NS, et al. Comparison of in vitro antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis. *Fitoterapia*. 2014;93:47-53.
10. Zhong Y, Ma CM, Shahidi F. Antioxidant and antiviral activities of lipophilic epigallocatechin gallate (EGCG) derivatives. *Journal of Functional Foods*. 2012;4(1):87-93.
11. Kurniatri AA, Adelina R, Setyorini HA, Sulistyowati I. Formulasi tablet salut selaput katekin dari ekstrak gambir (*Uncaria gambir* Roxb.). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015;5(2):83-9.
12. Yunarto N, Elya B, Konadi L. Potensi fraksi etil asetat ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir* Roxb.) sebagai antihiperlipidemia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 2015;5(1):1-10.
13. Velayutham P, Babu A, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health: an update. *Curr Med Chem*. 2008; 15(18): 1840-50.
14. Adelina R, Kurniatri AA. Mekanisme katekin sebagai obat antidislipidemia. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 2018;46(3):147-54.
15. Xu J, Xu Z, Zheng W. A Review of the antiviral role of green tea catechins. *Molecules* 2017;22:1337. doi:10.3390/molecules22081337.
16. Marzolini C, Elzi L, Gibbons S, Weber R, Fux C, Furrer H, et al. Prevalens of commedications and effect of potensial of drug-drug interactions in the swiss hiv cohort study. *Antiviral Therapy*. 2010;15:413-23.
17. Rhee SY, Blanco JL, Jordan MR, Taylor J, Lemey P, et al. Correction: geographic and temporal trends in the molecular epidemiology and genetic mechanisms of transmitted hiv-1 drug resistance: an individual-patient- and sequence-level meta-analysis. *PLOS Medicine*. 2015;12(6): e1001845. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001845>.
18. Shekelle P, Maglione M, Geotz MB, Wagner G, Wang Z, Hilton L, et al. Antiretroviral (ARV) drug resistance in the developing world. evidence report/technology assessment. 2007; (156):1-74.
19. Zhao Y, Jiang F, Liu P, Chen W, Yi K. Catechins containing a galloyl moiety as potential Anti-HIV-1 compounds. *Drug Discovery Today*. 2012;17(11-12):630-35.
20. Dirjen Pelayanan Farmasi dan Alat Kesehatan. Farmakope herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI; 2008. p. 17-20.
21. Andasuryani, Purwanto YA, Budiastira IW, Syamsu K. Determination of catechin as main bioactive component of gambir (*Uncaria gambir* Roxb) by FT-NIR Spectroscopy. 2013;7(41)3076-83.
22. Galuh W, Sundowo A, Hanafi M. The free radical scavenging and anti-hyperglycemic activities of various gambiers available in indonesian market. *Makara Journal of Science*. 2011;15(2):129-34.

23. Choung MG, Hwang YS, Lee MS, Lee J, Kang ST, Jun TH. Comparison of extraction and isolation efficiency of catechins and caffeine from green tea leaves using different solvent systems. *International Journal of Food Science & Technology*. 2014;49(6):1572-78.