

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang Masalah**

Dalam beberapa dekade ini, dunia dikejutkan oleh mewabahnya virus Influenza tipe A. Berawal dari wabah virus Influenza subtipe H1N1 pada 1918 yang diperkirakan membunuh lebih dari 40 juta jiwa, dilanjutkan wabah baru, yaitu virus Influenza subtipe H2N2 pada 1957 yang diperkirakan telah merenggut 1 juta jiwa, kemudian pada 1968 ditemukan kembali mutan virus baru, subtipe H3N2, yang mewabah dan diperkirakan telah merenggut nyawa 1 juta jiwa (Radji, 2006; WHO, 2011). Lalu, varian virus baru mewabah. Virus H5N1 mulai mewabah pada tahun 1997. Kemudian, *strain* baru yang telah bermutasi dari H1N1 1918 mewabah pada tahun 2009 (WHO, 2012). Dua subtipe virus Influenza A tersebut, yaitu H5N1 dan H1N1, akhir-akhir ini sedang menyita perhatian dunia kesehatan.

Virus H5N1 pertama kali menjangkiti manusia pada tahun 1997, 6 dari 18 orang meninggal dunia. Virus H5N1 kembali mewabah pada peternakan unggas di berbagai negara, antara lain Hongkong (1997), Cina (2003-2004), dan Jepang (2004) menyebabkan jutaan unggas mati (WHO, 2012). Di Indonesia pada tahun 2004, virus H5N1 dilaporkan telah mewabah pada peternakan di 11 provinsi di Indonesia (WHO, 2012). Setahun setelahnya, dilaporkan virus H5N1 telah menjangkiti manusia, sebanyak 13 dari 20 kasus berujung pada kematian. Hingga tahun 2013, kasus infeksi H5N1 pada manusia di Indonesia mencapai total 192, dengan 160 di antaranya meninggal, yang merupakan jumlah kasus tertinggi dibandingkan negara-negara lainnya (WHO, 2014). Bahkan hingga saat ini, virus ini masih menjangkiti manusia. Dari laporan WHO dari awal tahun 2015 hingga

tanggal 6 Januari 2015, tercatat 16 orang di Mesir terjangkit virus ini, dengan 2 diantaranya meninggal dunia (WHO, 2015).

Pada tahun 2009, virus Influenza H1N1 baru ditemukan pertama kali di Meksiko. Kemudian virus ini menyebar dengan sangat cepat, hingga Juni 2009, terjadi 27.737 kasus infeksi H1N1 di 74 negara dengan 141 kematian, membuat WHO menaikkan status Pandemi fase 6 (WHO, 2009). Virus ini merupakan virus yang mengandung kombinasi unik pada beberapa segmen gennya yang sebelumnya tidak pernah dilaporkan berada pada babi dan manusia (CDC, 2009). Virus baru yang kemudian diberi nama virus H1N1 Pandemi-2009 ini resisten terhadap Amantadin dan Rimantadin (Surinder *et al* 2011).

Virus H5N1 dan virus H1N1 Pandemi -2009 ini merupakan virus Influenza A. Virus Influenza A memiliki dua protein permukaan yaitu Hemagglutinin (HA) dan Neuraminidase (NA). Virus ini terus mengalami mutasi genetik yang mengkode perubahan protein HA dan NA, melalui mekanisme *antigenic drift* dan *antigenic shift*, menyebabkan antibodi yang diproduksi untuk melawan infeksi pada *strain* sebelumnya tidak lagi dapat melawan infeksi virus *strain* yang baru. Bila virus influenza A baru ini menyebabkan penyakit dan ditransmisikan pada manusia, maka Pandemi dapat terjadi (Blanton *et al.*, 2011). Virus Influenza adalah satu dari sedikit virus yang diketahui memiliki genom bersegmen. Gen bersegmen ini memberi kemungkinan lebih besar pada virus untuk cepat bermutasi dan membentuk *strain* baru (Emeluth, 2003).

Saat ini, pengembangan obat-obat antivirus merupakan strategi yang bagus untuk mengontrol dan mencegah infeksi virus influenza musiman maupun Pandemi. Obat-obat antivirus dapat mengatasi keterbatasan dari vaksin, yaitu pembuatan vaksin yang memakan waktu, keterbatasan

penggunaan vaksin pada pasien dengan *immunocompromised*, dan perubahan antigen virus yang membuat vaksin tidak lagi efektif (Eyer *et al.*, 2013).

Terdapat dua kelas obat untuk Influenza tipe A, obat yang berfungsi menghambat saluran ion protein M2 yaitu Amantadin dan Rimantadin, dan obat yang menghambat neuraminidase yaitu Oseltamivir dan Zanamivir (WHO, 2011). Namun, ditemukan hampir semua virus H1N1 Pandemi-2009 resisten Amantadin dan Rimantadin (Blanton *et al.*, 2011). Saat ini obat golongan Adamantan sudah tidak direkomendasikan untuk pengobatan infeksi virus Influenza A (CDC, 2014). Virus ini juga menunjukkan peningkatan resistensi terhadap oseltamivir (Neumann *et al.*, 2009). Selain itu, resistensi terhadap Oseltamivir juga ditemukan pada kasus infeksi H5N1 (Jong *et al.*, 2005 dan Hayden, 2006). Dari kasus resistensi dan bervariasinya antigen virus Influenza, diperlukan suatu strategi yang inovatif untuk pengembangan obat-obat antivirus baru yang lebih efektif, berspektrum luas, dengan tingkat keamanan yang lebih tinggi dan dapat ditoleransi pasien dengan baik (Eyer *et al.*, 2013).

Tanaman merupakan salah satu sumber obat yang telah digunakan turun-temurun dalam pengobatan tradisional seperti Ayurveda, pengobatan tradisional Cina (TCM), dan Chakma. Tanaman memiliki berbagai senyawa kimia dengan struktur yang sangat beragam dan bioaktivitas yang luas (*broad spectrum*), dapat menjadi sumber antivirus baru. Ditemukan bahwa produk-produk dari bahan alam seperti ekstrak tanaman, turunan dari senyawa dalam tanaman merupakan sumber yang potensial sebagai obat antivirus baru yang telah dibuktikan dengan berbagai pendekatan baik *in vitro* maupun *in vivo* (Chattopadhyay *et al.*, 2009).

Suatu kompleks polifenol yang diisolasi dari tanaman *Geranium sanguineum* L. Menunjukkan aktivitas antiinfluenza yang selektif dalam

percobaan *in vitro*. Kompleks polifenol yang terdiri dari senyawa flavonoid, katekin gallotannin dan asam polifenolat diketahui menghambat reproduksi virus Influenza A dan B. (Pantev *et al.*, 2006). Telah diteliti juga bahwa beberapa senyawa turunan alkaloid dan flavonoid dari tanaman, memiliki potensi penghambatan aktivitas protein-permukaan Neuraminidase (NA) pada virus Influenza tipe A subtipe H1N1 Pandemi-2009 dan H3N2. Dengan begitu replikasi virus dapat dihambat (Rakers *et al.*, 2014). Penelitian-penelitian tersebut membuktikan bahwa senyawa dari tanaman merupakan sumber yang bagus untuk pengembangan antivirus baru.

Sebagai negara yang terletak di kawasan beriklim tropis, Indonesia memiliki sumber daya alam hayati yang melimpah. Tanaman yang tumbuh subur di Indonesia digunakan untuk keperluan ekonomis termasuk sebagai bahan baku obat. Jumlah tanaman obat yang berhasil diidentifikasi di Indonesia sekitar 1.845 spesies (Abdullah *et al.*, 2010). Beberapa tanaman obat telah diteliti memiliki berbagai aktivitas antivirus, salah satunya yaitu pare (*Momordica charantia* L.).

Protein pada ekstrak biji pare menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap beberapa subtipe virus Influenza A. Protein dari biji pare ini dapat menghambat proliferasi virus H1N1, H3N2 dan H5N1. Protein biji pare ini memberikan penghambatan replikasi virus, baik diberikan saat sebelum inkubasi virus sebesar 56,5%, saat inkubasi virus sebesar 65,75% dan setelah inkubasi virus sebesar 100% (Pongtanapisith *et al.*, 2013). Selain metabolit primer, biji pare juga mengandung metabolit sekunder yang aktif secara biologis, antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin, fenol, dan tannin (Grover *et al.*, 2003). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Pantev dan tim penelitiannya pada tahun 2006 serta Rakers dan tim penelitiannya pada tahun 2014 diketahui bahwa senyawa flavonoid, alkaloid dan polifenol lainnya

dalam tanaman memiliki aktivitas antivirus. (Pantev *et al.*, 2006; Rakers *et al.*, 2014) Dengan adanya senyawa turunan flavonoid dan alkaloid dalam metabolit sekunder ekstrak biji pare diharapkan juga dapat menghambat proliferasi virus Influenza tipe A.

Dalam penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antivirus ekstrak biji pare yang diduga aktif terhadap virus H5N1 dan virus H1N1 Pandemi-2009, sebagai usaha dalam pencarian sumber baru antivirus Influenza tipe A yang kini telah mengalami resistensi terhadap obat-obat antivirus yang ada di pasaran. Untuk menguji aktivitas antivirus ini dapat digunakan metode telur ayam berembrio (TAB) sebagai metode yang disarankan dalam manual WHO tahun 2011 untuk isolasi virus. Selain digunakan dalam pembuatan vaksin, TAB juga merupakan media yang baik untuk pengujian aktivitas obat-obat antivirus, seperti yang dilakukan oleh Priyanka Jadhav yang menguji potensi dari ekstrak metanol *Ocimum sanctum* pada virus Influenza H1N1 (Jadhav *et al.*, 2014) dan Wang dan tim penelitiannya yang menguji aktivitas antivirus ribavirin dengan menggunakan TAB (Wang *et al.*, 2008). Sebelum dilakukan uji aktivitas ekstrak metanol biji pare, terlebih dahulu dilakukan uji toksisitas ekstrak terhadap TAB. Uji toksisitas ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa uji tidak berbahaya bagi TAB atau mempengaruhi metode titrasi virus (Thanawongnuwech *et al.*, 2008). Kemudian, untuk analisis hambatan bahan uji terhadap virus dapat digunakan beberapa metode, salah satunya adalah Uji Hemaglutinin (HA). HA merupakan protein permukaan virus yang dapat berikatan dengan sel darah merah dan menyebabkan aglutinasi (WHO,2011). Bila zat uji menghambat replikasi virus dan titer virus, maka titer HA akan menurun. (Chattopadhyay *et al.*, 2009).

Selain itu, digunakan juga metode *bioassay* penghambatan Neuraminidase ekstrak biji pare dengan metode Potier *et al.*, 1979 yang telah dimodifikasi (Ikram *et al.*, 2015). Aktivitas penghambatan Neuraminidase ini penting sebagai antivirus karena saat ini Neuraminidase (NA) merupakan target kunci obat baik untuk profilaksis maupun penyembuhan. Sisi aktif Neuraminidase cenderung tidak berubah dan sangat dekat strukturnya antara virus Influenza A dan B (Grienke *et al.*, 2012) Neuraminidase (NA) menjadi kunci target karena beberapa alasan antara lain: (1) struktur NA dan sisi aktifnya unik dan mirip antara virus influenza A dan B, sehingga NA merupakan struktur yang menarik sebagai target pengembangan obat antivirus dengan spektrum luas, (2) resistensi obat-obat penghambat NA lebih rendah dibanding obat lainnya dan (3) sangat berbeda dengan obat penghambat protein M2, penghambat NA ditoleransi dengan baik oleh pasien (Eyer *et al.*, 2012).

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) toksik terhadap Telur Ayam Berembrio (TAB)?
2. Apakah ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) memiliki aktivitas antivirus terhadap virus H5N1?
3. Apakah ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) memiliki aktivitas antivirus terhadap virus H1N1 Pandemi-2009?

## 1.3. Tujuan Penelitian

1. Menentukan toksisitas ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Telur Ayam Berembrio (TAB)

2. Menentukan aktivitas antivirus ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) terhadap virus H5N1
3. Menentukan aktivitas antivirus ekstrak metanol biji pare (*Momordica charantia* L.) terhadap virus H1N1 Pandemi-2009

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

1. Memanfaatkan sumber kekayaan alam, yaitu biji pare (*Momordica charantia* L.) sebagai sumber baru antivirus terhadap virus H5N1 dan virus H1N1 Pandemi-2009
2. Merupakan tahap awal untuk pengembangan lebih lanjut mengenai antivirus H5N1 dan H1N1 Pandemi-2009 dari ekstrak biji pare (*Momordica charantia* L.)