

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Berdasarkan InfoDATIN 2017, hepatitis merupakan penyakit menular yang menjadi masalah kesehatan masyarakat Indonesia yang berpengaruh terhadap angka kesakitan, angka kematian, status kesehatan masyarakat, angka harapan hidup, dan juga dampak sosial ekonomi lainnya. Hepatitis adalah peradangan hati yang bisa berkembang menjadi fibrosis (jaringan parut), sirosis atau kanker hati. Hepatitis disebabkan oleh berbagai faktor seperti infeksi virus yaitu Virus Hepatitis A, B, C, D, dan E; zat beracun (misalnya alkohol, obat-obatan tertentu); dan penyakit autoimun. Penyebab hepatitis yang paling umum terjadi di Indonesia disebabkan oleh Virus Hepatitis B dan C (Kemenkes, 2017). Virus Hepatitis C merupakan golongan virus RNA yang bersifat tidak stabil dan dapat bermutasi menjadi beberapa genotipe dan subgenotipe dengan masa inkubasi 2-24 minggu dan hingga saat ini masih belum ditemukan vaksin untuk mencegah terjadinya Hepatitis C (Depkes 2013; Kemenkes, 2014b).

Virus hepatitis C merupakan salah satu penyebab kematian (mortalitas) dan morbiditas yang menyatakan adanya peningkatan pada tahun 1990 hingga tahun 2005 sebanyak 2,8% atau setara dengan 185 juta kasus infeksi di seluruh dunia (Cooke *et al.*, 2013; Khayriyyah *et al.*, 2013). Kronisitasnya mencapai 80% penderita dapat menjadi infeksi virus hepatitis C kronis yang menyebabkan kematian karena adanya komplikasi berupa sirosis hati dan HCC (*Hepatocellular carcinoma*) yang terkait virus hepatitis C (Kemenkes,

2014b; Razavi *et al.*, 2014). Infeksi virus hepatitis C dapat secara langsung menginduksi HCC dengan mengubah beberapa jalur pengaturan *host* yang terlibat dalam proliferasi, metabolisme energi, angiogenesis, transisi epitel-mesenkimal (EMT), perbaikan DNA, apoptosis dan stres retikulum oksidatif/endoplasma (ER) kemudian menyebabkan peningkatan tingkat spesies oksigen reaktif (ROS) yang dapat merusak hepatosit baik pada tingkat metabolisme maupun genetik sehingga menyebabkan kematian sel (Vescovo *et al.*, 2016).

Pada infeksi awal hepatitis, sekitar 80% penderita tidak merasakan gejala, namun pasien mulai merasakan efek ketika infeksi sudah kronis (WHO, 2019). Gejala kronis yang timbul, antara lain demam, mudah lelah, nafsu makan menurun, mual, muntah, nyeri pada perut, air seni berwarna gelap, nyeri sendi, dan mata berwarna kuning (pada bagian putih mata) dan seluruh kulit tubuh menjadi kuning (WHO, 2019). Infeksi virus hepatitis C tidak hanya menyebabkan penyakit intrahepatik tetapi juga manifestasi ekstrahepatik termasuk gangguan metabolisme glukosa (Shoji *et al.*, 2012). Gangguan metabolisme glukosa disebabkan oleh protein NS5A virus hepatitis C yang meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) kemudian terjadi peningkatan proses glukoneogenesis sehingga kadar glukosa dalam darah juga mengalami peningkatan (Shoji *et al.*, 2012).

Virus hepatitis C merupakan famili Flaviviridae dengan genus *Hepacivirus* (ICTV, 2018) yang memiliki ukuran kecil dan terbungkus oleh amplop RNA (*Ribo Nucleic Acid*) positif dengan beberapa genotipe dan subgenotipe, serta distribusinya bervariasi pada berbagai bagian dunia (WHO, 2017b). Klasifikasi virus hepatitis C dibagi menjadi tujuh genotipe (1 sampai 7) dengan lebih dari 70

subtipe (1a, 1b, 2a, 2b, dll). Distribusi genotipe virus hepatitis C memiliki pengaruh yang penting dalam efektivitas terapi. Virus hepatitis C genotipe 1 merupakan yang paling umum, yaitu mewakili sebanyak 46% dari semua kasus infeksi virus hepatitis C, genotipe 3 mewakili sekitar 22% kasus, genotipe 2 dan 4 mewakili 13% kasus, sedangkan genotipe 6 dan 5 masing-masing mewakili 2% dan 1% kasus. Distribusi dari virus hepatitis C genotipe 1, 2 dan 3 tersebar luas di area global termasuk Amerika Serikat, Amerika Selatan, Eropa, Australia, dan Asia Timur. Prevalensi genotipe 4 tertinggi di Mesir dan Afrika Tengah, genotipe 5 pada Afrika Selatan dan genotipe 6 kebanyakan ditemukan di Asia Tenggara (Gower *et al.*, 2014; Smith *et al.*, 2013). Di Indonesia, kasus penyebab hepatitis C yang terbanyak disebabkan oleh virus hepatitis C genotipe 1 (Utama *et al.*, 2010).

Cara penularan virus hepatitis C melalui darah dan cairan tubuh, penularan masa perinatal sangat kecil, melalui jarum suntik (IDUs, *tattoo*), transplantasi organ, kecelakaan kerja (petugas kesehatan), dan hubungan seks namun sangat kecil kemungkinan penularannya (Kemenkes, 2014b). Tindakan pencegahan virus hepatitis C dilakukan dengan cara menghindari faktor risiko karena belum tersedianya vaksin untuk virus tersebut (Kemenkes, 2014b). Pembuatan vaksin antivirus hepatitis C sampai saat ini belum dilakukan pengembangan karena penularan virus berlangsung cepat akibat dari replikasi virus yang dapat mencapai 10 triliun *copy* sehari yang bersifat tidak stabil dan dapat berubah menjadi sejumlah genotipe dan subgenotipe (Depkes, 2013).

Infeksi awal pada kasus hepatitis C tidak selalu memerlukan pengobatan karena respon dari sistem kekebalan tubuh dapat

menghapuskan infeksi tersebut, namun pada kasus hepatitis C kronis perlu dilakukan pengobatan dengan tujuan untuk penyembuhan (WHO, 2019). Perkembangan pengobatan infeksi virus hepatitis C menurut WHO (2017a) berawal dari terapi kombinasi berbagai jenis interferon dengan penambahan ribavirin (obat antivirus) yang dapat meningkatkan angka kesembuhan, namun efektivitas dari kombinasi obat tersebut hanya sebesar 40% dan 65% tergantung dari berbagai faktor serta dapat menimbulkan efek samping, kemudian pada tahun 2015 terjadi peningkatan pada terapi antivirus hepatitis C, yaitu obat oral yang dapat menghambat siklus replikasi virus hepatitis C secara langsung yang disebut *Direct Acting Antiviral Agents* (DAAs) seperti Sofosbuvir, Simeprevir, Declatasvir, Ledipasvir, dan lain sebagainya. Target terapi antivirus hepatitis C adalah pencapaian *Sustained Virological Response* (SVR), sehingga perlu dilakukan pemeriksaan virus hepatitis C RNA secara berkala (Kemenkes, 2015). SVR merupakan tingkat virus hepatitis C yang tidak terdeteksi menggunakan uji sensitif (dengan batas lebih rendah 25 IU/mL) setelah 12 minggu menyelesaikan terapi (Scott *et al.*, 2018). Dilakukan pengukuran tingkat RNA HCV 12 minggu setelah terapi untuk mengevaluasi SVR, jika virus hepatitis C pada pasien tidak terdeteksi maka dianggap telah mencapai SVR12, bebas dari virus, dan telah dianggap sembuh (Scott *et al.*, 2018).

Pengobatan antivirus hepatitis C menggunakan DAAs pada tahun 2015 yang mencapai SVR sebesar 80% atau 843.000 orang yang menyelesaikan pengobatan (WHO, 2017a). SVR tertinggi pada wilayah Amerika sebesar 88% dan terendah pada wilayah Pasifik Barat yaitu 63% yang dipengaruhi oleh perbedaan akses tiap wilayah dalam mendapatkan DAAs yang lebih baru. SVR yang tinggi dapat

mengurangi komplikasi virus hepatitis C menjadi sirosis hati serta pengobatan DAAs pada pasien transplantasi hati menghasilkan sebagian besar pasien memiliki *viral load* negatif sehingga mengurangi risiko kekambuhan (Gonzalez-Grande *et al.*, 2016). Terdapat beberapa kekurangan terkait pengobatan DAAs adalah biaya pengobatan terlalu mahal untuk dapat diakses oleh semua pasien dengan HCV sehingga perlu adanya pertimbangan, tidak hanya kemanjuran obat tetapi juga biaya dalam pemilihan terapi antivirus hepatitis C (Tamori *et al.*, 2016).

Perlu adanya pertimbangan untuk pengadaan penelitian dan pengembangan dalam rangka penanggulangan virus hepatitis C seperti penggunaan obat tradisional (Kemenkes, 2015). Pada penelitian sebelumnya, terdapat beberapa tanaman sebagai kandidat obat untuk infeksi virus hepatitis C yang berfungsi untuk mencegah dan mengurangi prevalensi penyakit hepatitis C dengan cara menghambat replikasi dari virus tersebut. Hasil penelitian Wahyuni *et al.* (2013) melaporkan bahwa beberapa tanaman obat memiliki aktivitas antivirus hepatitis C, diantaranya adalah ekstrak etanol daun *Toona sureni*, ekstrak etanol *Melicope latifolia*, ekstrak etanol batang *Melanolepis multiglandulosa*, ekstrak etanol daun *Ficus fistulosa*, ekstrak etanol *Curcuma domestica*, *Curcuma xanthorrhiza*, dan *Curcuma heyneana* (Wahyuni *et al.*, 2018), serta ekstrak etanol *Phyllanthus niruri* (Wahyuni *et al.*, 2019a). Pada penelitian lain menyebutkan bahwa tanaman dari famili Rutaceae dengan genus *Ruta*, yaitu *Ruta angustifolia* L. memiliki aktivitas antivirus hepatitis C (Wahyuni *et al.*, 2014) dan diperkuat oleh penelitian Wahyuni *et al.* (2019b) mengenai ekstrak etanol 96% daun tanaman *Ruta angustifolia* L. memiliki efek sinergis jika dikombinasi dengan obat

antivirus hepatitis C yaitu Simeprevir dan Telaprevir (NS3 *protein inhibitor*). Selain tanaman *Ruta angustifolia* L., terdapat tanaman yang memiliki famili yang sama yaitu *Murraya paniculata* (L.) Jack.

Tanaman *Murraya paniculata* (L.) Jack yang biasa disebut kemuning atau *orange jessamine*, tumbuh di Indonesia terutama di Jawa Tengah dan Jawa Timur (Kartasapoetra, 2004). Tanaman ini memiliki famili yang sama dengan *Ruta angustifolia* L. yaitu Rutaceae dan memiliki genus *Murraya* serta memiliki nama lain *Chalcas paniculata* L., *Murraya exotica* L., dan *Murraya sumatrana* Roxb. (Seidemann, 2005). Penggunaan daun kemuning (*M. paniculata* (L.) Jack) secara tradisional di Filipina, digunakan sebagai stimulan dan astringen untuk mengobati diare (Gautam *et al.*, 2012) sedangkan di Indonesia khususnya dalam sejarah Kesultanan Yogyakarta (Gill *et al.*, 2014), kemuning merupakan tanaman kerajaan yang mewakili simbol kearifan dan diyakini melindungi dari setan, sihir, nasib buruk, dan membawa keberuntungan yang terlibat dalam dua siklus penting kehidupan manusia yaitu pernikahan dan kematian/pemakaman, daun kemuning dijadikan alas tidur untuk menciptakan aroma yang menyenangkan, serta air rebusan daun kemuning dapat digunakan sebagai obat kumur untuk sakit gigi, untuk diare dan disentri, untuk nyeri rematik dan batuk, serta untuk kesuburan organ reproduksi wanita.

Penelitian mengenai ekstrak etanol daun kemuning atau *M. paniculata* (L.) Jack dapat berfungsi sebagai analgesik dan menunjukkan efek sitotoksik (Sharker *et al.*, 2009), sebagai antioksidan dan antibakteri (Gautam *et al.*, 2012), antiobesitas (Sukohar *et al.*, 2017a), antidiabetes (Handayani dan Mahanani, 2019), serta kandungan sterol pada daun *M. paniculata* (L.) Jack memiliki aktivitas antiviral

terhadap virus *Avian Influenza* H5N1 dengan  $IC_{50}$  0,15  $\mu\text{g/mL}$  (Baker *et al.*, 2017). Kandungan senyawa yang dimiliki kemuning atau *M. paniculata* (L.) Jack yaitu kumarin (Aziz *et al.*, 2010) dan flavonoid (Zhang *et al.*, 2010). Menurut Venugopala, *et al.* (2013) kumarin tertinggi antara lain terdapat pada daun *M. paniculata* (L.) Jack yaitu senyawa 7-metoksi-8-(3-metil-2-oksobutoksi)-2H-kromen-2-on dan murayatin. Penelitian dari Nichols *et al.* (2013) menyatakan bahwa derivat kumarin dapat menghambat virus hepatitis C pada *polymerase* NS5B. Selain itu, kandungan flavonoid dari ekstrak etanol 70% daun kemuning memiliki aktivitas sebagai hepatoprotektor pada tikus yang terpapar asap rokok karena dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada dosis 200 mg/KgBB dan 400 mg/KgBB setelah 14 hari (Pahriyani *et al.*, 2017) serta telah dilakukan uji klinik pada pasien obesitas yang diberikan air seduhan daun kemuning sebanyak 250 mL selama 15 hari dan terbukti sebagai hepatoprotektor karena dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT (Sukohar *et al.*, 2017b). Aktivitas hepatoprotektor menjadi pilihan pengobatan yang dapat mencegah perkembangan virus hepatitis C terhadap penyakit hati kronis menjadi penyakit hati yang lebih parah sehingga digunakan sebagai kombinasi terapi atau diberikan setelah terapi menggunakan DAAs (Li *et al.*, 2018).

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V (2014), ekstrak ialah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Ekstraksi digunakan untuk memisahkan secara selektif analit sampel dari komponen yang harus dihilangkan (Moldoveanu dan David, 2014). Pemilihan pelarut

didasarkan pada selektivitas, titik didih pelarut, pelarut tidak larut dalam air, inert, lebih ekonomis, pelarut mudah terbakar (Guenther, 1987). Cairan pelarut yang aman digunakan adalah etanol, air, atau campurannya (Depkes RI, 2000) sehingga dipilih pelarut etanol serta dilakukan ekstraksi bertingkat dengan pelarut yang semakin meningkat kepolarannya, yaitu *n*-heksana, diklorometana, dan metanol yang bertujuan untuk menghasilkan senyawa tertentu yang terekstrak pada setiap pelarut yang digunakan (Permadi *et al.*, 2015). Kemudian dilakukan uji aktivitas antivirus hepatitis C sehingga dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan obat antivirus hepatitis C.

Beberapa penjelasan di atas, diharapkan tanaman kemuning atau *M. paniculata* (L.) Jack mampu menjadi alternatif antivirus hepatitis C sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengembangan terapi dari bahan alam, yakni *M. paniculata* (L.) Jack untuk mengatasi infeksi virus hepatitis C yang aman, biaya pengobatan yang terjangkau, dan mengurangi terjadinya resistensi obat terhadap infeksi virus hepatitis C. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antivirus hepatitis C terhadap ekstrak etanol 96% serta ekstrak *n*-heksana dan fraksinya (diklorometana dan metanol) dari *M. paniculata* (L.) Jack *in vitro*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol 96%, ekstrak *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi metanol dari daun *Murraya paniculata* (L.) Jack mempunyai aktivitas sebagai antivirus hepatitis C?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Penelitian ini secara umum bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antivirus hepatitis C pada ekstrak etanol 96%, ekstrak *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi metanol daun *Murraya paniculata* (L.) Jack.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Penelitian ini secara khusus bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antivirus hepatitis C pada kultur sel hepatosit berdasarkan pengamatan pada persen penghambatan sel yang terinfeksi ( $IC_{50}$ ) terhadap ekstrak etanol 96%, ekstrak *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi metanol daun *Murraya paniculata* (L.) Jack dan persen sitotoksitas ( $CC_{50}$ ) terhadap ekstrak etanol 96% daun *Murraya paniculata* (L.) Jack.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah membuktikan secara ilmiah tentang pemanfaatan ekstrak etanol 96%, ekstrak *n*-heksana, fraksi diklorometana, dan fraksi metanol dari daun *Murraya paniculata* (L.) Jack sebagai antivirus hepatitis C sehingga dapat digunakan sebagai dasar pengembangan obat antivirus hepatitis C.