

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Infeksi *Human Papillomavirus* (HPV) pada anogenital adalah infeksi menular seksual (IMS) yang paling sering menimbulkan lesi pada genital bersifat jinak ataupun ganas. Berdasarkan data *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), prevalensi tiga penyakit IMS terbanyak pada tahun 2018 yaitu infeksi HPV (42,5 juta jiwa), infeksi HSV tipe 2 (18,6 juta) dan infeksi trikomoniasis (2,6 juta).<sup>1</sup> Prevalensi HPV di dunia, dilaporkan semakin meningkat berkisar antara 160-289 per 100.000 orang tiap tahun.<sup>2</sup> Studi prevalensi HPV di tiga daerah di Indonesia (Jakarta, Tasikmalaya, Bali) melibatkan 2686 perempuan. Data menunjukkan bahwa 305 orang atau 11,4% dari total sampel terinfeksi HPV, dengan tingkat prevalensi masing-masing 13,9% di Jakarta, 8,8% di Tasikmalaya, dan 11,5% di Bali. Tiga tipe HPV *high risk* yang paling umum adalah tipe 18, 16, dan 52 dengan prevalensi bervariasi di setiap daerah.<sup>3</sup>

Kondiloma akuminata anogenital (KAA) merupakan manifestasi klinis paling sering dilaporkan pada infeksi HPV genital. Berdasarkan penelitian retrospektif yang dilakukan di Kanada tahun 2017 menunjukkan bahwa insidensi KAA 201 pasien per 100.000 penduduk (0,15 %).<sup>4</sup> Insiden KAA di Indonesia tahun 2005 dilaporkan sebesar 5% hingga 19% dari total Infeksi Menular Seksual. Berdasarkan insiden KAA di Poliklinik Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Umum Pusat (RSUP) Sanglah Denpasar, terdapat 156 kasus kunjungan kondiloma akuminata selama periode Januari 2019 hingga Maret 2020. Hasil penelitian tersebut didapatkan 52 kasus baru KAA, dengan 42 kasus ditemukan pada laki-laki dan 10 kasus pada perempuan.<sup>5</sup> Kasus baru KAA di poliklinik Kulit dan Kelamin Divisi IMS Rumah Sakit Dr. M Djamil Padang dilaporkan tahun 2021 (36) , tahun 2022 (37) tahun 2023 (59) (non publikasi).

Infeksi HPV pada KAA dibagi berdasarkan HPV risiko rendah yaitu tipe 6, 11, 42, 43, 44 dan yang berhubungan dengan kutil genital (tipe 6 dan 11 sebanyak 90% pada kasus KAA). Tipe yang dikaitkan risiko tinggi dengan keganasan seperti kanker anogenital dan serviks adalah HPV tipe 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51 dan

52. Genom HPV terdiri atas gen *early* (E) dan *late* (L). Gen E mensintesis 6 protein E yaitu E1, E2, E4, E5, E6 dan E7, yang banyak terkait dalam proses diferensiasi dan proliferasi virus serta onkogen. Gen L mensintesis 2 protein L yaitu L1 dan L2 terkait proses replikasi virus dalam membentuk kapsid virus sebagai tahap akhir replikasi yang menandakan infeksi aktif dari HPV.<sup>6</sup>

Terdapat beberapa modalitas pengobatan KAA, tetapi belum ada pengobatan yang dapat menghilangkan HPV secara total. Menurut pedoman pengobatan KAA di Eropa tahun 2019, terdapat rekomendasi untuk pengobatan KAA yang dapat dilakukan oleh pasien melalui perawatan topikal, seperti imunoterapi imiquimod, podofilin dan cidofovir. Pengobatan KAA yang dikerjakan oleh dokter yaitu eksisi, krioterapi, elektrokauter dan laser CO2 ablatif dan laser Nd YANG.<sup>7,8</sup>

Pada pengobatan topikal masih dilaporkan efek samping berkaitan dengan reaksi kulit lokal seperti gatal, rasa terbakar, erosi dan nyeri. Terapi ablatif atau bedah eksisi dilaporkan paling sering menimbulkan efek samping berupa rasa nyeri pada tempat aplikasi, iritasi jaringan sekitar lesi, ulserasi, perdarahan, infeksi bakteri dan pembentukan skar.<sup>7</sup> Tingkat rekurensi pada pengobatan topikal sebesar 20-30%, dan tindakan ablatif sebesar 6-10%, namun angka rekurensi meningkat seiring bertambahnya usia.<sup>7</sup> Komplikasi KAA antara lain perubahan sel yang bersifat kanker pada beberapa tipe HPV terkait keganasan. Pada ibu hamil komplikasi berupa persalinan *premature*, perdarahan, infeksi, kontraksi dini dan penularan ke bayi saat persalinan.<sup>8</sup> Berdasarkan tingkat rekurensi dan angka kejadian yang masih tinggi serta belum adanya pengobatan monoterapi pada KAA, memicu peneliti untuk meneliti mengenai alternatif terapi KAA yang efektif.<sup>8</sup>

*World Health organization* (WHO) telah merekomendasikan penggunaan obat herbal karena ketersediaannya mudah didapatkan dan harga terjangkau.<sup>9</sup> Tanaman kunyit merupakan salah satu kelompok rimpang yang mendapat persetujuan dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (Kemenkes RI) sebagai bahan obat tradisional. Kemenkes RI juga telah mengeluarkan surat edaran Nomor: HK.02.02/IV.2243/2020 yang fokus membahas pemanfaatan obat tradisional rimpang yang dikenal sebagai obat tradisional yang bermanfaat untuk pemeliharaan kesehatan, pencegahan penyakit, dan perawatan kesehatan selama

pandemi *Covid-19* sebagai upaya pencegahan terhadap virus *Covid-19*.<sup>10</sup>

Beberapa varietas tanaman telah digunakan di Indonesia untuk mengobati KAA seperti teh hijau (*Camellia sinensis l.*),<sup>11</sup> daun sirih (*Piper betel L.*),<sup>12</sup> kunyit (*Curcuma longa*),<sup>13</sup> bawang putih (*Allium sativum*)<sup>14</sup> dan dandang gendis (*Clinacanthus nutan lindau*) telah diteliti memiliki potensi sebagai antiviral dan antiproliferasi.<sup>15</sup> Beberapa penelitian menunjukkan belum ada bahan alam yang lebih unggul dalam pengobatan KAA. Oleh karena itu, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dan pengembangan bahan alam terhadap infeksi HPV pada KAA.

Berdasarkan aktivitas sebagai antiviral, teh hijau (*Camellia sinensis l.*), bawang putih (*Allium sativum*) dan dandang gendis (*Clinacanthus nutan lindau*) telah diuji secara klinis memberikan hasil yang baik terhadap pembersihan lesi pada pasien KAA. Pada penggunaan teh hijau sediaan salep 15% dan krim 10% pada pasien KAA menunjukkan pembersihan lesi 61% dengan angka kekambuhan 10,6%. Namun masih dilaporkan efek samping berupa reaksi kulit lokal (gatal, eritema), perubahan warna kulit, nyeri, dermatitis alergi, tidak bisa digunakan pada kutil internal dan wanita hamil.<sup>16</sup> Pada penelitian Mousavi BZ, dkk. (Iran, 2018), membandingkan efek terapi pada penggunaan ekstrak bawang putih 10% dengan krioterapi, menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antara dua kelompok ( $P > 0,05$ ). Tidak ada laporan efek samping pada penggunaan ekstrak bawang putih setelah 2 bulan terapi.<sup>14</sup>

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Jiamton S, dkk. (Thailand, 2022), melaporkan efikasi dan keamanan penggunaan krim dandang gendis (*clinacanthus nutan lindau*) dan podofilin pada pasien KAA. Hasil penelitian menunjukkan efikasi pengobatan *clinacanthus nutan lindau* lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan podofilin.<sup>15</sup> Selain itu, berdasarkan potensi sebagai anti proliferasi, hanya ada satu laporan kasus yang dilaporkan terhadap penggunaan ekstrak daun sirih (*Piper betel L.*) 60% pada pasien KAA yang dioleskan 3 kali sehari menunjukkan perbaikan lesi sembuh total setelah pemakaian 4 minggu.<sup>12</sup> Beberapa bahan alam yang telah dilaporkan, masih memiliki efek terbatas terhadap HPV.

Rimpang kunyit (*Curcuma longa*) adalah tanaman tropis dan sub tropis, yang juga merupakan tanaman asli Asia Tenggara. Tanaman rimpang kunyit, telah banyak digunakan sebagai rempah, bahan industri, kosmetik dan bahan pewarna

alami makanan di India dan Asia Tenggara. Produksi kunyit terbanyak di Indonesia yaitu di daerah Jawa Timur dengan penghasil kunyit tertinggi yaitu 33.326,05 ton pada tahun 2016, dan Sumatera Barat menghasilkan 2.600,94-ton kunyit.<sup>17</sup>

Kunyit dan temulawak secara ilmiah sudah diteliti baik secara *in vitro* maupun *in vivo* pada tahap pra klinik serta riset klinik dan terbukti memiliki manfaat terhadap kesehatan. Penggunaan kurkumin sebagai senyawa tunggal tentu berbeda dengan penelitian penggunaan kunyit atau temulawak sebagai bahan herbal atau jamu.<sup>18</sup> Molekul bioaktif yang dapat ditemukan pada kunyit adalah kurkumin, *demethoxykurkumin* dan *bisdemethoxykurkumin*. Kurkumin [(1E,6E) -1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl) hepta-1, 6-diene- 3,5 dione] merupakan pigmen kuning utama yang dihasilkan dari ekstrak kunyit, yang diambil dari rhizoma tanaman kunyit (*Curcuma longa*). Kandungan kurkumin juga terdapat pada beberapa tanaman herbal seperti pada kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Kandungan kurkumin pada kunyit (*Curcuma longa*) adalah 3-8%, paling tinggi dibandingkan dengan kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) 0,1%, dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) 1,2%.<sup>19</sup> Hal serupa juga dilaporkan oleh Safrida, dkk. (Indonesia, 2023), bahwa kadar kurkumin lebih tinggi didapatkan pada kunyit (*Curcuma longa*) 80,91088 mg/g dan ekstrak temulawak 48,81070 mg/g.<sup>20</sup>

Kurkumin memiliki keunggulan dibandingkan dengan tanaman herbal lainnya, yaitu mempengaruhi berbagai jalur seluler dan dapat memiliki banyak fungsi. Kurkumin selain berpotensi sebagai antiviral dan antiproliferasi, juga sebagai antifungal, antibakterial, antioksidan, imunomodulator, antiinflamasi dan anti kanker karena dapat menginduksi apoptosis. Kurkumin dikenal sebagai obat tradisional yang aman, mudah didapatkan, dan cukup terjangkau dari segi biaya.<sup>21</sup> Kelemahan kurkumin yaitu bioavailabilitas oral dan kelarutan yang rendah serta mudahnya terdegradasi sehingga mempersulit dalam aplikasi klinis secara oral.

Kurkumin menunjukkan aksesibilitas dan bioaktivitas yang baik ketika diberikan secara topikal, terutama ketika dimasukkan dalam formulasi baru seperti spons kitosan-alginat, perban polimer, busa alginat, film kolagen, nano-emulsi, hidrogel, dan kompleks nanopartikel  $\beta$ -siklodekstrin-kurkumin.<sup>22</sup> Kurkumin diakui sebagai senyawa yang aman oleh Food and Drug Administration (FDA). Sejumlah

penelitian praklinis dan klinis menilai keamanan senyawa ini baik secara topikal dan oral. Dosis yang aman dikonsumsi antara 4.000 dan 8.000 mg/hari.<sup>23</sup> Namun efek samping dan rekurensi pada infeksi HPV, terutama pada KAA belum pernah diteliti. Oleh karena itu, kami peneliti tertarik untuk menilai pengaruh kurkumin secara spesifik terhadap ekspresi onkoprotein HPV, sehingga kedepan bisa dilanjutkan uji klinis terhadap KAA.

Kurkumin pertama kali diperkenalkan sebagai antivirus pada tahun 1990. Beberapa tahun kedepan, penelitian kurkumin terhadap virus semakin berkembang. Praditya (2019) dan Mulatsari (2020), melaporkan bahwa kurkumin berpotensi sebagai antivirus terhadap beragam jenis virus, termasuk virus RNA dan DNA yang berselubung ataupun tidak berselubung.<sup>24,25</sup> Pada penelitian metaanalisis yang dilakukan oleh Thimmulappa RK, dkk. (India, 2021), menunjukkan kurkumin mampu menjadi kandidat profilaksis dan terapeutik yang menjanjikan untuk sebagai antivirus. Pertama, kurkumin mempunyai aktivitas antivirus melawan banyak jenis virus melalui berbagai mekanisme seperti interaksi langsung dengan protein membran virus, mengganggu selubung virus, menghambat protease virus; menginduksi respon *host* antivirus.<sup>26</sup>

Berdasarkan penelitian sebelumnya, kurkumin telah diteliti pada tingkat sel, gen dan pada manusia.<sup>21</sup> Namun perlu adanya perbandingan terkait efek kurkumin tanpa ada penambahan herbal lainnya. Pada penelitian sebelumnya, Partha dan Dutta melaporkan pada kelompok uji yaitu 287 perempuan dengan HPV positif diberi perlakuan kelompok dengan vaginal *basant cream* (ekstrak kurkumin, reetha, amla dan aloe vera), dan kelompok plasebo yang diaplikasikan setiap hari selama 30 hari. Penelitian tersebut melaporkan *clearance rate* terhadap HPV sebesar 87,7% pada kelompok vaginal *basant cream*.<sup>27</sup>

Berdasarkan aktivitas sebagai antiviral, Maher, dkk. (Jerman, 2011), melakukan penelitian pada tingkat gen HPV yaitu penggunaan ekstrak kurkumin terhadap transkripsi onkogen HPV 16 E6/E7. Hasil penelitian menunjukkan penurunan onkogen HPV E6/E7 setelah 6 jam pemberian ekstrak kurkumin. Namun perlu adanya penelitian lebih lanjut terhadap replikasi dan ekspresi gen L1 HPV yang dapat menginisiasi infeksi aktif yang tidak diukur pada penelitian ini.<sup>28</sup>

Terdapat beberapa jenis sel yang dikenal terinfeksi *Human papillomavirus* (HPV) antara lain SiHa (HPV 16+), CaSki (HPV 16+), dan HeLa (HPV 18+). Pada penelitian ini, sel HeLa, merupakan sel kanker epitel leher rahim yang terinfeksi HPV 18 dan menghasilkan protein E6 dan E7, menjadi fokus utama.<sup>29</sup> Menurut laporan Xia0, dkk. (China, 2015), sel HeLa memiliki kemampuan untuk menghasilkan protein HPV L1. Pemilihan sel HeLa dilakukan karena infeksi HPV 18 memiliki risiko tinggi dan belum ada ketersediaan sel yang mengekspresikan onkogen HPV 6 dan 11. Sel tersebut banyak digunakan dalam penelitian karena aman dan keunggulannya sebagai sel yang tidak akan mati serta tingkat pertumbuhannya yang tinggi.<sup>26</sup> Gen L1 juga berperan terhadap ikatan virus yang mempengaruhi struktur atau penyesuaian protein dan akhirnya mengarah pada perubahan fungsi biologis termasuk pengenalan imunologis oleh host sebagai pencetus infeksi dan penularan yang aktif. Tahap replikasi juga saling terkait dengan genom L1 yang akan mempengaruhi efektivitas dari pengobatan KAA.<sup>6</sup> Hal tersebut menjadi dasar bagi penulis untuk melanjutkan penelitian mengenai replikasi dan ekspresi gen L1 HPV pada sel HeLa.

Penelitian tingkat sel juga telah dilakukan untuk menilai pengaruh kurkumin pada sel HeLa sebagai antikarsinogenik dan antiproliferasi. Pada penelitian Hutomo, dkk (Yogyakarta, 2016), melakukan penelitian terhadap perubahan morfologi sel HeLa setelah paparan ekstrak etanolik *Curcuma longa*. Hasil penelitian didapatkan persentase sel yang mengalami perubahan morfologi pada konsentrasi 50 µg/ml (22,99 %), konsentrasi 100 µg/ml (31,71%) dan 150 µg/ml (42,12%). Perubahan morfologi yang terlihat yaitu ukuran sel semakin mengecil, hilangnya prosesus sitoplasmik sehingga sel berbentuk bulat, serta hilang kontak dengan sel lain yang merupakan ciri apoptosis pada sebagian besar sel HeLa. Berdasarkan hal tersebut, *Curcuma longa* pada konsentrasi 150 µg/ml, mampu menginduksi perubahan morfologi sel HeLa yaitu *cell shrinkage*.<sup>30</sup>

Mirani E, dkk. (Semarang, 2011), melakukan penelitian untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak rimpang kunyit terhadap viabilitas sel HeLa sebagai antikarsinogenik. Pada Penelitian ini menunjukkan efek sitotoksik ekstrak rimpang kunyit pada sel HeLa pada konsentrasi 1 µg/ml (49,12%), 2,5 µg/ml (55,79%), 5 µg/ml (60,75%), 10 µg/ml (72,45%), 25 µg/ml (44,72%), 50 µg/ml (52,78%), 100

$\mu\text{g/ml}$  (71,96%), 250  $\mu\text{g/ml}$  (74,72%), 500  $\mu\text{g/ml}$  (72,23%) dan 1.000  $\mu\text{g/ml}$  (72,20%). Hasil penelitian ini menunjukkan efek sitotoksik ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terbesar pada sel HeLa adalah konsentrasi 250  $\mu\text{g/ml}$  dengan nilai LC50 sebesar 0,657  $\mu\text{g/ml}$ .<sup>31</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Maher, dkk. (Dakota Utara, 2011), mengenai pengaruh kurkumin terhadap onkogen E6 dan E7, p53, Rb dan protein PTPN13 terhadap sel HeLa, sel Caski, SiHa. Hasil penelitian didapatkan pada ketiga sel tersebut terdapat penurunan onkoprotein E6 dan E7 HPV dibandingkan DMSO. Pada DMSO dengan level onkogen HPV E6 dan E7 adalah 1,0, sedangkan pada pemberian kurkumin konsentrasi 10  $\mu\text{M}$  menurunkan level onkoprotein HPV E6 dan E7 sebesar (0,6/0,4), 20  $\mu\text{M}$  (0,3/0,2) dan 40  $\mu\text{M}$  (0,1/0,1). Kurkumin juga menunjukkan kemampuan mengubah jalur molekuler terkait HPV, penurunan diferensiasi dan proliferasi HPV dengan menghambat transkripsi HPV E6/E7. Namun perlu adanya penelitian lebih lanjut terhadap replikasi dan ekspresi gen L1 HPV yang dapat menginisiasi infeksi aktif yang tidak diukur pada penelitian ini.<sup>28</sup> Berdasarkan penelitian tersebut maka diperlukan studi lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh kurkumin terhadap ekspresi onkogen L1 HPV.<sup>21</sup>

Sadeghi RV, dkk. (Iran, 2021). melakukan penelitian perbandingan kurkumin dan nano kurkumin terhadap efek ekspresi onkogen E6 dan E7 HPV, P53 dan pRb pada sel HeLa dan sel fibroblast. Hasil penelitian menunjukkan nano kurkumin dalam konsentrasi 15  $\mu\text{M}$  mampu menurunkan ekspresi onkogen E6 dan E7, dan meningkatkan penekanan tumor P53 dan Rb pada sel kanker HeLa dengan nilai  $p = 0,001 - 0,0001$ . Kurkumin menurunkan ekspresi onkogen E6 dan E7 pada konsentrasi 50  $\mu\text{M}$  dengan nilai  $p = 0,05 - 0,01$ . Nanokurkumin tidak berpengaruh signifikan terhadap kelangsungan hidup fibroblas normal sel.<sup>32</sup>

Berdasarkan data-data dan penjelasan diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian kurkumin (*Curcuma longa*) terhadap replikasi dan ekspresi gen L1 HPV pada sel HeLa dengan konsentrasi 40  $\mu\text{M}$ . Perbedaan penelitian ini dengan penelitian Maher, dkk ialah ekspresi gen HPV yang dinilai. Gen HPV yang dinilai yaitu replikasi dan ekspresi L1 HPV yang didapatkan dari Laboratorium Biomedik Universitas Andalas.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh pemberian kurkumin (*Curcuma longa*) terhadap replikasi dan ekspresi gen L1 HPV pada sel HeLa?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Mengetahui pengaruh pemberian kurkumin (*Curcuma longa*) terhadap replikasi dan ekspresi gen L1 HPV pada sel HeLa.

### **1.3.2 Tujuan Khusus**

- 1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian kurkumin (*Curcuma longa*) dengan konsentrasi 40  $\mu$ M terhadap replikasi HPV pada sel HeLa
- 1.3.2.2 Mengetahui pengaruh pemberian kurkumin (*Curcuma longa*) dengan konsentrasi 40  $\mu$ M terhadap ekspresi gen L1 HPV pada sel HeLa.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Penelitian di Bidang Ilmu Pengetahuan**

Penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar dari penelitian lanjutan yang menilai pengaruh pemberian *Curcuma longa* pada infeksi HPV secara uji klinis

### **1.4.2 Manfaat untuk praktisi kesehatan**

Apabila terbukti, penelitian ini dapat memberikan informasi bahwa *Curcuma longa* memiliki potensi sebagai salah satu modalitas terapi infeksi HPV pada KAA, namun hal ini masih membutuhkan penelitian lanjutan.

### **1.4.3 Manfaat untuk masyarakat**

Apabila terbukti, dapat memberikan informasi bahwa kurkumin pada *Curcuma longa* dapat dibudidayakan sebagai bahan baku untuk pengobatan infeksi HPV pada KAA.