

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hepatitis merupakan suatu penyakit yang berpengaruh pada kesehatan masyarakat di dunia. Indonesia juga termasuk negara yang terdampak pada penyakit hepatitis. Jenis hepatitis antara lain hepatitis A,B,C,D,E dan G. Namun, hepatitis C merupakan penyakit yang pengobatan daripada hepatitis yang lain masih belum mendapatkan penanganan maksimal serta pada hepatitis ini juga belum ada vaksin (Departemen kesehatan RI, 2014). Pasien meninggal akibat penyakit hepatitis C sebanyak 350.000 setiap tahun dan sekitar 80% dari kasus yang sudah akut akan mengalami perkembangan menjadi infeksi yang kronis serta 20% akan mengalami perkembangan menjadi sirosis. Infeksi virus hepatitis C kronis juga menjadi penyebab penyakit ekstrahepatik antara lain gangguan metabolisme pada glukosa serta lipid (Morozov *et al.*, 2018). Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2015 terdapat sebanyak 130-150 juta manusia di dunia terinfeksi penyakit hepatitis C kronis dan sebanyak 350-500 ribu manusia meninggal setiap tahun disebabkan virus hepatitis C yang mengakibatkan penyakit hati (WHO 2015). Data terbaru dari *World Health Organization* (WHO) tahun 2021 terdapat sebanyak 58 juta kasus di dunia terinfeksi penyakit hepatitis C kronis dengan peningkatan kasus 1,5 kasus per tahun (WHO 2021).

Virus hepatitis C termasuk famili Flaviviridae yang memiliki genom RNA untai tunggal dengan fungsi untuk memberikan kode terhadap poliprotein yakni suatu genom yang terdiri dari protein structural berjumlah 3 dan protein non structural berjumlah 6. Tugas dari protein structural yang berjumlah 3 (core, E1, E2) yaitu memiliki tanggung jawab untuk membantu dalam proses pengikatan berbagai reseptor molekul virus yang terdapat di permukaan sel. Tugas dari protein non structural yang berjumlah 6 (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A dan NS5B) yaitu memiliki tanggung jawab terhadap proses replikasi RNA serta konstruksi terhadap partikel virus. Siklus hidup yang ada pada virus hepatitis C terdiri dari 3 tahap yakni 1. Proses partikel virus masuk pada sel target; 2. Terjadi proses replikasi terhadap genom RNA pada virus; 3. Proses pembentukan dan pelepasan virion (Apriyanto *et al.*, 2015., Lange *et al.*, 2014., Wahyuni *et al.*, 2016). Aktivitas penghambatan virus hepatitis C secara garis besar yang terbagi menjadi dua tahapan dalam melakukan penghambatan antara lain menghambat saat

tahap entry dan menghambat saat tahap post-entry. Tahapan entry (sebelum virus masuk ke dalam sel host) terdiri dari tahapan virus melekat di reseptor pada sel hepatosit, tahap translasi virus dan tahap fusi. Tahapan post-entry (saat virus telah masuk) terdiri dari tahapan saat virus bereplikasi, terjadi pembentukan/perakitan virus, serta saat proses melepaskan virus yang baru (Zeisel et al., 2015).

Proses penularan virus dapat melalui inokulasi maupun transfusi darah. Kasus yang ditemukan terhadap virus hepatitis C sebanyak 60% melalui penggunaan obat intravena (IDU), 15% melalui hubungan seksual, serta 6% melalui proses vertical yakni ibu dengan positif hepatitis menularkan kepada anak. Proses pemakaian alat seperti alat tato maupun tindik telinga juga dapat menjadi salah satu penyebab penularan virus hepatitis C apabila alat-alat tersebut mendapatkan penanganan proses sterilisasi yang belum sempurna (WHO, 2002). Kesulitan dalam pembuatan vaksin terhadap virus hepatitis C disebabkan karena virus hepatitis C ini bersifat tidak stabil sehingga sangat cepat untuk berubah menjadi sejumlah varian tipe maupun sub tipe yang mampu dalam sehari mencapai 10 triliun *copy* (Depkes RI, 2013).

Tanaman obat dapat dijadikan sebagai sumber calon obat bagi infeksi terhadap virus hepatitis C (Wahyuni et al., 2016). Pada tanaman terdapat kandungan komponen aktif kimia antara lain terpenoid, polifenol, lignin, flavonoid, sulphide, saponin, coumarin, protein dan peptide serta alkaloid. Selain memiliki komponen aktif kimia, tanaman obat juga memiliki potensi untuk melakukan penghambatan terhadap siklus replikasi berbagai macam DNA maupun RNA virus (Javed et al., 2011). Berbagai pengobatan secara tradisional telah banyak dimanfaatkan sebagai terapi untuk pengobatan infeksi virus hepatitis C, dan beberapa dari pengobatan tersebut telah melalui berbagai macam uji termasuk uji klinis serta sebagian lain memiliki khasiat berdasarkan teoritis (Milliman et al., 2000). Beberapa tanaman yang dilaporkan terdapat aktivitas antivirus terhadap hepatitis C antara lain *Ruta angustifolia* L, *Phyllanthus niruri* L, dan *Curcuma domestica*.

Ruta angustifolia telah banyak dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional pada penyakit hati maupun penyakit kuning. Tanaman pada genus *Ruta* juga memiliki manfaat lain seperti sebagai antiinflamasi, antiseptik, penyembuhan luka, antihelminthik, obat-obatan penghilang rasa sakit, penyembuhan sistem saraf, muskuloskeletal maupun kulit dan saluran cerna. Tanaman ini memiliki kandungan senyawa berupa flavonoid, kumarin dan alkaloid (Pollio et al., 2008). Aktivitas penghambatan *R. angustifolia* sebagai antivirus hepatitis C yakni melakukan

penghambatan sebelum virus berhasil masuk ke dalam sel host (entry step), isolat dari tanaman *R. angustifolia* juga mampu melakukan penghambatan terhadap adanya replikasi dari RNA virus serta dapat melakukan proses penurunan terhadap sintesis protein pada virus saat *post-entry step* (Wahyuni *et al.*, 2014).

Tanaman yang berasal dari genus *Phyllanthus* memiliki kandungan senyawa seperti flavonoid, tannin, fenol, terpenoid, dan ricin yang bermanfaat sebagai *antiviral*, *nematicidal*, *antibacterial*, *antifungal*, *insecticidal*, *antileishmanial* dan *moluscicidal*. Pada golongan lignin dan tanin dilaporkan mampu memiliki aktivitas antiviral (Venkateswaran *et al.*, 1987; Xu *et al.*, 2000; Sagar *et al.*, 2004). *Phyllanthus niruri* L. yang termasuk genus *Phyllanthus* sudah dilaporkan terdapat bahan aktif yang berguna sebagai anti HIV dan anti HBV (Qian Cutrone *et al.*, 1996; Venkateswaran *et al.*, 1987). Pada penelitian lain juga dilaporkan bahwa melalui prosedur skrining fitokimia ditemukan bahwa ekstrak etanol herba *P. niruri* positif mengandung senyawa terpenoid, alkaloid, flavonoid, lignan. Penelitian tersebut juga dilakukan pengujian untuk uji aktifitas antiviral hepatitis C didapatkan hasil berupa IC_{50} sebesar $6,2 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$. Hasil MOA (Mode of Action) juga menjelaskan bahwa ekstrak etanol herba *P. niruri* memiliki keefektifan yang lebih saat bekerja pada fase *entry step*.

Curcuma domestica termasuk tanaman yang berasal dari familia Zingiberaceae. Berdasarkan laporan, tanaman dengan familia Zingiberaceae bermanfaat sebagai imunomodulator, antimikroba, anti inflamasi, anti oksidan, hepatoprotektif dan anti hiperlipidemia. (Mary *et al.*, 2012). Selain itu, senyawa curcumin telah dilaporkan mampu melakukan penghambatan terhadap proses masuk dari virus hepatitis C ke dalam sel hepatosit. (Kusuma *et al.*, 2013). Pada penelitian lain juga dilaporkan bahwa melalui prosedur skrining fitokimia ditemukan bahwa ekstrak etanol rimpang *Curcuma domestica* positif mengandung senyawa terpenoid dan flavonoid. Penelitian tersebut juga dilakukan pengujian untuk uji aktifitas antiviral hepatitis C didapatkan hasil berupa IC_{50} sebesar $4,59 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$. Hasil MOA (Mode of Action) juga menjelaskan bahwa ekstrak rimpang *C. domestica* mempunyai aktivitas untuk menghambat lebih baik saat berada pada fase penghambatan yakni *entry step*. Berdasarkan uji sitotoksitas yang dilakukan diketahui bahwa ekstrak rimpang *Curcuma domestica* tidak bersifat toksik (Laila, 2019).

Sekitar 70% untuk perawatan kesehatan di seluruh dunia menggantungkan obat-obatan herbal yang dijadikan baik sebagai perawatan utama maupun perawatan

tambahan (Kehendak,2000). Pada berbagai belahan dunia, herbal yang digunakan sebagai terapi tambahan biasanya dapat diolah sebagai produk tunggal, produk kombinasi herbal, maupun produk kombinasi herbal dan obat. Saat kombinasi herbal dibuat maka akan memunculkan interaksi yang diharapkan mampu meningkatkan efek terapeutik. Saat ini, terapi kombinasi dilakukan sebagai terapi pada pengobatan penyakit yang tergolong serius seperti AIDS, TBC, Kanker maupun hepatitis (Xie,2000).

Kombinasi herbal-herbal yang sudah dilakukan antara lain Kombinasi *Piper methysticum* dan *Valerian aofficinalis* hasilnya menunjukkan bahwa pengobatan kombinasi selama enam minggu terakhir secara signifikan meningkatkan kualitas tidur pasien dibandingkan dengan penggunaan ekstrak secara tunggal (Che,2013).

Dari sudut pandang farmakologi, Kombinasi anatara tanaman herbal dapat memberikan efek aditif (ketika efek gabungan dari dua herbal sama dengan jumlah efek dari masing-masing agen yang diberikan sendiri) atau efek sinergis (ketika efek gabungan melebihi jumlah dari efek herbal individu. Selain itu, juga dilaporkan terdapat dua studi klinis yang memberikan hasil bahwa penggunaan banyak ekstrak herbal (kombinasi) menunjukkan efek yang lebih baik jika dibandingkan dengan dalam bentuk tunggal pada dosis (atau konsentrasi) yang setara (Che,2013).

Berdasarkan berbagai penelitian tersebut, ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* potensial untuk dikombinasikan dengan herba *Phyllanthus niruri* L, dan rimpang *Curcuma domestica* karena diharapkan dari kombinasi tersebut mampu menghasilkan suatu efek yang sinergis sehingga terjadi peningkatan daya hambat virus dan dapat dijadikan sebagai terapi kombinasi antivirus hepatitis C.

Selain itu, salah satu pengobatan anti HCV yang saat ini digunakan yakni interferon (PEG-IFN) dan ribavirin (RBV) serta Simeprevir (SMV) (Yau dan Yoshida,2014). Namun diketahui bahwa kombinasi tersebut 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). Selain itu, juga didapatkan laporan bahwa kombinasi tersebut memberikan sebanyak 20-40% pasien diketahui mengalami kegagalan terapi dan *viral load* kembali muncul baik selama terapi ataupun saat terapi dihentikan sehingga dapat diketahui kombinasi tersebut memungkinkan terjadinya resistensi. Selain itu, terapi tersebut mahal yakni berkisar antara 4-6 juta rupiah sehingga biayanya berada di luar jangkauan

keuangan kebanyakan pasien (Vaidya,2013). Oleh karena itu perlu dikembangkan bahan alam yang efektif terhadap virus hepatitis C agar tingkat resistensinya rendah. (Shimon et al., 2020; Wahyuni et al., 2016).

Tujuan utama dari dilakukan kombinasi tersebut antara lain untuk mencapai efek terapeutik sinergis, pengurangan dosis dan toksisitas, dan untuk meminimalkan atau menunda induksi resistensi obat. Manfaat pengurangan toksisitas dan minimalisasi resistensi juga bisa menjadi hasil sinergisme (Chou,2006). Terapi kombinasi telah dilaporkan dapat meningkatkan efektivitas kerja obat (Chatterji et al., 2014).

Beberapa ekstrak tanaman yang dikombinasikan dengan obat antivirus hepatitis C telah dilaporkan dapat menghasilkan efek sinergis, antara lain obat antivirus hepatitis C interferon dengan konsentrasi 5 IU yang dikombinasikan dengan ekstrak tanaman *Glycyrrhiza glabra* konsentrasi 10 µg/mL yang mengandung glycyrrhizin dapat meningkatkan efek penghambatan interferon yang mulanya diberikan secara individu memiliki hambatan 55% dan ketika diberikan kombinasi dengan ekstrak memiliki hambatan 95% terhadap virus hepatitis C pada penyakit hepatitis C kronis. Selain itu, ekstrak dari tanaman *Acacia confusa* yang masing- masing dikombinasikan dengan interferon, telaprevir, dan 2'-C- methylcytidine juga menunjukkan adanya efek sinergis pada ketiga kombinasi tersebut, dengan nilai indeks kombinasi (CI) <1 pada ED₅₀, yaitu 0,68; 0,73; dan 0,45 berturut-turut untuk kombinasi ekstrak dengan interferon, ekstrak dengan telaprevir, dan ekstrak dengan 2'-C- methylcytidine (Breitinger, 2012; Ashfaq et al., 2011; Lee et al., 2011).

Tanaman *R.angustifolia*,*C.domestica* dan *P. niruri* telah dilakukan beberapa pengujian terkait uji kombinasi dengan obat. Ekstrak etanol *R.angustifolia* diketahui terjadi penurunan IC₅₀ pada obat simeprevir. Hasil IC₅₀ sebelum dan setelah dikombinasikan dengan ekstrak untuk simeprevir yakni 43,84 ± 0,96 nM (simeprevir tunggal) menjadi 19,70 ± 0,28 nM (dalam kombinasi dengan ekstrak). Ekstrak etanol *Phyllanthus niruri* L dengan obat simeprevir diperoleh hasil penurunan pada nilai IC₅₀ pada simeprevir dari bentuk tunggal sebesar 10,8 ± 1,3 nM menjadi 3,4 ± 1,1 nM saat dikombinasikan dengan ekstrak. Selain itu, pada kedua penelitian tersebut juga diuji terkait nilai CI (indeks kombinasi) yang bertujuan untuk mengetahui apakah kombinasi yang dilakukan menghasilkan efek sinergis (<1) atau antagonis (>1).

Oleh karena itu, akan dicoba untuk dilakukan kombinasi ekstrak *P.niruri* dan *R.angustifolia* serta ekstrak *C.domestica* dan *R.angustifolia* dengan obat simeprevir. Obat simeprevir dipilih karena termasuk obat generasi pertama yang telah terbukti

memiliki aktifitas anti HCV dengan menghambat NS3-4A protease. Oleh karena itu, Obat simeprevir dicoba untuk dikombinasikan dengan ekstrak yang telah diketahui aktif sebagai anti HCV yakni kunyit, meniran dan ruta. Diharapkan dibandingkan dengan ekstrak/obat tunggal tanpa kombinasi akan didapatkan kemampuan untuk menghasilkan suatu efek yang sinergis/aditif sehingga efek kombinasi tersebut akan mampu menghasilkan suatu proses penghambatan untuk virus hepatitis C yang lebih besar dibandingkan dengan efek obat/ekstrak yang digunakan secara tunggal/individu (Breitinger, 2012; Connell *et al.*, 2013).

Oleh karena itu, diperlukan suatu penelitian untuk melakukan pengembangan terapi pengobatan dengan kombinasi terhadap aktifitas obat HCV yakni *Ruta angustifolia* L yang dikombinasikan dengan *Phyllanthus niruri* L serta *Curcuma domestica* dan kombinasi tersebut akan dikombinasikan kembali dengan obat simeprevir agar dapat memberikan alternative pengobatan baru untuk infeksi HCV.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksisitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dengan ekstrak etanol herba *Phyllanthus niruri* L secara in vitro ?
2. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksisitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dengan ekstrak etanol Rimpang *Curcuma domestica* secara in vitro. ?
3. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksisitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dan ekstrak etanol herba *Phyllanthus niruri* L dengan obat simeprevir secara in vitro ?
4. Bagaimana aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksisitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dan ekstrak etanol Rimpang *Curcuma domestica* dengan obat simeprevir secara in vitro ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Penelitian Umum

Secara umum, penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui adanya pengaruh aktifitas dari kombinasi antara lain kombinasi ekstrak etanol herba *R.angustifolia* dengan ekstrak etanol herba *P.niruri*, kombinasi ekstrak etanol herba *R.angustifolia* dengan ekstrak etanol rimpang *C.domestica* dan kedua kombinasi

tersebut masing-masing akan dikombinasikan dengan obat simeprevir secara in vitro dalam menghambat virus hepatitis C.

1.3.2 Tujuan Penelitian Khusus

1. Mengetahui aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dengan ekstrak etanol herba *Phyllanthus niruri* L secara in vitro
2. Mengetahui aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dengan ekstrak etanol herba *Curcuma domestica* secara in vitro
3. Mengetahui aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dan ekstrak etanol herba *Phyllanthus niruri* L dengan obat simeprevir secara in vitro
4. Mengetahui aktivitas antivirus hepatitis C dan sitotoksitas dari kombinasi ekstrak etanol herba *Ruta angustifolia* L dan ekstrak etanol herba *Curcuma domestica*. dengan obat simeprevir secara in vitro

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dilakukan ini yaitu memberikan suatu informasi yang dapat dibuktikan secara ilmiah mengenai manfaat yang dihasilkan dari aktifitas kombinasi antara lain kombinasi ekstrak etanol herba *R. angustifolia* dengan ekstrak etanol herba *P. niruri*, kombinasi ekstrak etanol herba *R. angustifolia* dengan ekstrak etanol rimpang *C.domestica* dan kedua kombinasi tersebut akan dikombinasikan dengan obat simeprevir sehingga dapat dijadikan alternatif pengobatan HCV.