

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit hepatitis C adalah suatu peradangan akut maupun kronis pada liver yang disebabkan oleh infeksi virus Hepatitis C. Penyakit ini diperkirakan telah menginfeksi 170 juta orang dan menyebabkan sekitar 58 juta kasus peradangan kronis dengan estimasi penambahan kasus baru sejumlah 1,5 juta kasus per tahun (Morozov dan Lagaye, 2018; WHO, 2021). Di Indonesia sendiri pada tahun 2013 diperkirakan terdapat 28 juta orang yang terinfeksi hepatitis B dan C, dengan 14 juta orang diantaranya berpotensi untuk berlanjut menjadi peradangan kronis, dan 1,4 juta dari jumlah tersebut beresiko mengalami kanker hati (Kemenkes RI, 2014). Tidak menutup kemungkinan bahwa jumlah penderita sesungguhnya di lapangan lebih besar karena adanya kasus yang belum tercatat. Hal ini berkaitan dengan kejadian hepatitis C yang kebanyakan tidak langsung menunjukkan gejala pada penderita hingga terjadi kerusakan hati yang parah, yang menyebabkan tidak semua penderita langsung mengunjungi fasilitas layanan kesehatan (Alhawaris, 2019; Kemenkes RI, 2014).

Penularan hepatitis C terjadi utamanya melalui aliran darah atau cairan tubuh lainnya, yang dapat terjadi pada saat transfusi darah, transplantasi organ, atau penggunaan berulang alat medis yang bersifat invasif. Hepatitis C pun dapat ditularkan melalui hubungan seks serta dari ibu ke anak, namun kemungkinan penularan kedua rute ini sangat kecil. Meski demikian, hepatitis C tetap perlu diwaspadai karena 80% infeksi mengarah pada infeksi kronik, yang tanpa disadari dapat berkembang menjadi sirosis hati, yang merupakan kerusakan hati yang parah, serta kanker hati (Morozov *et al.*, 2018; Kemenkes RI, 2014).

Hingga saat ini, belum ditemukan vaksin untuk hepatitis C (Susiloningrum *et al.*, 2020). Sejak 1986, pengobatan hepatitis C dilakukan dengan memakai interferon (IFN), namun diketahui nilai *sustained virological response* (SVR) yang menjadi parameter keberhasilan pengobatan hepatitis C hanya mencapai 10-20% (Lai, 2000). Hingga pada tahun 1998 terapi ini dikombinasikan dengan ribavirin, sebuah antivirus non-spesifik. Ribavirin termasuk ke dalam golongan *Host Targeted Agent* (HTA) yang aktivitasnya

menyasar langsung pada sel host. Diketahui ribavirin tidak memberikan efek yang berarti saat diberikan sebagai monoterapi, namun dapat meningkatkan SVR hingga 40-50% jika dikombinasi bersama IFN- α (Lai *et al.*, 2002). Pada kisaran tahun 2001 dilakukan modifikasi interferon dengan penambahan polietilen glikol (PEG) sehingga membentuk PEG-IFN, yang juga dapat meringankan inflamasi dan fibrosis di liver (Kagawa *et al.*, 2011). Kombinasi PEG-IFN dan ribavirin diberikan selama 24 minggu untuk penderita hepatitis C genotip 2 dan 3, serta selama 48 minggu untuk genotip 1 dan 4 (Rong dan Perelson, 2010). Meski demikian kombinasi ini memiliki efek samping seperti kelelahan, gejala mirip influenza, gangguan pencernaan, gejala neuropsikiatri, serta kelainan hematologi. Efek samping ini selain dapat menurunkan kualitas hidup pasien juga dapat menyebabkan penghentian prematur dari terapi atau pengurangan dosis, yang tentu saja dapat mempengaruhi capaian SVR (Paik, 2009; Alazard-Dany *et al.*, 2019).

Setelah satu dekade, pada 2010 ditemukan terobosan terapi baru yang disebut *Direct Antiviral Agent* (DAA), yang bekerja dengan menghambat secara langsung protein esensial yang berperan penting pada replikasi virus (Alazard-Dany *et al.*, 2019). Protein yang dimaksud adalah protein non struktural (NS), dan penghambatnya disebut protease inhibitor (PI). Dengan ditemukannya inhibitor NS3/4A generasi pertama seperti telaprevir (TPV) dan boceprevir (BOC), yang dikombinasikan dengan PEG-IFN + RBV pada terapi berhasil menunjukkan peningkatan SVR lebih dari 30%. Namun 20-40% pasien diketahui mengalami kegagalan terapi ini dan *viral load* kembali muncul baik selama terapi ataupun saat terapi dihentikan. Seiring berjalannya waktu ditemukan DAA baru seperti simeprevir (inhibitor NS3/4A), daclatasvir (disingkat DCV, inhibitor NS5A), dan sofosbuvir (disingkat SOF, inhibitor NS5B), serta kombinasi terapi oral bebas IFN seperti ledipasvir/sofosbuvir untuk menghambat NS5A dan NS5B, serta kombinasi tetap (*fixed concentration combination*) paritaprevir/ritonavir + ombipasvir + dasabuvir untuk menghambat NS3, NS5A, NS5B, yang pada uji klinis diketahui dapat meningkatkan SVR menjadi lebih dari 90% pada pasien naïve maupun pasien dengan sirosis hati. Meski demikian, beberapa DAA masih memiliki kekurangan karena dapat menimbulkan efek samping, interaksi obat, serta resistensi di beberapa genotype virus. Selain itu, biaya yang cukup mahal untuk memperoleh pengobatan ini menjadi tantangan untuk terapi hepatitis C kedepannya, karena penyakit ini tidak hanya terjadi di negara maju namun juga negara berkembang (Steiner, *et al.*, 2017; Perales *et al.*, 2015; Henry, 2018). Di Indonesia pengobatan hepatitis C telah tersedia di 51 rumah sakit yang tersebar di 25 provinsi, namun baru 1 rumah sakit yang menyediakan terapi DAA (Kemenkes RI, 2022).

Pengembangan obat antihepatitis C juga dilakukan dengan pencarian senyawa aktif yang berasal dari bahan alam, terutama tanaman. Bahan alam umumnya memiliki beberapa kelebihan, antara lain kemiripan metabolit yang membuatnya menjadi sumber bahan baku untuk obat-obatan tertentu, tolerabilitas yang baik, toksisitas yang rendah, serta memiliki efek polifarmakologi, merupakan kandidat ideal untuk bisa dikombinasikan bersama agen terapeutik lainnya, dalam rangka mengatasi tantangan pengobatan konvensional yang terus terjadi (Sun *et al.*, 2022).

Wahyuni *et al.* (2016) melaporkan beberapa tanaman yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap virus hepatitis C, antara lain *Ruta angustifolia* (daun), *Embelia schimperi* (buah), *Ligustrum lucidum* (buah), *Andrographis paniculata*, *Camellia sinensis* (daun), *Glycyrrhiza uralensis* (akar), dan banyak lagi yang lainnya (Wahyuni *et al.*, 2016).

Salah satu ekstrak tanaman yang berpotensi sebagai kandidat obat antihepatitis C adalah *Acacia mangium* Willd. atau biasa dikenal sebagai tongke hutan, mangium, dan nama lokal lainnya. Tanaman ini termasuk dalam famili *Fabaceae*, salah satu famili tanaman yang sering digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit liver di Indonesia (Widodo *et al.*, 2019). Sebelumnya, diketahui 2 spesies *Acacia* lain memiliki aktivitas antihepatitis C, yaitu spesies *Acacia nilotica* dan *Acacia confusa* (Hussein *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2011). Pada tahun 2020, dilakukan uji aktivitas ekstrak dan fraksi daun *Acacia mangium* Willd. yang hasilnya juga menunjukkan bahwa ekstraknya aktif sebagai antihepatitis C. Secara *in vitro*, diketahui ekstrak dan fraksi dari daun *Acacia mangium* Willd. menghambat virus hepatitis C pada tahap *post entry*, yakni tahap setelah virus masuk ke dalam sel hepatosit yang meliputi proses replikasi, perakitan, dan pelepasan virus. Konsentrasi hambatan 50% atau *Inhibition concentration* (IC₅₀) ekstrak etanol 96% daun *Acacia mangium* Willd. adalah $4,45 \pm 0,06$ µg/ml. Ekstrak etanol 96% daun *Acacia mangium* Willd. diketahui tidak bersifat toksik terhadap sel hepatosit, dengan nilai *Cytotoxicity Concentration* 50% (CC₅₀) sebesar >400 µg/ml (Sukma, 2020).

Melihat potensinya tersebut, ekstrak *A. mangium* merupakan kandidat potensial untuk dikembangkan menjadi obat antihepatitis C. Pada aplikasinya, pengobatan hepatitis C dilakukan secara kombinasi, yang secara konseptual dilakukan untuk mencapai efek terapeutik yang sinergis, mengurangi dosis dan toksisitas, serta meminimalisir atau menunda terjadinya resistensi obat. Hal ini selaras dengan karakteristik virus hepatitis C yang cukup rentan untuk menjadi resisten, selayaknya virus hepatitis B dan HIV. Kombinasi ini diuji dahulu aktivitasnya hingga diketahui apakah efek yang timbul

merupakan efek aditif, sinergis, atau antagonis (Chatterji *et al.*, 2014; Strahotin *et al.*, 2012; Chou, 2010). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas kombinasi antara obat antivirus dengan ekstrak etanol daun *A. mangium* terhadap virus hepatitis C yang efeknya akan dibandingkan dengan aktivitas saat obat bekerja secara tunggal. Selain itu akan dilihat apakah kombinasi yang diberikan bersifat toksik terhadap sel hepatosit, yang secara kuantitatif diketahui dari nilai *Cytotoxicity Concentration 50%* (CC_{50}).

Sinergisme kombinasi obat secara kuantitatif didefinisikan berdasarkan angka *Combination Index* (CI). Kombinasi obat dikatakan sebagai sinergis jika nilai $CI < 1$, aditif jika $CI = 1$, dan antagonis jika $CI > 1$. Perolehan angka ini berdasarkan hasil pengolahan data konsentrasi hambat (IC_{50}) menggunakan aplikasi CompuSyn (Chou, 2010).

Penelitian sebelumnya mengenai aktivitas antivirus hepatitis C dari kombinasi ekstrak tanaman dan obat antivirus hepatitis C salah satunya pernah dilakukan oleh Wahyuni *et al* (2019), yang menemukan bahwa aktivitas kombinasi simeprevir dengan ekstrak etanol daun *Phyllanthus niruri* menghasilkan aktivitas penghambatan virus 4 kali lebih besar dibandingkan dengan simeprevir tunggal, dilihat dari nilai konsentrasi hambat 50% (IC_{50}) terhadap virus hepatitis C. Tak hanya itu, beberapa ekstrak tanaman antara lain ekstrak daun *Ruta angustifolia* dan *Artocarpus heterophyllus* masing-masing diketahui menimbulkan efek sinergis saat dikombinasikan dengan obat antivirus hepatitis C (Permanasari *et al.*, 2021; Wahyuni *et al.*, 2020).

Berdasarkan beberapa temuan di atas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *A. mangium* dapat menjadi kandidat potensial untuk dikembangkan sebagai agen antivirus hepatitis C dengan dikombinasikan bersama obat antivirus hepatitis C lain untuk menunjang efektivitas terapi. Pada penelitian ini dibatasi hanya menggunakan ekstrak etanol 96% daun *A. mangium* karena menurut BPOM pelarut untuk ekstraksi produk obat tradisional utamanya adalah air dan/atau etanol (BPOM, 2019).

Obat yang dikombinasikan dengan ekstrak *A. mangium* adalah ribavirin, siklosporin A, dan telaprevir. Ribavirin adalah obat golongan *Host-Targeted Antiviral Agent* (HTA) yang bekerja dengan mempengaruhi komponen sel host yang diperlukan dalam replikasi virus. Ribavirin sebelumnya dikombinasikan dengan PEG-IFN. Telaprevir adalah obat antivirus konvensional yang tergolong ke dalam *Direct Acting Antiviral* (DAA) yang menghambat protein virus secara langsung, yang bekerja dengan menghambat NS3/4A protease dari virus. Siklosporin A biasanya digunakan sebagai imunosupresan pada transplantasi organ, namun diketahui juga dapat menghambat

replikasi virus hepatitis C. Siklosporin A merupakan obat yang telah beredar sebagai immunosupresan. Selain dapat mempengaruhi sel host, siklosporin A juga dapat menghambat virus dengan mengikat reseptor cyclophilin-A (CypA) yang berperan memfasilitasi infeksi virus, baik dengan cara berinteraksi dengan protein virus atau memfasilitasi faktor seluler lain yang dibutuhkan dalam replikasi virus. CypA berperan penting dalam propagasi virus hepatitis C. CypA dapat berikatan dengan NS5A protease yang berperan dalam replikasi dan perakitan virus, sehingga hambatan pada CypA akan mempengaruhi aktivitas NS5A protease, meskipun tidak mempengaruhi interaksi antara NS5A protease dengan protein lainnya (Dawar *et al.*, 2017; Nag *et al.*, 2012).

Ketiga obat ini sama-sama bisa menghambat pada tahap *post entry*, namun masing-masing memiliki target penghambatan yang berbeda, yang mungkin dapat menunjukkan hasil aktivitas yang juga berbeda saat dikombinasikan dengan ekstrak *A. mangium* (Pawlotsky, 2014; Kemenkes RI, 2015; Wahyuni *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2011). Hasil aktivitas akan dibandingkan dari masing-masing kombinasi dan dicari kombinasi mana yang menunjukkan efek sinergis.

Untuk itu, melalui penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antihepatitis C dari ekstrak *A. mangium* dan obat antivirus secara *in vitro*, kemudian datanya diolah secara matematis menggunakan aplikasi Compusyn untuk diketahui apakah efek sinergis yang dapat menunjang efektivitas terapi dapat dihasilkan dari kombinasi tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C yang ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol 96% *A. mangium* dengan obat antivirus secara *in vitro*?
2. Bagaimana sitotoksisitas yang ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol 96% *A. mangium* dengan obat antivirus?
3. Apa saja golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun *A. mangium*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian Umum

Menguji aktivitas antivirus hepatitis C kombinasi ekstrak etanol 96% *A. mangium* dengan obat antivirus secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus

1. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C yang ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol 96% *A. mangium* dengan obat antivirus secara *in vitro*?

2. Bagaimana sitotoksitas yang ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak etanol 96% *A. mangium* dengan obat antivirus?
3. Apa saja golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol daun *A. mangium*?

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah membuktikan secara ilmiah aktivitas antivirus hepatitis C dari kombinasi ekstrak daun *A. mangium* dengan obat antivirus, sehingga dapat menjadi dasar pengembangan tanaman *A. mangium* sebagai terapi komplementer untuk pengobatan hepatitis C.