

KESAN PENAMBAHAN MINYAK KELAPA DARA ATAU EKSTRAK ALOE VERA DALAM MENINGKATKAN AKTIVITI *in vitro* ANTI-HHV-1 GONIOTHALAMIN

(THE EFFECTS OF THE ADDITION OF VIRGIN COCONUT OIL OR ALOE VERA EXTRACT IN INCREASING *in vitro* ANTI-HHV-1 ACTIVITY OF GONIOTHALAMIN)

NAZLINA IBRAHIM^{1*}, JIA HUI TAI¹, CHEE WAI YIP^{1,2} and NOREFRINA SHAFINAZ MD NOR¹

¹*Department of Biological Sciences and Biotechnology, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 Bangi, Selangor*

²*Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Quest International University, 30250 Ipoh, Perak, Malaysia*

*E-mail: nazlina@ukm.edu.my

Accepted 2 January 2022, Published online 31 March 2022

ABSTRAK

Walaupun aktiviti antivirus goniothalamina (GTN) daripada akar *Goniothalamus umbrosus*, minyak kelapa dara (VCO) dan ekstrak aloe vera (AVE) pernah dilaporkan, namun aktiviti gabungan antaranya masih perlu ditentukan. Kajian ini bertujuan mengkaji kestabilan, kesitotoksikan serta keberkesanan GTN tulen, gabungan GTN dengan VCO (GTN+VCO) atau gabungan GTN dengan AVE (GTN+ AVE) terhadap jangkitan *in vitro* *Human Herpes Virus 1* (HHV-1). Kestabilan GTN dapat ditingkatkan dengan signifikan ($\alpha < 0.05$) dengan penambahan VCO atau AVE walaupun terdapat penurunan kepekatan. Nilai CC_{50} bagi GTN terhadap sel vero meningkat apabila digabungkan dengan VCO atau AVE, secara amnya mengurangkan kesitotoksikan. Penentuan aktiviti antivirus menggunakan ujian pengurangan plak terhadap sel Vero menunjukkan peningkatan nilai EC_{50} yang berasaskan kepekatan GTN. Nilai indeks selektif (SI) bagi GTN tulen (11.94), GTN+VCO (12.23) dan GTN+AVE (25.73) masing-masing. Mod tindakan aktiviti antivirus bagi ketiga-tiga bahan ujian adalah melalui pascarawatan iaitu lebih berkesan jika diberi selepas 2 jam sel dijangkitkan virus. Ketiga-tiga bahan ujian tidak mempunyai aktiviti melindungi sel terhadap jangkitan virus jika diprawati dan juga tidak bersifat virusidal. Kesimpulannya, AVE dapat menstabilkan GTN dalam larutan dan GTN+AVE meningkatkan aktiviti anti-HHV-1, menjadikannya sesuai untuk dikaji sebagai agen anti-HHV-1 berasaskan tumbuhan.

Kata kunci: Aktiviti antivirus, ekstrak aloe vera, goniothalamina, kestabilan gabungan, minyak kelapa dara,

ABSTRACT

The antiviral activity of goniothalamina (GTN) from *Goniothalamus umbrosus* root, virgin coconut oil (VCO) and aloe vera extract (AVE) have been reported, but the combined activity is yet to be determined. This study aims to determine the stability, cytotoxicity and effectiveness of pure GTN, combination of GTN and VCO (GTN+VCO) or combination of GTN and AVE (GTN+ AVE) towards *in vitro* *Human Herpesvirus 1* (HHV-1) infection. GTN stability improved significantly ($\alpha < 0.05$) when added with VCO or AVE even though reduction in concentration was noted. The CC_{50} values for GTN towards vero cells increased when combined with VCO or AVE, which generally reduces the cytotoxicity. Antiviral activity determination by plaque reduction assay in vero cells showed increase in EC_{50} values with reference to GTN concentration. Selective index (SI) values for pure GTN (11.94), GTN+VCO (12.23), and GTN+AVE (25.73) respectively. The mode of antiviral activity for all three test substances was post-treatment essentially more effective when treated 2 hours post-infection to cells. The test substances did not protect cells from virus infection if pre-treated and was not virucidal. In conclusion, AVE stabilises GTN in solution and GTN+AVE improves the anti-HHV-1 activity worth for further examination as plant-based antiviral agent.

Key words: Aloe vera extract, antiviral activity, combination stability, goniothalamina, virgin coconut oil

* To whom correspondence should be addressed.

PENGENALAN

Gonioethalamin (GTN) adalah sebatian aktif secara farmakologi yang diperolehi daripada *Gonioethalamin* sp. dalam keluarga Annonaceae (Jewers *et al.*, 1972). Gonioethalamin adalah terbitan stirilpiron (SPD) yang masih giat dikaji kerana pelbagai ciri biologi menarik (Ibrahim *et al.*, 2019; Pilli *et al.*, 2019) selain terdapat usaha untuk mensintesisnya (Pastre *et al.*, 2020). GTN antaranya mempunyai aktiviti antikanser (Semprebon *et al.*, 2014; Seyed *et al.*, 2014; Yip *et al.*, 2016), aktiviti antibakteria, antioksidan dan antivirus (Abdul-Wahab *et al.*, 2011; Md Nor & Ibrahim, 2011; Ibrahim *et al.*, 2019). Dari segi antivirus, GTN telah dilaporkan mempunyai aktiviti antivirus terhadap *Human Herpesvirus 1* (HHV-1) yang merupakan sejenis virus yang bersampul (Md Nor & Ibrahim, 2011; Ibrahim *et al.*, 2019). GTN bertindak terhadap HHV-1 pada peringkat awal replikasi selepas virus menjangkiti sel dalam 2 jam yang pertama (Md Nor & Ibrahim, 2011; Ibrahim *et al.*, 2019). Selain itu, tindakan GTN adalah menggalakkan apoptosis dan pemberhentian kitaran sel dalam sel yang dijangkiti (Md Nor & Ibrahim, 2012).

Namun begitu, GTN adalah sebatian yang tidak stabil selepas dilarutkan menyebabkan fokus penyelidikan bertukar kepada pencarian sebatian terbitan yang lebih stabil (Semprebon *et al.*, 2014; Pilli *et al.*, 2019; Pastre *et al.*, 2020). Isu kestabilan kimia ini adalah satu masalah penting untuk diatasi jika GTN ingin digunakan sebagai ubatan. Sebatian ini mempunyai beberapa kumpulan yang boleh menderma elektron serta menerima elektron pada cecincin aromatiknyanya yang menyebabkan degradasi akibat aktiviti penurunan atau pengoksidaan (Florence & Artwood, 2011). Degradasi ini tidak berlaku secara serta-merta tetapi mengambil masa untuk berlaku. Oleh itu, kesan penambahan VCO dan AVE sama ada dapat meningkatkan kestabilan GTN atau tidak juga merupakan masalah yang ingin dikaji.

Kajian ini menggunakan dua jenis bahan semula jadi yang terdapat di Malaysia serta mempunyai kelebihan masing-masing iaitu minyak kelapa dara (Virgin Coconut Oil-VCO) dan ekstrak gel aloe vera (Aloe Vera Extract-AVE). VCO mempunyai banyak kelebihan termasuklah mempunyai fungsi melindungi kecederaan sel, antioksidan, aktiviti antimikrob dan antivirus (Renjith *et al.*, 2013). Komponen asid laurik iaitu asid lemak rantaian sederhana ini biasanya terdapat dalam minyak tropika seperti minyak kelapa mempunyai sifat bakterisidal serta aktiviti antivirus terhadap *Respiratory Syncytial Virus* (RSV) (Shilling *et al.*, 2013; Ramesh *et al.*, 2021).

Aloe vera juga dikenali sebagai lidah buaya dengan nama saintifiknya *Aloe barbadensis* Miller merupakan spesies yang paling aktif dikaji sifat biologinya dalam kalangan 400 spesies *Aloe* dalam famili Alliaceae (Sahu *et al.*, 2013). Ianya digunakan dalam bidang

perubatan dalam pelbagai budaya berbeza dari Mesir purba, Greek, Rom, China, India dan Malaysia. AVE mempunyai aktiviti antioksidan, antipenuaan, kesan penyembuhan luka, boleh dijadikan pelembap, fungsi imunomodulatori, antikeradangan dan antimikrob (Choi, 2003; Menda *et al.*, 2015; Bhalsinge *et al.*, 2017; Mohd-Nasir & Mohd-Setapar, 2018). AVE telah dibuktikan berkesan terhadap beberapa virus termasuk HHV-1 (Rezazadeh *et al.*, 2016); HHV-2 (Zandi *et al.*, 2007); influenza (Sun *et al.*, 2018). Beberapa contoh bahan aktif antivirus yang pernah dilaporkan dalam AVE termasuklah acemannan, lektin, emodin dan polisakarida (Sun *et al.*, 2018; Pilli *et al.*, 2019).

Namun begitu tidak diketahui sama ada kehadiran pelbagai bahan aktif pada VCO dan AVE menyumbang kepada kelebihan aktiviti antivirus GTN jika digabungkan. Maka kajian ini juga bertujuan mengkaji potensi GTN terhadap jangkitan HHV-1 pada sel kultur apabila digabungkan dengan VCO (GTN+VCO) atau AVE (GTN+AVE). Hasil kajian ini dapat memberikan panduan dalam menghasilkan gabungan bahan semula jadi tumbuhan tempatan yang selamat bagi tujuan penggunaan terhadap kerengsaan di bahagian mulut dan kulit yang disebabkan oleh HHV-1.

BAHAN DAN KAEDAH

Virus dan sel kultur

Stok virus strain klinikal HHV-1 dan sel vero (ATCC CCL-81) diperolehi daripada stok Makmal Virologi, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Bangi, Selangor.

Sampel GTN, VCO dan AVE

GTN diekstrak seperti diterangkan oleh Jewers (1972). Sampel VCO adalah produk MOH Food Interprise, Sungai Besar Selangor, Malaysia. Ekstrak akuas daun lidah buaya (AVE) disediakan daripada daun lidah buaya yang matang dan segar menggunakan kaedah yang dijelaskan oleh Stanley *et al.* (2014). Ekstrak dituras melalui penuras membran dengan liang 0.45 µm untuk memastikan kesterilan ekstrak.

Penyediaan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE

GTN disediakan dengan melarutkan kristal GTN dalam dimetil sulfoksida (DMSO) pada kepekatan 4 mg/mL GTN. Gabungan GTN dengan VCO (GTN+VCO) disediakan dengan melarutkan GTN di dalam 80% (i/i) VCO, 10% (i/i) Tween 20 dan 10% (i/i) DMSO untuk menghasilkan kepekatan GTN 4 mg/mL. Gabungan GTN dengan AVE (GTN+AVE) disediakan dengan melarutkan GTN dalam 90% (i/i) AVE dan 10% (i/i) DMSO untuk menghasilkan kepekatan GTN 4 mg/mL. Campuran kemudian divorteks selama 5 minit sebelum digunakan.

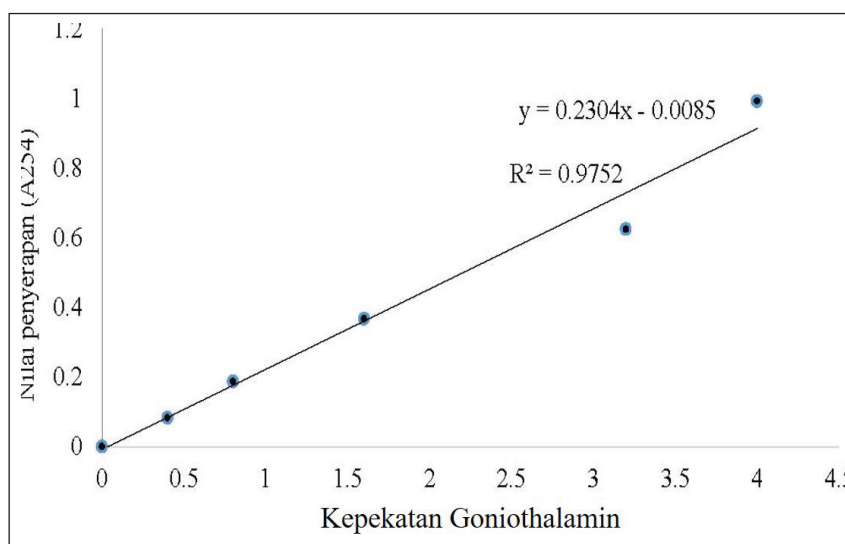
Ujian kestabilan GTN

Ujian ini digunakan untuk menguji kestabilan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE selama 2 bulan pada suhu bilik (25 °C). Kestabilan GTN tanpa dan dengan penambahan VCO dan AVE dinilai dari segi pH, penampilan, kandungan GTN dikenalpasti mengikut saranan Bonifácio *et al.* (2014). pH diuji dengan menggunakan meter pH. Kepekatan GTN diukur

pada penyerapan optik (OD) dengan menggunakan spektrofotometer (BioTek, Epoch) pada jarak gelombang 254 nm (Bahtiar *et al.*, 2015). Lengkung piawai GTN tulen diplot berdasarkan OD melawan kepekatan GTN tulen (mg/mL) dan ditunjukkan dalam Rajah 1. Peratus penurunan pH atau kandungan GTN dikira menggunakan Persamaan 1.

$$\text{Peratus penurunan (\%)} = \frac{\text{Nilai pada minggu 1} - \text{nilai pada minggu 8}}{\text{Nilai pada minggu 1}}$$

- Persamaan 1



Rajah 1. Nilai penyerapan optik (OD) pada λ₂₅₄ melawan kepekatan goniothalamine (mg/mL).

Ujian Kesitotoksikan

Ujian kesitotoksikan digunakan untuk menentukan nilai kepekatan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE yang menyebabkan kematian 50% populasi sel (CC₅₀). Kaedah tersebut menggunakan bahan 3-(4,5dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolium bromide (MTT) (Mosmann,1980). Dalam ujian kesitotoksikan dan seterusnya antivirus, sel vero dihidupkan dalam telaga piring mikrotiter sehingga membentuk 80% ekalapis di dalam medium pertumbuhan Dulbecco Modified Essential Medium (DMEM) bersama 5% serum janin lembu (FBS).

GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE dilarutkan dalam 1 mL medium pertumbuhan DMEM bersama 5% FBS pada kepekatan 2 mg/mL di dalam mikrotiub. Kesemua larutan ujian disteril secara turasan melalui penuras membran dengan saiz liang 0.2 µm. Seterusnya, pencairan bersiri ganda dua dilakukan sebanyak sepuluh kali sehingga kepekatan yang sebelas (9.765 × 10⁻⁴ mg/mL) menggunakan DMEM dengan 5% FBS bagi GTN sahaja, GTN+VCO menggunakan VCO dan GTN+AVE menggunakan AVE sebagai bahan pencair.

Seterusnya, setiap hasil pencairan ditambahkan kepada sel Vero dan dieram pada suhu 37 °C selama 48 jam dalam kehadiran 5% karbon dioksida (CO₂). Setelah pengeraman tamat, medium pertumbuhan dikeluarkan daripada setiap telaga dan dibilas dengan

DMEM sehingga tiada warna ekstrak yang kelihatan pada sel. Seterusnya, 100 µL DMEM bersama 40 µL MTT (5 mg/mL) dimasukkan ke dalam setiap telaga. Piring mikrotiter dibalut sepenuhnya dengan pembalut aluminium kemudian dieram selama tiga jam pada suhu 37 °C dengan kehadiran 5% CO₂. Selepas itu, MTT dibuang dan 100 µL DMSO ditambah ke dalam setiap telaga. Piring mikrotiter dieram selama 5 minit bagi menukarkan tetrazol kuning kepada kristal formazan di dalam sel hidup. Seterusnya nilai ketumpatan optik (OD) pada jarak gelombang 540 nm ditentukan dengan menggunakan alat pembaca mikrotiter (BioRad). Persamaan 2 menunjukkan kaedah pengiraan peratusan kemandirian sel:

$$\text{Kemandirian sel (\%)} = \frac{\text{OD ujian} - \text{OD pengosong}}{\text{OD sel} - \text{OD pengosong}}$$

OD ujian : nilai ketumpatan optik telaga ujian,
 OD pengosong : nilai ketumpatan optik telaga kosong yang diisi dengan DMSO sahaja (kawalan sel mati)
 OD sel : nilai ketumpatan optik sel tanpa ekstrak (kawalan sel hidup).

Melalui lakaran graf peratusan kemandirian sel melawan kepekatan ekstrak, nilai CC₅₀ dapat diperolehi.

Ujian antivirus

Asai pengurangan plak pascarawatan

Kesan pengurangan pembentukan plak selepas sel dijangkiti virus dirawat dengan bahan ujian telah dikaji. Sel ekalapis dalam piring kultur bertelaga 24 dijangkitkan dengan 100 μL virus yang akan menghasilkan 50 unit pembentukan plak (PFU) dan dieram pada 37 °C selama 2 jam dalam persekitaran 5% CO_2 . Selepas 15 atau 30 minit, piring mikrotiter digoyangkan bagi memastikan inokulum disekatakan pada permukaan sel. Tamat tempoh eraman, inokulum virus dikeluarkan dan sebanyak 500 μL metilselulosa yang ditambahkan dengan GTN, GTN+VCO atau GTN+AVE pada kepekatan yang berbeza ke dalam sel. Terdapat tiga replikat bagi setiap kepekatan bahan uji. Kawalan negatif adalah sel terjangkit yang tidak dirawat. Kawalan positif adalah ubat antivirus HHV-1 iaitu acyclovir (ACV) 5 μM . Pengeraman dilakukan selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam persekitaran 5% CO_2 . Selepas itu, medium dibuang dan pewarnaan sel dijalankan dengan menggunakan kristal lembayung (Wahab *et al.*, 2015). Plak dikira dan peratus pengurangan plak dikira menggunakan persamaan 3:

$$\text{Peratus pengurangan plak (\%)} = \frac{\text{purata jumlah plak kawalan} - \text{purata jumlah plak ujian}}{\text{purata jumlah plak kawalan}} \times 100\% - \text{Persamaan 3}$$

Purata jumlah plak kawalan: sel terjangkit tidak dirawat

Purata jumlah plak ujian: sel terjangkit dirawat

Seterusnya graf peratus pengurangan plak diplotkan melawan kepekatan bahan ujian. Nilai EC_{50} iaitu nilai kepekatan GTN, GTN+VCO atau GTN+AVE yang mampu mengurangkan 50% pembentukan plak ditentukan. Bagi menilai keberkesanan dan keselamatan sesuatu bahan uji dengan potensi sebagai bahan antivirus, nisbah antara kesitotoksikan dan aktiviti antivirus dikira menggunakan persamaan 4.

$$\text{Indeks pemilihan (SI)} = \frac{\text{CC}_{50}}{\text{EC}_{50}} - \text{Persamaan 4}$$

Asai plak pra-rawatan

Asai ini dilakukan untuk mengkaji aktiviti bahan ujian sebelum sel dijangkiti virus. Sel ekalapis dieram dengan 100 μL GTN tulen, GTN+VCO atau GTN+AVE pada kepekatan yang berbeza. Kawalan negatif hanya mengandungi sel Vero dan medium pertumbuhan DMEM bersama 5% FBS sahaja. Tiada kawalan positif disertakan kerana tiada dadah komersil dengan aktiviti pra-rawatan. Piring mikrotiter dieramkan pada suhu 37 °C selama 24 jam sebelum 100 μL virus (50 PFU) ditambahkan. Piring dieram pada 37 °C selama 2 jam dalam persekitaran 5% CO_2 . Selepas inokulum dibuang, 500 μL metilselulosa dimasukkan ke dalam setiap telaga piring mikrotiter. Pengeraman dilakukan selama 48

jam pada suhu 37 °C dalam persekitaran 5% CO_2 . Selepas itu, pewarnaan sel dilakukan seperti di atas.

Asai virusidal

Asai ini dilakukan untuk mengkaji aktiviti bahan ujian terhadap partikel virus. GTN, GTN+VCO atau GTN+AVE dengan kepekatan 4 mg/mL dicampur dengan HHV-1 pada kepekatan 1.0×10^8 PFU/mL dimasukkan ke dalam tiga mikrotiub. Kawalan negatif hanya mengandungi virus dan DMEM. Tiada kawalan positif disertakan kerana tiada dadah komersil dengan aktiviti virusidal. Setiap mikrotiub seterusnya dieram pada kadar tempoh pengeraman yang berbeza iaitu 30 minit, 60 minit, dan 90 minit. Selepas tempoh pengeraman tamat, inokulum virus bersama ekstrak bagi setiap tempoh pengeraman dicairkan secara ganda dua dengan medium pertumbuhan yang sejuk. Sebanyak 100 μL bagi setiap pencairan ampai virus yang terawat dimasukkan ke dalam telaga piring 24 telaga mengandungi sel ekalapis. Sel dieram bersama pencairan bahan uji/virus selama 2 jam pada 37 °C dalam persekitaran 5% CO_2 . Selepas itu 500 μL metilselulosa dimasukkan ke dalam setiap telaga diikuti pengeraman selama 48 jam pada suhu 37 °C dalam persekitaran 5% CO_2 . Tamat tempoh pengeraman, pewarnaan sel dilakukan seperti di atas.

Analisis statistik

Program analisis statistik *Minitab 14* digunakan untuk menganalisis data ujian kestabilan. ANOVA satu arah dengan *Dunnnett's test* digunakan untuk membanding data ujian kestabilan ketiga-tiga campuran. Perbandingan data adalah signifikan jika nilai $p \leq 0.05$. Perisian statistik *Graphpad Prism 7* digunakan untuk menganalisis data ujian kesitotoksikan dan ujian aktiviti antivirus. Nilai CC_{50} dan EC_{50} dikira dengan menggunakan analisis regresi linear dengan lengkung tindak balas-kepekatan yang diperoleh daripada ujian kesitotoksikan dan ujian aktiviti antivirus.

HASIL DAN PERBINCANGAN

Kestabilan GTN tulen dan setelah digabungkan

Ujian kestabilan selama tempoh 2 bulan adalah berdasarkan nilai pH, kandungan GTN dan penampilan fizikal, kepekatan dan perubahan fizikal ditunjukkan dalam Jadual 1. Nilai pH bagi GTN tulen dan GTN+VCO menurun dalam peratusan hampir sama (~23%) manakala pH GTN+ AVE hanya menurun sekitar 10.6% sahaja. Berdasarkan kandungan GTN pula, GTN tulen menurun ketara (23%) berbanding GTN+VCO hanya 10.9% dan GTN+ AVE agak stabil (7.9%). Melalui analisis statistik ANOVA satu arah yang dijalankan, kestabilan GTN yang dianggarkan melalui kandungan GTN dalam bahan uji campuran GTN+VCO dan GTN+AVE adalah signifikan berbanding dengan GTN sahaja. Dalam hasil analisis

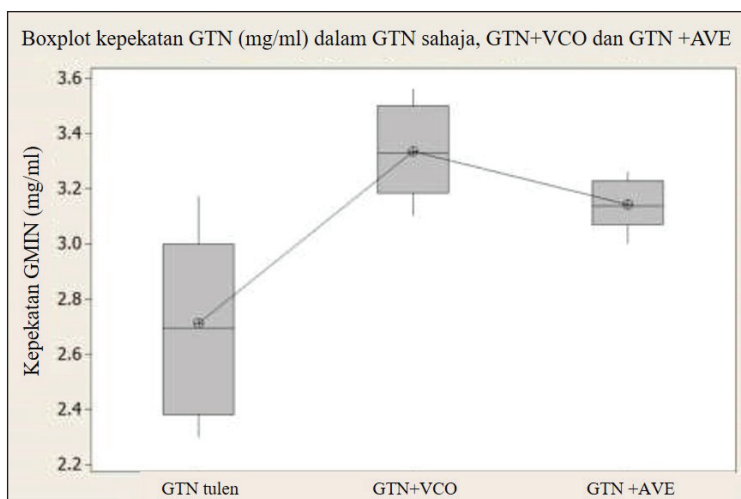
perbandingan kandungan GTN menggunakan *Dunnett's Test, confidence interval* kandungan GTN dalam GTN+VCO atau GTN+AVE dengan GTN tulen sebagai kawalan adalah dalam nilai positif pada tahap keyakinan 95% ($p < 0.5$). Nilai $p = 0.00$ iaitu nilai yang lebih rendah daripada $\alpha(0.05)$. Ini menunjukkan bahawa perbandingan kandungan GTN dalam bahan

uji GTN tulen dengan GTN+VCO atau GTN+AVE adalah signifikan (Rajah 2). Secara amnya, kajian ini membuktikan bahawa penambahan bahan seperti VCO dan AVE membantu dalam kestabilan kimia GTN. Manakala bagi penampilan fizikal pula, semua bahan yang diuji tidak menunjukkan perubahan (Jadual 1).

Jadual 1. Nilai pH, kepekatan dan penampilan fizikal GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE

Minggu	GTN			GTN+VCO			GTN+AVE		
	pH	Kepekatan (mg/ml)	Penampilan fizikal	pH	Kepekatan (mg/ml)	Penampilan fizikal	pH	Kepekatan (mg/ml)	Penampilan fizikal
1	9.46	3.171	Jernih	4.58	3.561	Jernih, Berminyak	5.37	3.263	Kuning, Berlendir
2	9.38	3.002	Jernih	4.47	3.517	Jernih, Berminyak	5.31	3.234	Kuning, Berlendir
3	9.01	2.987	Jernih	4.33	3.450	Jernih, Berminyak	5.22	3.210	Kuning, Berlendir
4	8.82	2.751	Jernih	4.12	3.377	Jernih, Berminyak	5.10	3.170	Kuning, Berlendir
5	8.54	2.642	Jernih	3.97	3.285	Jernih, Berminyak	5.03	3.105	Kuning, Berlendir
6	8.17	2.497	Jernih	3.88	3.206	Jernih, Berminyak	4.91	3.084	Kuning, Berlendir
7	7.93	2.342	Jernih	3.74	3.177	Jernih, Berminyak	4.89	3.066	Kuning, Berlendir
8	7.24	2.301	Jernih	3.57	3.104	Jernih, Berminyak	4.80	3.005	Kuning, Berlendir
Peratus penurunan (%)*	23.47	27.44		22.05	12.8		10.61	7.9	

Rujuk persamaan 1



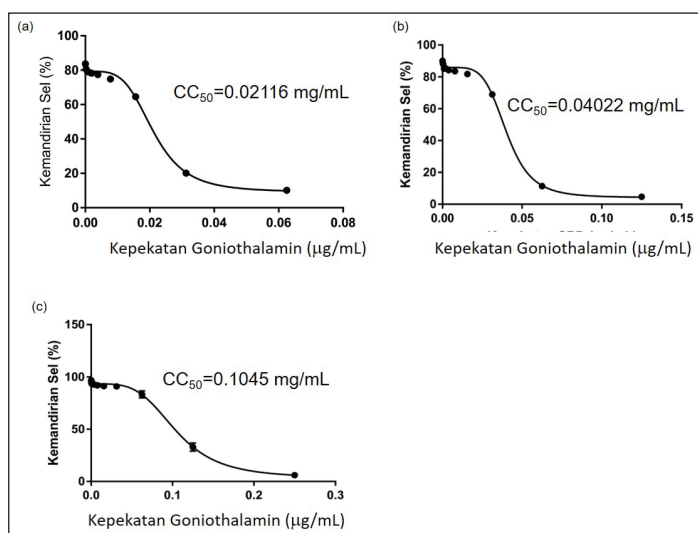
Rajah 2. Boxplot kandungan GTN (mg/mL) bagi GTN tulen, GTN+VCO dan GTN+AVE.

Kesan penambahan GTN kepada bahan seperti salap dan gel pernah dilaporkan sebelum ini (Bahtiar *et al.* 2015). Kestabilan GTN dalam salap (yang berasaskan minyak habatus sauda dan jeli petroleum putih) dan gel (gabungan lesitin soya, metil benzoat, Tween 80 dan hidroksipropil metilselulosa) menunjukkan keadaan fizikal yang kurang stabil dalam tempoh 2 bulan dan kandungan GTN yang stabil selama 1 bulan. Penurunan kandungan GTN dalam formulasi salap adalah 37% manakala bagi gel sebanyak 25%. Penggunaan VCO dan AVE walaupun masih menyebabkan penurunan kandungan GTN, peratus penurunan adalah kurang daripada 25% dan lebih baik daripada minyak habatus sauda atau gel dengan lesitin soya.

Kesitotoksikan campuran GTN terhadap sel vero

Rajah 3 menunjukkan peratusan kemandirian sel dalam kepekatan GTN yang berbeza dalam sampel GTN, GTN+VCO atau GTN+AVE. Berdasarkan graf peratus kemandirian sel melawan kepekatan GTN

dan bahan ujian, nilai CC_{50} telah diperoleh (Jadual 2). Nilai CC_{50} yang rendah daripada 0.02 mg/mL dikenalpasti sebagai sitotoksik berdasarkan kriteria nilai kesitotoksikan yang digariskan oleh American National Cancer Institute (NCI) (Suffness & Pezzuto, 1990). Melalui kajian ini, penambahan VCO atau AVE menurunkan kesan sitotoksik GTN dan meningkatkan nilai CC_{50} (Rajah 3 & Jadual 2). Kajian oleh Ahamad Bahtiar *et al.* (2016) pernah menunjukkan peningkatan CC_{50} GTN apabila sebatian minyak habatus sauda dan gel dengan lesitin soya ditambah. Aktiviti penurunan kesitotoksikan GTN+VCO dengan kehadiran VCO mungkin disumbangkan melalui kehadiran bahan fenolik yang mempunyai aktiviti antioksidan yang memelihara sel terhadap tekanan oksidatif dan melambatkan penuaan (Narayanankutty *et al.*, 2018) dan juga aktiviti antikeradangan (Hamsi *et al.*, 2015). Kedua-dua aktiviti ini juga adalah antara aktiviti yang hadir pada AVE (Menda *et al.*, 2015; Mohd-Nasir & Mohd-Setapar, 2018).



Rajah 3. Graf peratusan kemandirian sel melawan kepekatan GTN dalam persediaan bahan uji mengandungi (a) GTN sahaja (b) GTN+VCO (c) GTN+AVE.

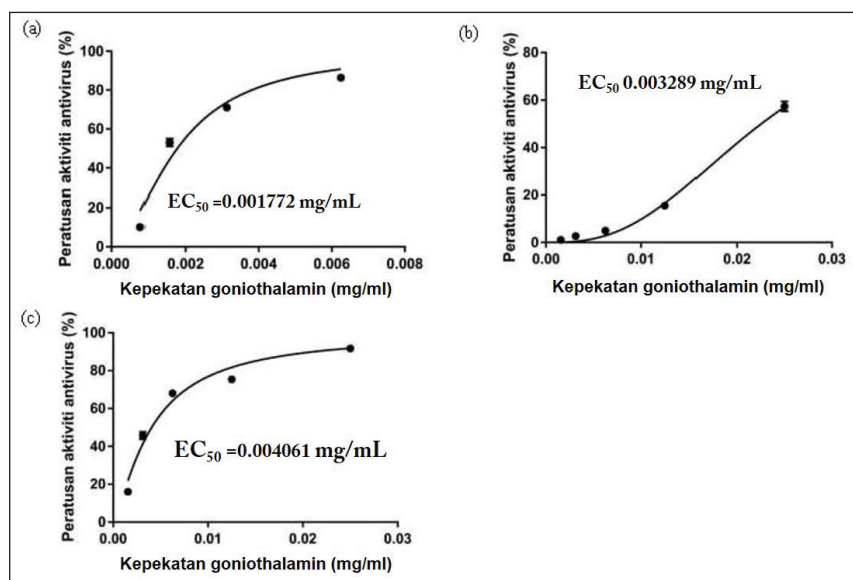
Jadual 2. Nilai CC_{50} , EC_{50} dan SI bagi GTN sahaja, GTN+VCO dan GTN+AVE

Bahan	CC_{50} (mg/mL)	EC_{50} (mg/mL)	Nilai SI
GTN	0.02116	0.001772	11.94
GTN+VCO	0.04022	0.003289	12.23
GTN+AVE	0.10450	0.004061	25.73

Aktiviti antivirus GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE

Setelah nilai CC_{50} diketahui, penentuan aktiviti anti-HHV-1 dilaksanakan pada kepekatan lebih rendah daripada nilai tersebut. Nilai EC_{50} iaitu nilai kepekatan ekstrak yang mengurangkan pembentukan plak sebanyak 50% dikira dengan analisis regresi linear daripada lengkung tindak balas-kepekatan GTN yang diperoleh daripada Rajah 4 dan diringkaskan dalam Jadual 2. Nilai SI yang melebihi 10 menunjukkan

ekstrak berpotensi sebagai agen antivirus yang baik (Dargan 2003). Nilai SI ketiga-tiga bahan uji GTN melebihi 10. Kehadiran VCO bersama dengan GTN meningkatkan sedikit sahaja nilai EC_{50} dan SI tetapi AVE bersama GTN dapat meningkatkan nilai EC_{50} serta SI lebih dua kali ganda (Jadual 2). Aktiviti antivirus terhadap HHV-1 pernah dilaporkan oleh Rezazadeh *et al.* (2016), maka dicadangkan bahawa peningkatan nilai SI yang dilihat adalah hasil tambah dalam aktiviti antivirus GTN dan AVE.



Rajah 4. Graf peratusan pengurangan plak virus melawan kepekatan GTN (mg/mL) bagi rawatan dengan a) GTN sahaja b) GTN+VCO dan c) GTN+AVE. Nilai EC_{50} (dalam mg/mL) ditunjukkan bagi setiap jenis rawatan.

Aktiviti antivirus pascarawatan

Asai pascarawatan telah dijalankan untuk mengkaji keupayaan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE dalam menyahaktifkan jangkitan virus pada peringkat awal replikasi iaitu selepas fasa pelekatan. Dalam jangkitan HHV-1, proses pelekatan dan penembusan berlaku dalam tempoh masa dua jam selepas jangkitan (Honest & Roizman 1974). Oleh itu, sel terjangkit virus telah diberikan rawatan ekstrak pada kepekatan yang berbeza selepas pengeraman inokulum virus bersama sel selama dua jam. Dalam

ujian pascarawatan ini, kepekatan bahan uji yang digunakan adalah lebih rendah daripada kepekatan CC_{50} yang telah diketahui selepas asai kesitotoksikan. Jadual 3 menunjukkan peratus pengurangan plak oleh GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE. Aktiviti antivirus GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE bertindak secara pascarawatan adalah sama seperti yang pernah dilaporkan sebelum ini iaitu GTN menghalang kematian sel selepas penambahannya antara 2 hingga 4 jam selepas jangkitan virus (Md Nor & Ibrahim, 2011; Wahab *et al.*, 2015; Ibrahim *et al.*, 2019).

Jadual 3. Peratus pengurangan plak dalam asai pascarawatan bagi GTN sahaja, GTN+VCO dan GTN+AVE

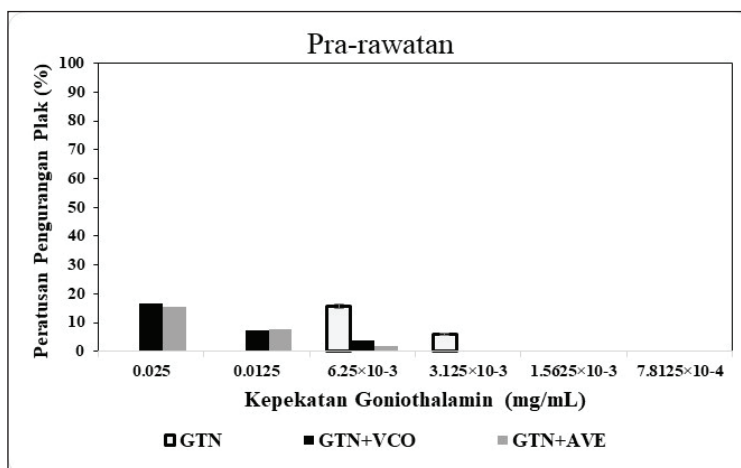
Kepekatan GTN (mg/mL) *	Peratusan Pengurangan Plak (%)		
	GTN	GTN+VCO	GTN+AVE
0.025	-	89	91
0.0125	-	83	75
6.25×10^{-3}	86	75	68
3.125×10^{-3}	71	49	46
1.5625×10^{-3}	52	22	16
7.8125×10^{-4}	10		
Kawalan negatif (bahan pencair sahaja)	-	-	-
Kawalan ubat antivirus (ACV, 5 μ M)	99	99	100

*Merujuk kepada kepekatan GTN dalam persediaan GTN+VCO atau GTN+AVE. Kepekatan yang digunakan bagi ujian antivirus adalah lebih rendah daripada nilai CC_{50} (Rujuk Jadual 2).

Antivirus prarawatan

Asai ini dijalankan untuk mengkaji keupayaan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE dalam melindungi sel daripada jangkitan HHV-1. Rajah 5 menunjukkan peratusan pengurangan plak bagi ketiga-tiga rawatan tidak melebihi 50%. Hasil ini menunjukkan bahawa GTN dan kombinasi GTN dengan VCO dan AVE tidak melindungi sel daripada jangkitan virus HHV-1. Kajian ini hanya mengurangkan plak dalam peratusan yang amat rendah dan selari dengan kajian

yang dijalankan oleh Md Nor dan Ibrahim (2011) iaitu GTN tidak mengurangkan plak dalam asai pra-rawatan. Kedua-dua VCO dan AVE juga belum pernah dilaporkan mempunyai aktiviti pra-rawatan terhadap HHV-1 yang dapat menyumbang melalui mod tindakan ini. Namun, Zandi *et al.* (2007) pernah melaporkan aktiviti pra-rawatan yang rendah dan menghalang perlekatan terhadap HHV-2 yang berkait rapat dengan HHV-1.

**Rajah 5.** Peratus pengurangan plak dalam asai pra-rawatan menggunakan GTN, GTN+VCO, dan GTN+AVE.

Aktiviti virusidal

Asai virusidal telah dijalankan untuk mengkaji keberkesanan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE untuk menyahaktifkan zarah virus HHV-1 secara terus. Jadual 4 menunjukkan peratus pengurangan plak berdasarkan kepekatan GTN, GTN+VCO, GTN+AVE dan masa pengeraman yang berbeza. Hasil daripada ujian ini mendapati bahawa peratus pengurangan plak bagi ketiga-tiga bahan uji tidak melebihi 50%

dan tidak dipengaruhi oleh tempoh pengeraman bersama bahan uji. Ketiga-tiga campuran GTN hanya mengurangkan plak ~5% dalam asai virusidal. Hasil ini menunjukkan bahawa GTN dan kombinasi GTN dengan VCO dan AVE tidak menunjukkan aktiviti antivirus dalam menyahaktifkan zarah virus HHV-1 secara terus. Kajian ini mengesahkan ketiadaan aktiviti virusidal GTN sepertimana yang dijalankan oleh Md Nor dan Ibrahim (2011).

Jadual 4. Peratus pengurangan plak dalam asai virusidal menggunakan GTN, GTN+VCO dan GTN+AVE dalam masa pengesanan yang berbeza

Jenis Rawatan	Masa Rawatan (minit)	Peratus Pengurangan Plak (%)
GTN Tulen	30	3.8 ± 0.7
	60	4.2 ± 1.0
	90	5.6 ± 0.3
GTN+VCO	30	2.6 ± 0.8
	60	3.3 ± 1.3
	90	4.3 ± 0.9
GTN+AVE	30	2.8 ± 0.3
	60	3.9 ± 0.9
	90	4.7 ± 0.1

VCO mempunyai pelbagai asid lemak dan fitokimia yang menyumbang kepada kelebihannya dalam pelbagai aktiviti biologi serta digunakan sebagai suplemen (Mohd-Nasir & Mohd-Setapar, 2018). Kandungan asid lemak rantai sederhana (Medium Chain Fatty Acids (MCFA) yang utama dalam VCO adalah asid laurik dan asid kaprik (Angeles-Agdeppa *et al.*, 2021). Asid laurik dan monolaurin dalam VCO dicadangkan mempunyai aktiviti antivirus melalui beberapa tindakan terus terhadap zarah virus atau mengaruh biosintesis triasilgliserol dalam sel terjangkit (Ramesh *et al.*, 2021). Triasilgliserol adalah sebatian yang mengganggu replikasi virus dengan menghalang kemasukan glikoprotein kepada membran plasma dan menjejaskan pematangan virus. Namun begitu, bagi virus bersampul seperti virus Human Immunodeficiency (HIV) dan HHV, penyahaktifan terus virion bukanlah cara tindakan MCFA (Kohn *et al.*, 1980; Kristmundsdottir *et al.*, 1999). Maka, ini menjelaskan ketiadaan kesan virusidal yang dilihat apabila menggunakan GTN+VCO. Tambahan pula, kandungan asid lemak serta peratusannya dalam VCO yang digunakan dalam kajian ini tidak dikenalpasti bagi menyokong kehadiran aktiviti virusidal jika ada.

Penggunaan AVE sebagai bahan tambah kepada GTN diharapkan dapat memainkan peranan dalam jangkitan HHV-1. Hal ini kerana HHV-1 boleh menjangkiti sistem saraf serta menyebabkan luka di sekelilingi bibir pesakit yang dijangkiti. Aktiviti penyembuhan luka yang baik apabila campuran AVE dengan *Calendula officinalis* pernah dilaporkan (Menda *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil kajian ini yang menunjukkan terdapatnya peningkatan aktiviti antivirus, maka kajian selanjutnya boleh dilakukan bagi mengkaji sama ada campuran GTN dengan AVE dapat membantu dalam mengurangkan jangkitan virus serta luka yang disebabkan HHV-1. Potensi bagi tujuan ini adalah tinggi kerana minyak aloe vera bersama minyak pati telah dipatenkan oleh Willimann (2018).

Penggunaan GTN+AVE untuk menangani jangkitan HHV-1 perlu dikaji selanjutnya kerana ianya berpotensi besar terutama terhadap individu yang terimunokompromi seperti penerima cedungan sel stem hematopoietik (*hematopoietic stem cell transplantation*, HSCT) kerana varian rintang antivirus lebih mudah dihasilkan daripada kumpulan ini akibat daripada sistem imun yang tertekan (Chen *et al.*, 2000; Ikawa *et al.*, 2019; Stránská *et al.*, 2005). Kandungan GTN+AVE yang pelbagai memberi kelebihan kepada pesakit terimunokompromi kerana kehadiran pelbagai sebatian membolehkan tindakan terhadap jangkitan virus bukan tertumpu kepada virus sahaja tetapi boleh juga menggalakkan sistem imun untuk bergerak balas (Hamman, 2008; Bhalsinge, 2017). Kehadiran pelbagai mod tindakan GTN+AVE juga menyukarkan pembentukan virus rintang. Kerintangan terhadap dadah antivirus seperti Acyclovir atau Foscarnet adalah disebabkan oleh mutasi yang berlaku akibat daripada penggunaan antivirus yang berlebihan dengan hanya mempunyai satu jenis mod tindakan (Ikawa *et al.*, 2019). Jika dadah anti-HHV-1 bukan sahaja tertumpu kepada satu mod tindakan, varian rintang antivirus terhadap sesuatu mod tindakan masih boleh dimusnahkan oleh mod tindakan yang lain. Aloe vera telah dilaporkan mengandungi beberapa sebatian yang mempunyai aktiviti antivirus seperti emodin. Emodin telah ditunjukkan menghalang replikasi virus bagi beberapa virus bersampul dengan merangsangkan penghasilan interferon, iaitu salah satu gerak balas imun yang menghalang infeksi virus (Lin *et al.*, 2008). Dalam kajian ini, AVE dapat menyumbang satu lagi tapak jalan antivirus kepada GTN untuk rawatan sel yang terinfeksi HHV-1 dan jika varian yang rintang terhadap rawatan GTN terhasil daripada pesakit terimunokompromi, varian tersebut juga dapat dihalang oleh tapak jalan antivirus yang dirangsangkan oleh AVE.

Pemilihan AVE sebagai bahan berasaskan tumbuhan untuk digabungkan dengan GTN adalah

tepat kerana ianya boleh dibangunkan sebagai ubatan yang selamat dimakan disamping mengekalkan aktiviti bahan lain yang dicampurkan kepadanya (Bonifácio, 2014). Sebagai contoh, campuran tepat antara aloe vera, minyak kayu manis dan Tween-80 pernah dihasilkan (Razali *et al.*, 2020). Pada kepekatan yang sesuai, ianya tidak sitotoksik apabila didedahkan kepada sel normal fibroblas perparu manusia MRC-5.

KESIMPULAN

Gabungan antara goniethalamin dan ekstrak akuas aloe vera (GTN+AVE) adalah agak stabil berbanding GTN tulen atau ditambah minyak kelapa dara (VCO). Kesitotoksikan GTN dapat direndahkan dengan penambahan AVE dan aktiviti antivirus GTN dapat ditingkatkan dengan tindakannya paling berkesan pada kepekatan 0.025 mg/mL GTN yang dilarutkan dengan 100% AVE dan dirawat selepas dua jam berlakunya jangkitan virus. Kajian lanjutan boleh dijalankan untuk menyediakan ekstrak aloe vera yang terpiawai sebelum digabungkan kepada GTN. Analisis mikroskopik juga boleh dijalankan menggunakan mikroskop transmisi elektron (TEM) untuk mencerpah kesan rawatan GTN+AVE terhadap struktur dan bilangan progeni yang dihasilkan sebagai langkah pengesahan kajian ini. Gabungannya dengan GTN boleh dibangunkan bagi tujuan merawat jangkitan HHV-1 secara sapuan ataupun dimakan secara selamat.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini dibiaya sepenuhnya oleh geran penyelidikan Kementerian Pengajian Tinggi Malaysia (FRGS/1/2019/WAB11/UKM/02/1).

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis menyatakan tiada konflik kepentingan

RUJUKAN

- Abdul Wahab, N.Z., Shahar, S., Abdullah-Sani, H., L Pihie, A.H. & Ibrahim, N. 2011. Antioxidant, antibacterial and antiviral properties of *Goniethalamus umbrosus* leaves methanolic extract. *African Journal of Microbiology Research*, **5(20)**: 3138-3143. <https://doi.org/10.5897/ajmr10.758>
- Ahamad Bahtiar, A., Md Nor, N.S. & Ibrahim, N. 2016. In vitro antiviral activity of styrylpyrone derivative-incorporated formulations against herpes simplex virus type-1. *Malaysian Journal of Microbiology*, **12(3)**: 228-232. <https://doi.org/10.21161/mjm.81015>
- Angeles-Agdeppa, I., Nacis, J.S., Capanzana, M.V., Dayrit, F.M. & Tanda, K.V. 2021. Virgin coconut oil is effective in lowering C-reactive protein levels among suspect and probable cases of COVID-19. *Journal of Functional Foods*, **83**: 104557. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104557>
- Bahtiar, A.A., Nor, N.S. & Ibrahim, N. 2015. Stability evaluation of Styrylpyrone derivative (SPD) incorporated products. *AIP Conference Proceedings*, **1678**: 030005. <https://doi.org/10.1063/1.4931226>
- Balsinghe, R.R., Rajbhoj, S.R., Limaye, M.V., Vaidya, M.U., Rane, P.S. & Tilak, A.V. 2017. Antiinflammatory and immunomodulatory activity of ethanol extract of Aloe vera gel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, **9(2)**: 832-835. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(2\).832-35](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(2).832-35)
- Bonifácio, B.V., da Silva, P.B., dos Santos Ramos, M.A., Silveira Negri, K.M., Bauab, T.M. & Chorilli, M. 2014. Nanotechnology-based drug delivery systems and herbal medicines: A review. *International Journal of Nanomedicine*, **9(1)**: 1-15. <https://doi.org/10.2147/ijn.s52634>
- Chen, Y., Scieux, C., Garrat, V., Socié, G., Rocha, V., Molina, J., Thouvenot, D., Morfin, F., Hocqueloux, L., Garderet, L., Espérou, H., Sélimi, F., Devergie, A., Leleu, G., Aymard, M., Morinet, F., Gluckman, E. & Ribaud, P. 2000. Resistant herpes simplex virus type 1 infection: An emerging concern after Allogeneic stem cell transplantation. *Clinical Infectious Diseases*, **31(4)**: 927-935. <https://doi.org/10.1086/314052>
- Choi, S. & Chung, M. 2003. A review on the relationship between aloe Vera components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine*, **1(1)**: 53-62. [https://doi.org/10.1016/s1543-1150\(03\)00005-x](https://doi.org/10.1016/s1543-1150(03)00005-x)
- Dargan, D.J. 2003. Investigation of the anti-HSV activity of candidate antiviral agents. *Herpes Simplex Virus Protocols*, Humana Press: New Jersey. pp. 387-406.
- Florence, A.T. & Attwood, D. 2011. Physicochemical Principles of Pharmacy. 5th Ed. Pharmaceutical Press: London. 527 pp.
- Hamman, J. 2008. Composition and applications of aloe Vera leaf gel. *Molecules*, **13(8)**: 1599-1616. <https://doi.org/10.3390/molecules13081599>
- Hamsi, M.A., Othman, F., Das, S., Kamisah, Y., Thent, Z.C., Qodriyah, H.M., Zakaria, Z., Emran, A., Subermaniam, K. & Jaarin, K. 2015. Effect of consumption of fresh and heated virgin coconut oil on the blood pressure and inflammatory biomarkers: An experimental study in Sprague Dawley rats. *Alexandria Journal of Medicine*, **51(1)**: 53-63. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2014.02.002>
- Honess, R.W. & Roizman, B. 1974. Regulation of Herpesvirus macromolecular synthesis I. Cascade regulation of the synthesis of three groups of viral

- proteins. *Journal of Virology*, **14(1)**: 8-19. <https://doi.org/10.1128/jvi.14.1.8-19.1974>
- Ibrahim, N., Shahaar, S., Wahab, N.Z. & Nor, N.S. 2019. Effect of styrylpyrone derivative (SPD) and SPD/foscarnet combination towards virus infected cell. *THE 2018 UKM FST POSTGRADUATE COLLOQUIUM: Proceedings of the Universiti Kebangsaan Malaysia, Faculty of Science and Technology 2018 Postgraduate Colloquium*, **21111(1)**: 040002. <https://doi.org/10.1063/1.5111241>
- Ikawa, Y., Fujiki, T., Nishimura, R., Noguchi, K., Koshino, E., Fujiki, A., Fukuda, M., Kuroda, R., Mase, S., Araki, R., Maeba, H., Shiraki, K. & Yachie, A. 2019. Improvement of refractory acyclovir-resistant herpes simplex virus type 1 infection by continuous acyclovir administration. *Journal of Infection and Chemotherapy*, **25(1)**: 65-67. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.07.004>
- Jewers, K., Davis, J., Dougan, J., Manchanda, A., Blunden, G., Kyi, A. & Wetchapinan, S. 1972. Goniiothalamine and its distribution in four Goniiothalamus species. *Phytochemistry*, **11(6)**: 2025-2030. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(00\)90168-7](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(00)90168-7)
- Kohn, A., Gitelman, J. & Inbar, M. 1980. Unsaturated free fatty acids inactivate animal enveloped viruses. *Archives of Virology*, **66(4)**: 301-307. <https://doi.org/10.1007/bf01320626>
- Kristmundsdóttir, T., Árnadóttir, S.G., Bergsson, G. & Thormar, H. 1999. Development and evaluation of microbicidal hydrogels containing monoglyceride as the active ingredient. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **88(10)**: 1011-1015. <https://doi.org/10.1021/js9900396>
- Lin, C., Wu, C., Hsiao, N., Chang, C., Li, S., Wan, L., Lin, Y. & Lin, W. 2008. Aloe-emodin is an interferon-inducing agent with antiviral activity against Japanese encephalitis virus and enterovirus 71. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **32(4)**: 355-359. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.04.018>
- Md Nor, N.S. & Ibrahim, N. 2011. Styrylpyrone derivative of *Goniiothalamus umbrosus* inhibit HSV-1 infection during viral early replication cycle. *Antiviral Research*, **90(2)**: A58. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.03.112>
- Md Nor, N.S. & Ibrahim, N. 2012. Styrylpyrone derivative (SPD) induce cell cycle arrest during herpes simplex virus type-1 (HSV-1) infection. *International Journal of Infectious Diseases*, **16**: e97. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2012.05.225>
- Menda, J.P., Reddy, T., Deepika, R., Pandima Devi, M. & Sastry, T.P. 2015. Preparation and characterization of wound healing composites of chitosan, aloe vera and *Calendula officinalis* – A comparative study. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, **2(1)**: 61-76.
- Mohd-Nasir, H. & Mohd-Setapar, S.H. 2018. Natural ingredients in cosmetics from Malaysian plants: A review. *Sains Malaysiana*, **47(5)**: 951-959. <https://doi.org/10.17576/jsm-2018-4705-10>
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, **65(1-2)**: 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Narayanankutty, A., Illam, S. P. & Raghavamenon, A.C. 2018. Health impacts of different edible oils prepared from coconut (*Cocos nucifera*): A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, **80**: 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.025>
- Pastre, J.C., Murray, P.R., Browne, D.L., Brancaglioni, G.A., Galaverna, R.S., Pilli, R.A. & Ley, S.V. 2020. Integrated batch and continuous flow process for the synthesis of Goniiothalamine. *ACS Omega*, **5(29)**: 18472-18483. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02390>
- Pilli, R.A., De Toledo, I., Meirelles, M.A. & Grigolo, T.A. 2019. Goniiothalamine-related Styryl lactones: Isolation, synthesis, biological activity and mode of action. *Current Medicinal Chemistry*, **26(41)**: 7372-7451. <https://doi.org/10.2174/0929867325666181009161439>
- Ramesh, S., Pandiselvam, R., Hebbar, K., Manikantan, M., Beegum, P.S., Praveen, S. & Sruthi, N. 2021. Antiviral potential of coconut (*Cocos nucifera* L.) oil and COVID-19. *Coronaviruses*, **2(4)**: 405-410. <https://doi.org/10.2174/2666796701999201104164010>
- Razali, R.M., Kadir, N.H.A., Ghazaly, M.M., Ganeson, K., Manikam, R.V.S. & Jamaludin, N.H. 2020. Toxicity determination of cinnamon oil-infused Aloe vera edible coating matrix on normal human lung fibroblast MRC-5 cells. *Malaysian Applied Biology*, **49(4)**: 267-271.
- Renjith, R., Chikku, A. & Rajamohan, T. 2013. Cytoprotective, antihyperglycemic and phytochemical properties of *Cocos nucifera* (L.) inflorescence. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **6(10)**: 804-810. [https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(13\)60142-x](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(13)60142-x)
- Rezazadeh, F., Moshaverinia, M., Motamedifar, M. & Alyaseri, M. 2016. Assessment of anti HSV-1 activity of aloe vera gel extract: An in vitro study. *Journal of Dentistry*, **17(1)**: 49-54.
- Sahu, P.K., Giri, D.D., Singh, R., Pandey, P., Gupta, S., Shrivastava, A.K., Kumar, A. & Pandey, K.D. 2013. Therapeutic and medicinal uses of Aloe vera: A review. *Pharmacology & Pharmacy*, **4(8)**: 599-610. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.48086>
- Semprebon, S., De Fátima, Â., Lepri, S., Sartori, D., Ribeiro, L. & Mantovani, M. 2014. (s)-goniiothalamine induces DNA damage,

- apoptosis, and decrease in BIRC5 Messenger RNA levels in NCI-H460 cells. *Human & Experimental Toxicology*, **33(1)**: 3-13. <https://doi.org/10.1177/0960327113491506>
- Seyed, M.A., Jantan, I. & Bukhari, S.N. 2014. Emerging anticancer potentials of Goniothalamin and its molecular mechanisms. *BioMed Research International*, **2014**: 1-10. <https://doi.org/10.1155/2014/536508>
- Shilling, M., Matt, L., Rubin, E., Visitacion, M.P., Haller, N.A., Grey, S.F. & Woolverton, C.J. 2013. Antimicrobial effects of virgin coconut oil and its medium-chain fatty acids on *Clostridium difficile*. *Journal of Medicinal Food*, **16(12)**: 1079-1085. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0303>
- Stanley, M.C., Ifeanyi, O.E. & Eziokwu, O.G. 2014. Antimicrobial effects of aloe vera on some human pathogens. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **3(3)**: 1022-1028.
- Stránská, R., Schuurman, R., Nienhuis, E., Goedegebuure, I. W., Polman, M., Weel, J. F., Wertheim-Van Dillen, P.M., Berkhout, R.J. & van Loon, A.M. 2005. Survey of acyclovir-resistant herpes simplex virus in the Netherlands: prevalence and characterization. *Journal of Clinical Virology*, **32(1)**: 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2004.04.002>
- Suffness, M. & Pezzuto, J.M. 1990. Assays related to cancer drug discovery. *Methods in Plant Biochemistry: Assays for Bioactivity*, **6**: 71-133.
- Sun, Z., Yu, C., Wang, W., Yu, G., Zhang, T., Zhang, L., Zhang, J. & Wei, K. 2018. Aloe polysaccharides inhibit influenza A virus infection—A promising natural anti-flu drug. *Frontiers in Microbiology*, **9**: 2338. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02338>
- Wahab, N.Z., Nazlina, I., Sani, H.A. & Pihie, A.L. 2015. The proposed action of styrylpyrone derivative in HSV-1 infected vero cells by differential gene expression. *Research & Reviews in BioSciences*, **10(5)**: 166-172.
- William, J.A. 2018. US10307452B2 - Antimicrobial and antiviral composition - Google patents. Google Patents. URL <https://patents.google.com/patent/US10307452B2/en> (accessed 10.2.21)
- Yip, C., Nagaoka, Y., Nor, N. S. & Ibrahim, N. 2016. In vitro evaluation of anticancer effect and neurotoxicity of styrylpyrone derivative (SPD). *AIP Conference Proceedings*, **1784**: 020013. <https://doi.org/10.1063/1.4966723>
- Zandi, K., Zadeh, M. A., Sartavi, K. & Rastian, Z. 2007. Antiviral activity of aloe Vera against herpes simplex virus type 2: An in vitro study. *African Journal of Biotechnology*, **6(15)**: 1770-1773. <https://doi.org/10.5897/ajb2007.000-2276>