

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Fungsi kognitif merupakan kecerdasan dan aktivitas mental secara sadar seperti berpikir, mengingat, belajar, menggunakan bahasa, kemampuan atensi, memori, pemecahan masalah, serta kemampuan eksekutif seperti merencanakan, menilai, mengawasi dan melakukan evaluasi (Lee *et al.*, 2016). Faktor utama yang memengaruhi fungsi kognitif yaitu neurodegenerasi yang melibatkan kerusakan progresif dari struktur dan fungsi saraf yang pada akhirnya menyebabkan kematian sel. Ketika kerusakan sel-sel saraf mempengaruhi sistem saraf pusat (SSP) dan saraf perifer dapat menyebabkan penyakit seperti penyakit Alzheimer, penyakit Huntington, *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, penyakit Parkinson, *multiple system atrophy*, dan penyakit prion (Morris *et al.*, 2013).

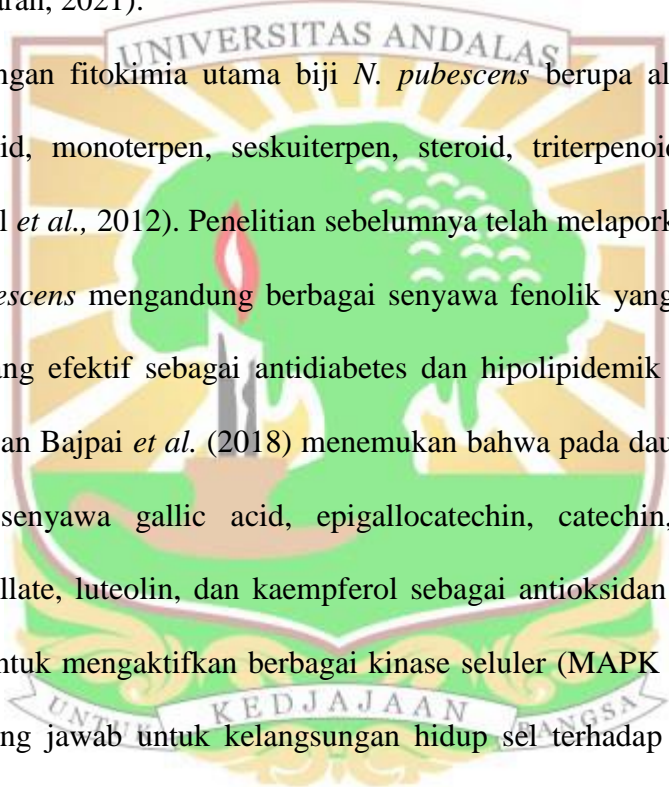
Neurodegenerasi dapat terjadi karena stres oksidatif (Rai *et al.*, 2014) dan neuroinflamasi (Morris *et al.*, 2013). Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara produksi dan eliminasi *reactive oxygen species* (ROS) oleh sistem pertahanan antioksidan. Sel-sel otak sangat sensitif terhadap kerusakan oksidatif, karena kebutuhan oksigen yang tinggi dari otak. Kerusakan oksidatif pada lipid yang terdiri dari asam lemak tak jenuh (peroksidasi lipid) menghasilkan produk seperti malondialdehid (MDA), 4-hidroksi-2,3-nonenal, akrolein, dan senyawa lainnya yang memberikan efek negatif pada kesehatan manusia. Enzim antioksidan endogen, seperti glutathione peroxidase (GPx), superoksida dismutase (SOD), dan katalase (CAT), berfungsi untuk melindungi

sel dari kerusakan oksidatif. Namun, sementara kandungan asam lemak tak jenuh otak tinggi, dan sistem pertahanan antioksidan otak lebih lemah dibandingkan dengan organ lain. Oleh karena itu, stres oksidatif dapat dengan mudah menyebabkan degenerasi hipokampus yang merupakan wilayah otak utama untuk pemrosesan memori.

Salah satu neurotoksikan kuat yang dianggap menginduksi stres oksidatif adalah trimethyltin ( $C_3H_9ClSn$ ; TMT). Studi pada tikus mengungkapkan bahwa TMT menyebabkan penurunan kognitif dan degenerasi saraf, yang secara selektif mempengaruhi hipokampus, amigdala, dan korteks entorhinal dari sistem limbik (Geloso *et al.*, 2011). Paparan TMT dapat merusak memori spasial pada uji *morris water maze* dan penurunan akuisisi pembelajaran memori pada uji pengenalan objek baru pada tikus (Yuliani *et al.*, 2018; Hamidizad *et al.*, 2019; Rostami *et al.*, 2022). Kerusakan sel piramidal di daerah CA1 dan CA3 hipokampus, korteks entorial dan aktivasi mikroglial, diamati sebagai akibat dari paparan TMT (Kaur *et al.* 2017; Homayoon *et al.*, 2014; Kim & Kim, 2015). Perlindungan neuron dari degenerasi merupakan strategi pencegahan penting untuk neurodegenerasi. Obat yang disarankan untuk pencegahan demensia biasanya termasuk senyawa yang dapat menghambat kerusakan oksidatif pada neuron dan menghambat berlangsungnya proses degeneratif kematian saraf (Angelova *at al.*, 2020).

Pendekatan terapeutik untuk pengobatan penyakit neurodegeneratif saat ini berupa antibodi penghambat amiloid (aducanumab), inhibitor kolinesterase (donepezil, rivastigmine, galantamine), dan regulator glutamat (memantine),

namun obat ini dapat menimbulkan efek samping dan juga relatif mahal. Penggunaan bahan alami yang memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi sangat baik untuk memperbaiki sel-sel otak terhadap neurotoksisitas dan gangguan kognitif. Salah satu tanaman yang potensial yaitu tanaman teratai (*Nymphaea pubescens* Willd) yang diketahui digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit dan merupakan sumber untuk formulasi obat (Sathasivampillai & Rajamanoharan, 2021).



Kandungan fitokimia utama biji *N. pubescens* berupa alkaloid, fenolat, tanin, flavonoid, monoterpen, seskuiterpen, steroid, triterpenoid, kuinon, dan saponin (Fitrial *et al.*, 2012). Penelitian sebelumnya telah melaporkan bahwa daun teratai *N. pubescens* mengandung berbagai senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidan yang efektif sebagai antidiabetes dan hipolipidemik (Angadi *et al.*, 2013). Penelitian Bajpai *et al.* (2018) menemukan bahwa pada daun *N. pubescens* mengandung senyawa gallic acid, epigallocatechin, catechin, caffeic acid, epicatechin gallate, luteolin, dan kaempferol sebagai antioksidan yang memiliki kemampuan untuk mengaktifkan berbagai kinase seluler (MAPK dan PI3K/Akt), dan bertanggung jawab untuk kelangsungan hidup sel terhadap stres oksidatif. Sejauh ini, penelitian ekstrak biji *N. pubescens* diketahui efektif sebagai antibakteri dan antidiare dengan menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* penyebab diare pada tikus percobaan (Fitrial *et al.*, 2012; Wahyuni *et al.*, 2012). Pengamatan efek neuroprotektif ekstrak biji *N. pubescens* pada mencit pengidap neurodegenerasi belum pernah dilaporkan.

Dalam beberapa dekade terakhir, ekstrak alami menjadi banyak digunakan sebagai sumber fungsional atau terapeutik untuk pengobatan penyakit. Meningkatnya konsumsi ekstrak alami telah menyebabkan meningkatnya kekhawatiran tentang keamanan penggunaannya. Serangkaian tes harus dilakukan untuk memastikan kualitas dan efektivitasnya (Loha *et al.*, 2019). Dengan demikian, evaluasi toksisitas biji *N. pubescens* menjadi sangat diperlukan untuk memastikan tingkat keamanannya untuk pengobatan berbagai penyakit.

Senyawa aktif yang ada dalam tanaman obat dapat bertindak pada target melalui berbagai mekanisme inhibitor suatu penyakit. Oleh karena itu, senyawa yang terkandung dalam biji *N. pubescens* memiliki potensi dalam pengobatan seperti neurodegenerasi melalui pendekatan *in silico*. *Molecular docking* adalah jenis model bioinformatik yang melibatkan interaksi protein-ligan pada tingkat atom. Di sisi lain, ligan dapat mengikat dengan protein melalui berbagai jenis interaksi, terutama ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, *van der Waals*, dan ditandai dengan afinitas pengikatan (Pinero *et al.*, 2020). Dengan demikian, penelusuran terkait mekanisme aksi senyawa biji *N. pubescens* harus dilakukan sehingga dapat menjadi pengembangan obat baru di masa depan.

Penelitian ini berfokus pada aktivitas anti-neurodegenerasi secara *in vivo* dan *in silico* dari ekstrak biji *N. pubescens* pada mencit yang diinduksi trimetiltin. Dalam penelitian ini, dilakukan evaluasi potensi ekstrak biji *N. pubescens* dalam meningkatkan fungsi kognitif dan uji keamanan penggunaannya, serta pengaruhnya sebagai inhibitor neurodegenerasi dengan *molecular docking*. Penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan obat anti-neurodegenerasi efektif



dan menjadi salah satu upaya eksplorasi material obat alami secara modern yang potensial untuk menyokong kemandirian bahan baku industri farmasi di Indonesia.

## B. Rumusan Masalah

1. Apa saja senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak biji *N. pubescens* terkait perannya sebagai neuroprotektor berdasarkan skrining fitokimia dan simulasi *in silico*?
2. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* dalam meningkatkan fungsi memori dalam uji pembuatan sarang dan pengenalan objek baru pada hewan uji mencit yang diinduksi mengalami neurodegenerasi dengan trimetiltin?
3. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* terhadap antioksidan endogen meliputi aktivitas katalase pada otak mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin?
4. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* terhadap sel piramidal di hipokampus dan korteks serebri yang menjadi pusat memori mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin?
5. Bagaimanakah tingkat keamanan ekstrak biji *N. pubescens* berdasarkan indikator toksisitas meliputi bobot badan, bobot organ, konsumsi makan, konsumsi minum, pendarahan mata, tekstur feses, parameter hematologis, parameter biokimia, dan histopatologi organ (hati, ginjal, paru-paru, limpa, dan jantung) pada mencit?

### C. Tujuan Penelitian

1. Menganalisis senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak biji *N. pubescens* terkait perannya sebagai neuroprotektor berdasarkan skrining fitokimia dan simulasi *in silico*.
2. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* yang efektif dalam meningkatkan fungsi memori dalam uji pembuatan sarang dan pengenalan objek baru pada hewan uji mencit yang diinduksi mengalami neurodegenerasi dengan trimetiltin.
3. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* terhadap antioksidan endogen meliputi aktivitas katalase pada otak mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.
4. Menganalisis pengaruh pemberian ekstrak biji *N. pubescens* terhadap sel piramidal di hipokampus dan korteks serebri yang menjadi pusat memori mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.
5. Menganalisis tingkat keamanan ekstrak biji *N. pubescens* berdasarkan indikator toksisitas meliputi bobot badan, bobot organ, konsumsi makan, konsumsi minum, pendarahan mata, tekstur feses, parameter hematologis, parameter biokimia, dan histopatologi organ (hati, ginjal, paru-paru, limpa, dan jantung) pada mencit.

### D. Hipotesis Penelitian

1. (H<sub>0</sub>) : Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak biji *N. pubescens* tidak memiliki peran sebagai neuroprotektor berdasarkan skrining fitokimia dan simulasi *in silico*.

(H1) : Senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak biji *N. pubescens* memiliki peran sebagai neuroprotektor berdasarkan skrining fitokimia dan simulasi *in silico*.

2. (H0) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* tidak berpengaruh dalam meningkatkan fungsi memori dalam uji pembuatan sarang dan pengenalan objek baru pada hewan uji mencit yang diinduksi mengalami neurodegenerasi dengan trimetiltin.

(H1) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* berpengaruh terhadap peningkatan fungsi memori dalam uji pembuatan sarang dan pengenalan objek baru pada hewan uji mencit yang diinduksi mengalami neurodegenerasi dengan trimetiltin.

3. (H0) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* tidak berpengaruh terhadap antioksidan endogen meliputi aktivitas katalase pada otak mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.

(H1) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* berpengaruh terhadap antioksidan endogen meliputi aktivitas katalase pada otak mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.

4. (H0) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* tidak berpengaruh terhadap sel piramidal di hipokampus dan korteks serebri yang menjadi pusat memori mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.

(H1) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* berpengaruh terhadap sel piramidal di hipokampus dan korteks serebri yang menjadi pusat memori mencit pengidap neurodegenerasi akibat trimetiltin.

5. (H0) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* tidak memiliki sifat toksik terhadap mencit.

(H1) : Pemberian ekstrak biji *N. pubescens* memiliki sifat toksik terhadap mencit.

### **E. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi pengembangan ilmu pengetahuan mengenai efek ekstrak biji *N. pubescens* dalam meningkatkan fungsi memori, meningkatkan enzim katalase, dan mencegah terhadap kerusakan sel piramidal otak mencit putih pengidap neurodegenerasi yang diakibatkan oleh zat trimetiltin, informasi mengenai tingkat keamanannya dan aktivitas inhibitor neurodegenerasi dengan *molecular docking*.

