

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia kaya akan pengetahuan mengenai pengobatan tradisional. Hampir setiap suku di Indonesia memiliki khasanah pengetahuan dan cara tersendiri mengenai pengobatan tradisional. Sebelum dituliskan ke dalam naskah kuno, pengetahuan tersebut diturunkan secara turun-temurun melalui tradisi lisan. Menurut Djojosedjito (1985), perkembangan obat tradisional dan pengobatan tradisional saat ini berkembang pesat khususnya obat tradisional yang berasal dari tumbuhan. Hal ini bisa kita lihat dari semakin banyaknya bentuk sediaan obat tradisional dalam kemasan yang sangat menarik. Perkembangan ini membuat pemerintah atau instansi terkait merasa perlu membuat aturan perundang-undangan yang mengatur dan mengawasi produksi dan peredaran produk-produk obat tradisional agar masyarakat terhindar dari hal-hal yang tidak diinginkan khususnya masalah kesehatan (Parwata, 2016).

Daun kemangi (*Ocimum sanctum*.L) yang merupakan *family Lamiaceae* merupakan sumber yang kaya akan senyawa fitokimia yang dapat menunjukkan efek farmakologis yang tak terhitung banyaknya (Thadani *et al*, 2015). Kandungannya antara lain karotenoid, terpenoid, alkaloid (Almalki, 2019), saponin, flavonoid, tannin dan minyak atsiri yang bermanfaat sebagai antioksidan, penghambat pertumbuhan bakteri, dan bermanfaat untuk pengobatan gangguan pencernaan (Larasati dan Apriliana, 2016), renoprotektif (Almalki, 2019), antikarsinogenik, neuroprotektif, kardioprotektif, antikoagulan, imunomodulator (Thadani *et al*, 2015), analgetik/antipiretik, hipolipidemik, antiinflamasi, antidiabetik, aktivitas anti stress, hepatoprotektif, bahkan minyak esensial ekstrak daun kemangi bermanfaat sebagai fungistatik, insektisida, nematocida (Mittal *et al*, 2018). Analisis spektroskopi mengungkapkan bahwa senyawa bioaktif terisolasi yang dijelaskan adalah triterpenoid tetrasiklik (Thadani *et al*, 2015). Sharma *et al*, (2001) telah membuktikan kandungan antioksidan pada daun kemangi memiliki efek yang menguntungkan dalam kondisi patologis seperti aterosklerosis, iskemia, kanker, katarak, dan disfungsi hati. Dan ini telah terbukti pada penelitian bahwa ekstrak hidro-alkohol daun *Ocimum sanctum* memiliki nilai terapeutik dan profilaksis dalam pengobatan terhadap penyakit MI (*Myocardial infarction*) (Sharma *et al*, 2001).

Obat tradisional agar dapat diterima di masyarakat maupun pelayanan kesehatan, harus didukung secara ilmiah adanya khasiat, keamanan dan kualitas penggunaannya pada manusia. Oleh karena itu diperlukan untuk memperluas basis pengetahuan, dan pemberian panduan tentang standar regulasi, jaminan kualitas, serta peningkatan ketersediaan dan keterjangkauan (WHO, 2013). Berdasarkan keputusan Kepala Badan POM RI, (2005) tahapan pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka harus memenuhi kriteria antara lain, harus terbukti keamanan dan khasiatnya secara ilmiah dengan uji praklinis (uji toksisitas dan farmakodinamika) dan uji klinis bahan baku serta produk jadinya telah distandarisasi dan memenuhi persyaratan mutu yang berlaku (Keputusan Badan POM, 2005). Tahapan pengembangan dan pengujian fitofarmaka antara lain; (1) seleksi, proses pemilihan jenis bahan alam yang akan diteliti sesuai dengan skala prioritas khasiat untuk penyakit-penyakit utama, (2) biological screening, untuk menyaring ada atau tidaknya efek farmakologi bahan fitofarmaka yang mengarah ke khasiat terapeutik (pra klinis in-vivo), efek keracunan akut, spectrum toksisitas dan system organ yang paling peka terhadap efek racun tersebut. (3) tahap penelitian farmakodinamik, untuk melihat pengaruh bahan fitofarmaka terhadap masing-masing sistem biologis organ tubuh. (4) tahap pengujian toksisitas lanjut (multiple dose), toksisitas akut dan subkronis, toksisitas khas. (5) tahap pengembangan sediaan (formulasi), mengetahui bentuk-bentuk sediaan yang memenuhi syarat mutu, keamanan, dan estetika untuk pemakaian pada manusia (Keputusan Menkes.R.I, 2000).

Penemuan dan pengembangan obat merupakan perjalanan panjang yang beresiko tinggi dan biaya rata-rata pengembangan obat baru sangat mahal. Untuk memaksimalkan kemanjuran, keamanan, dan farmakokinetik suatu bahan, diperlukan identifikasi sifat farmakokinetik dan toksisitas molekul suatu sampel, sehingga efektivitas dan keberhasilan terapeutik dapat tercapai. Interaksi antara farmakokinetik, toksisitas, dan potensi sangat diperlukan untuk efektifitas suatu obat. Tes *in-vitro* dan *in-vivo* dilakukan untuk menyelidiki keamanan obat, termasuk berbagai toksisitas dan efek samping obat, dan dalam beberapa tahun terakhir ada upaya untuk mengembangkan model in-vitro seperti “*organ on a chip*”, namun pendekatan tersebut masih tergolong mahal dan memakan waktu. Akhirnya dikembangkan metode komputasional yang memberikan keuntungan lebih besar dibandingkan pendekatan eksperimental karena ramah lingkungan, proses cepat, biaya murah, sangat akurat, dan yang terpenting dapat dilakukan sebelum senyawa disintesis (Yang *et al*, 2018).

Untuk memastikan keberadaan konstituen zat gizi atau zat kimia yang bermanfaat bagi kesehatan dan penyembuhan penyakit pada bahan alami daun kemangi, selain pemeriksaan fitokimia juga diperlukan suatu teknologi dan instrumen yang lebih canggih yang dapat memisahkan semua senyawa kimia dalam sampel, kemudian mengidentifikasi senyawa tersebut secara akurat, seperti *Liquid chromatography tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) (Galen dan Feiters, 2016). Spektrometri massa merupakan teknik analisis akurat yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang tidak diketahui dalam sampel pada bahan yang diketahui, secara fleksibel, tinggi *throughput* sampel, tinggi spesifisitas (Zhang *et al*, 2016), serta dapat menjelaskan struktur dan sifat kimia dari molekul yang berbeda. Proses lengkap melibatkan konversi sampel menjadi ion gas, dengan atau tanpa fragmentasi, yang kemudian dicirikan oleh rasio massa terhadap muatan (m/z) dan kelimpahan relatifnya. Teknik ini pada dasarnya mempelajari pengaruh energy pengion pada molekul, tergantung pada reaksi kimia dalam fase gas dimana molekul sampel dikonsumsi selama pembentukan spesies ionic dan netral (Galen dan Feiters, 2016).

Konsep MS (Mass spectrum) adalah melakukan ionisasi partikel pada sampel, kemudian partikel diberikan muatan agar dapat merespon medan listrik dan medan magnet, dimana seberkas elektron hanya menggunakan medan magnet yang dekat dengan berkas (pelat) yang bermuatan, sehingga partikel akan dibelokkan atau dipisahkan sesuai dengan berat molekul dan muatannya. Mass spectrum menggunakan sinar katoda yang bermuatan negatif dan plat bermuatan positif, dimana sinar katoda akan dibelokkan oleh plat tersebut yang bermuatan magnetik. Pada bidang Biomolekuler, MS dapat mengurutkan peptide dan protein, serta memberikan informasi tentang struktur kimia (Ravisankar, 2013).

Profil farmakokinetik suatu senyawa menentukan sifat penyerapan, penyebaran, metabolisme dan ekskresi (ADMET), dan sifat pengikatan yang optimal dari obat baru dengan konsentrasi yang cukup ke situs target terapeutik sangat penting, agar dapat mencapai efek fisiologis yang aman. Evaluasi eksperimental sifat ADMET molekul kecil memakan waktu dan mahal dan tidak selalu berskala antara model hewan dan manusia. Evolusi pendekatan komputasi untuk mengoptimalkan farmakokinetik dan sifat toksisitas memungkinkan perkembangan penemuan mengarah secara efektif dan cepat ke kandidat obat. (Pires *et al*, 2015).

Metode prediksi toksisitas *in silico* (PTI= *Prediction of toxicity In silico*) adalah pendekatan komputasi untuk menganalisis, mensimulasi, memvisualisasi, dan memprediksi toksisitas bahan kimia. PTI mencakup semua metodologi untuk menganalisis sifat kimia dan

biologi struktur kimia yang diwakilinya baik bahan kimia aktual atau yang diusulkan (yaitu, virtual). Saat ini, pendekatan *in silico* sering digunakan dalam kombinasi dengan uji toksisitas lainnya, pendekatan tersebut mulai digunakan untuk menilai informasi toksisitas dengan sedikit kebutuhan untuk melakukan studi *in vitro* atau *in vivo*. IST (*In silico toxicology*) menggunakan model yang bisa dikodekan dalam perangkat lunak untuk memprediksi potensi toksisitas bahan kimia dan dalam beberapa situasi untuk memprediksi secara kuantitatif dosis toksik. (Kar dan Leszczynski, 2019).

Berdasarkan latar belakang kemajuan teknologi dalam LC-MS/MS secara otomatisasi, miniaturisasi, detektor dan perbaikan LC, serta standarisasi dan regulasi yang akan datang sangat mempengaruhi peran LC-MS/MS di laboratorium toksikologi, hal ini membuat peneliti tertarik melakukan penelitian terhadap daun kemangi dengan membuatnya menjadi bentuk ekstrak hidro-alkohol dengan teknik *ultrasound extraction method*, selanjutnya melakukan identifikasi ekstrak hidro-alkohol daun kemangi (EHDK) secara LC-MS/MS, selanjutnya senyawa kimia yang teridentifikasi dilakukan prediksi toksisitas *in silico* (PTI= *Prediction of toxicity In silico*) dengan menganalisis parameter prediksi ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas), dengan menggunakan konsep “Graph-based structural signatures” dengan pendekatan “Cutoff Scanning algoritma” pkCSM untuk mengekstrak pola jarak dari grafik struktur protein dengan meringkasnya menjadi “Signature vector” kemudian membandingkannya dengan Swiss-ADME dari Swiss Institute of Bioinformatics, untuk klasifikasi struktur protein, prediksi fungsi, prediksi ligan berbasis reseptor, sebagai komponen pendekatan analisis mutasi berbasis struktur, sehingga prediksi dan sifat farmakokinetik serta toksisitas molekul kecil dapat dioptimalkan. Software yang digunakan dalam reaserch ini adalah were ChemDraw 2016 (<http://scistore.cambridgesoft.com/>) (License Code: 338-284099-4415), Openbabel GUI 2.4.1 (<https://sourceforge.net>), pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka rumusan masalah penelitian ini adalah :

1. Apa senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi dengan menggunakan LC-MS/MS.
2. Bagaimana prediksi senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi dengan parameter ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Toksisitas).

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun kemangi dengan menggunakan LC-MS/MS.
2. Untuk mengetahui prediksi toksisitas secara in silico senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi dengan parameter ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Toksisitas).

A. Tujuan umum

1. Mengetahui kandungan senyawa biomolekuler yang terdapat pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi dengan menggunakan LC-MS/MS.
2. Untuk mengetahui prediksi toksisitas secara in silico senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak etanol daun kemangi dengan parameter ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Toksisitas).

B. Tujuan khusus

1. Mengidentifikasi senyawa biomolekuler secara lengkap dan terperinci dengan menggunakan metode LC-MS/MS.
2. Dapat memberikan informasi apakah terdapat kandungan racun yang berbahaya bagi kesehatan manusia dengan metode yang menggunakan aplikasi In-Silico.
3. Dapat mengetahui secara terperinci kandungan biomolekuler yang terkandung di dalam ekstrak hidro-alkohol dengan daya absorpsinya dalam tubuh dan distribusinya di dalam tubuh yang kemudian pengaruhnya pada proses metabolisme di dalam tubuh, serta efek toksisitasnya terutama pada organ apa.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah

1. Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat diidentifikasi senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi dengan menggunakan LC-MS/MS.
2. Penelitian ini akan menghasilkan informasi prediksi toksisitas secara in silico senyawa kimia yang teridentifikasi pada ekstrak hidro-alkohol daun kemangi