

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

M. crenata C Presl merupakan salah satu tanaman paku dari famili Marsileaceae yang hidup di air. Tanaman ini mudah ditemui sehingga secara tradisional banyak dimanfaatkan sebagai sayuran dalam masakan pecel khas Surabaya (Nurjanah *et al.*, 2012). Pemanfaatan tanaman *M. crenata* C. Presl secara empiris adalah digunakan sebagai peluruh air seni dan antiosteoporosis (Laswati, 2011).

Beberapa penelitian terhadap tanaman *M. crenata* C. Presl telah dilakukan, baik untuk mengetahui senyawa kandungan maupun aktivitasnya. Laswati (2011) berdasarkan penelitiannya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun *M. crenata* C. Presl yang dikombinasi dengan latihan fisik pada hewan coba mencit betina dan wanita pascamenopause mampu mencegah terjadinya osteoporosis dan meningkatkan kadar estrogen sehingga mampu mencegah adanya ketidakseimbangan *remodelling* tulang. Hasil uji aktivitas melalui uji *in vivo*, *in vitro* dan *in silico* terhadap ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl menunjukkan bahwa terdapat senyawa yang memiliki afinitas agonis yang tinggi terhadap reseptor estrogen beta (ER- β). Senyawa tersebut diduga adalah *prochlorperazine*, *1-methyl-2-[(4-methylpiperazin-1-yl)methyl]benzimidazol-5-amine* dan *12-aminodecanoic acid* yang diketahui melalui uji *in silico* senyawa dalam ekstrak (Ma'arif *et al.*, 2019; Mirza, 2019; Shirvi, 2018;).

Secara *in vitro* pada sel MC3T3-E1, fraksi n-heksan daun *M. crenata* C. Presl mampu menginduksi proliferasi sel osteoblas melalui peningkatan aktivitas *Alkaline Phosphatase* dengan adanya senyawa golongan asam palmitat di dalam fraksi yang beraktivitas estrogenik. (Ma'arif *et al.*, 2018;

Ma'arif *et al.*, 2016). Penelitian lain terhadap *M. crenata* C. Presl adalah melalui uji *in vivo* pada mencit menggunakan fraksi etil-asetat daun *M. crenata* C. Presl menunjukkan bahwa fraksi ini aktif sebagai antiosteoporosis. Sedangkan berdasarkan hasil skrining fitokimia terhadap fraksi ini menunjukkan adanya kandungan golongan senyawa flavonoid yang termasuk dalam kelompok senyawa fitoestrogen (Adityara, 2017 dan Sirotkin, 2014).

Golongan senyawa yang termasuk dalam golongan fitoestrogen diantaranya adalah flavonoid, kalkon, stilbenoid dan beberapa golongan senyawa lainnya. Senyawa golongan fitoestrogen merupakan senyawa-senyawa yang memiliki struktur menyerupai estrogen, aktivitas menyerupai estrogen maupun senyawa yang memiliki afinitas serupa estrogen (Sirotkin, 2014). Estrogen merupakan salah satu hormon seksual yang penting bagi seorang individu, khususnya pada wanita. Pada seorang individu dewasa, seiring dengan bertambahnya usia akan disertai dengan terjadinya defisiensi estrogen. Defisiensi estrogen merupakan suatu keadaan dimana terjadi deaktivasi estradiol menjadi estron dan estriol serta sulfasi estradiol sehingga menurunkan afinitasnya terhadap reseptor estrogen (Cui *et al.*, 2013). Terjadinya defisiensi estrogen ini akan mempengaruhi fungsi fisiologis tubuh seseorang karena hormon estrogen turut berperan dalam menjaga homeostasis tubuh. Salah satu akibat dari defisiensi estrogen adalah terjadinya osteoporosis dan neurodegeneratif (Katzung *et al.*, 2012 dan Villa *et al.*, 2016).

Pemberian estrogen sintetik merupakan salah satu terapi farmakologi yang diberikan pada individu dengan defisiensi estrogen atau yang dikenal dengan *hormone replacement therapy* (HRT). Akan tetapi, pemberiannya dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya kanker uterus maupun kanker payudara (Katzung *et al.*, 2012 dan Wells *et al.*, 2017). Oleh karena itu, adanya senyawa golongan fitoestrogen dalam

tanaman *M. crenata* C. Presl yang diketahui berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan diharapkan mampu menjadi salah satu alternatif terapi dengan efek samping yang minimal (Aditama, 2016).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pada fraksi n-butanol daun *M. crenata* C. Presl mengandung senyawa golongan isoflavonoid dan memiliki aktivitas estrogenik, yaitu antineuroinflamasi yang diduga terjadi akibat adanya defisiensi estrogen yang diketahui melalui skrining fitokimia dan uji aktivitas secara *in vitro*. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan *metabolite profiling* terhadap fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl untuk mengetahui metabolit-metabolit dalam fraksi menggunakan metode UPLC-QToF MS/MS. Instrumen ini dipilih karena memiliki reliabilitas yang tinggi, sensitivitas yang tinggi, cepat dan mudah untuk digunakan. Puncak kromatogram hasil pembacaan senyawa menggunakan instrumen juga menunjukkan keterpisahan yang baik (Zhang *et al.*, 2019).

Metabolit-metabolit teridentifikasi berdasarkan *metabolite profiling* di uji secara *in silico* untuk mengetahui afinitasnya terhadap reseptor estrogen beta sehingga dapat digolongkan sebagai senyawa golongan fitoestrogen (Sirotkin, 2014). Uji afinitas secara *in silico* ini dilakukan secara komputasional dan bersifat prediktif untuk melakukan prediksi awal sebelum dilakukan penelitian lanjutan untuk memastikan aktivitas metabolit beserta efeknya pada individu sehingga tidak membuang banyak waktu, tidak mahal dan lebih ramah lingkungan. Prediksi afinitas metabolit secara *in silico* ini didasarkan pada interaksi metabolit terhadap protein 1ERE yang mewakili reseptor estrogen beta (ER β) yang dilihat dari jenis asam amino terikat beserta jenis ikatannya (Gini, 2016).

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Bagaimana profil metabolit dalam fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl menggunakan UPLC-QToF MS/MS?
- 1.2.2 Bagaimana afinitas senyawa golongan fitoestrogen dalam fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl terhadap reseptor estrogen beta melalui uji afinitas secara *in silico*?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengidentifikasi profil metabolit dalam fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl menggunakan UPLC-QToF MS/MS.
- 1.3.2 Mengetahui afinitas senyawa golongan fitoestrogen dalam fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl terhadap reseptor estrogen beta melalui uji afinitas secara *in silico*

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Mendapatkan data profil metabolit dalam fraksi n-butanol dari ekstrak etanol 96% daun *M. crenata* C. Presl menggunakan UPLC-QToF-MS/MS sehingga dapat digunakan sebagai acuan pada penelitian selanjutnya khususnya di bidang kesehatan.
- 1.4.2 Secara efektif, dapat mempersingkat waktu penelitian sebelum melakukan proses isolasi senyawa lebih lanjut yang diduga dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen beta.