



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Berdasarkan data yang dilaporkan *World Health Organization* (WHO), pada tahun 2016 terdapat 1,9 juta individu dewasa mengalami kelebihan bobot tubuh dan 650 juta di antaranya mengalami obesitas (WHO, 2021). Peningkatan ini umumnya terjadi di negara berkembang, khususnya wilayah perkotaan. Di Indonesia, terdapat peningkatan obesitas yang terjadi secara signifikan dari 10,5% pada tahun 2007 menjadi 21,8% pada tahun 2018, seperti yang tercatat dalam data Kementerian Kesehatan (Kemenkes, 2022). Obesitas menimbulkan dampak serius pada kesehatan, terkait dengan manifestasi berbagai penyakit, termasuk sindrom metabolik dan gangguan saluran pernapasan. Regulasi pola makan atau diet dianggap sebagai strategi utama untuk mengatasi masalah ini, namun keberhasilannya seringkali terkendala oleh rendahnya tingkat kepatuhan individu (Mardhatillah dkk., 2022). Penggunaan bahan alam dapat menjadi alternatif dalam menurunkan bobot tubuh. Ramuan herbal mempunyai peranan dalam perkembangan dunia obat-obatan di Indonesia. Beberapa tumbuhan seperti sambiloto (*Andrographis paniculata*) diketahui memiliki potensi sebagai anti-obesitas.

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) menghasilkan senyawa utama yaitu Andrografolid yang mempunyai rasa sangat pahit. Kandungannya berupa Andrografolid dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antipiretik, antimalaria, antidiabet, hepatoprotektif dan penyakit lainnya (Prihatini dkk., 2020). Andrografolid dilaporkan dapat mengurangi penambahan bobot tubuh akibat diet tinggi lemak (DTL) dan penumpukan lemak di hati dan jaringan adiposa, serta memperbaiki kadar lipid serum dan sensitivitas insulin atau glukosa (Adiguna dkk., 2023). Melalui pengujian secara *in vivo*, sambiloto dapat menurunkan metabolisme asam lemak serta menurunkan kadar kolesterol dan trigliserida pada mencit (Zhang dkk., 2021). Hewan coba yang sering digunakan dalam pengujian *in vivo* yaitu tikus atau mencit, memiliki keunggulan karena memiliki kemiripan genetik sebesar 80% (Ni dkk., 2022; Breschi dan Gingeras, 2017). Namun, terdapat beberapa faktor penting yang perlu diperhatikan diantaranya standarisasi pola makan, biaya penelitian, dan durasi penelitian merupakan pertimbangan utama dalam screening senyawa anti-obesitas. Selain itu, kompleksitas penyakit menjadi tantangan utama dalam pemodelan penyakit pada hewan uji (Martins dkk., 2022; Shim dan Kim, 2022; Pal, 2015). Oleh karena itu, diperlukan organisme model alternatif dalam menguji kandidat obat serta pemodelan penyakit yang lebih efisien.

Sebagai alternatif yang lebih efisien dan sesuai dengan prinsip 3R dalam penggunaan hewan coba, pemodelan dengan menggunakan lalat buah (*D. melanogaster*) dapat dijadikan sebagai alternatif (Verderio dkk., 2023; Shim dan Kim, 2022). Pendekatan ini memungkinkan pengujian *in vivo* yang lebih terjangkau, tetapi tetap memerlukan pertimbangan terhadap parameter-parameter khusus untuk memastikan relevansi dan validitas hasil penelitian (Baker and Lipman, 2015). Lalat buah telah dibuktikan sebagai model organisme dalam penelitian genetika selama beberapa dekade. Sekitar 75% gen lalat buah diketahui homolog dengan gen manusia yang terkait



penyakit (Nainu, 2018). Efek farmakologi suatu senyawa terhadap penyakit diketahui melalui pengujian secara *in vivo* menggunakan organisme model pada α -klinis untuk menguji kandidat obat (Breyer dkk., 2015).

Tahap pra-klinis bertujuan untuk memprediksi efek atau perilaku senyawa terapeutik pada manusia melalui efikasi, toksisitas, maupun dosis suatu senyawa (Atkins dkk., 2020). Dalam hal ini, hewan model dibuat mirip dengan kondisi patologis tertentu sebagai langkah awal untuk mengetahui mekanisme terapeutik suatu obat (Soufizadeh dkk., 2024). Pada beberapa penyakit, keterlibatan genetik menjadi hal yang mendorong timbulnya penyakit. Kelainan gen memiliki hubungan dengan kondisi fenotip (Hopkins dkk., 2023). Pada kasus obesitas, pemodelan penyakit pada lalat buah menunjukkan perubahan fenotip (*obese-like phenotype*) yang berkorelasi dengan manusia (Peng dan Ding, 2022). Perubahan fenotip pada lalat buah dapat memberikan skrining dalam skala besar secara efisien untuk mengidentifikasi senyawa yang memiliki potensi sebagai anti-obesitas (Trinh dan Boulianne, 2013). Oleh sebab itu, penelitian ini dapat memberikan gambaran awal terhadap skrining senyawa anti-obesitas pada lalat buah, menggunakan sambiloto sebagai senyawa uji.

1.2 Teori

1.2.1 Obesitas

Obesitas adalah penyakit *multifactorial* yang kompleks di mana terjadi akumulasi lemak tubuh berlebih yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan. Obesitas dikategorikan sebagai epidemi dikarenakan tidak ada penurunan signifikan yang terjadi. Obesitas dapat memicu timbulnya berbagai penyakit mematikan seperti diabetes melitus tipe 2, penyakit kardiovaskular, sindrom metabolik, penyakit ginjal kronis dan lain sebagainya. Mekanisme yang paling mungkin menyebabkan terjadinya obesitas adalah penggunaan energi yang rendah dibandingkan dengan penyimpanan energi yang tinggi (Lin dan Li, 2021).

1.2.2 *Drosophila melanogaster*

Lalat buah (*D. melanogaster*) telah digunakan selama beberapa dekade sebagai model organisme alternatif, terutama dalam penelitian genetik, karena ia memiliki sekitar 75% gen terkait penyakit manusia yang diketahui (Baenas dan Wagner, 2022). Obesitas yang diinduksi DTL pada lalat buah memiliki banyak kesamaan dengan kondisi pada manusia, termasuk hiperglikemia, resistensi insulin, aritmia dan fibrosis jantung, harapan hidup yang menurun dan nefrosis. Selain itu, penelitian juga menilai kemampuan lalat dalam bertahan dan memproses diet tinggi kalori yang memicu obesitas, atau disebut toleransi obesitas. Sama seperti manusia, beberapa lalat obesitas bisa tetap sehat, sementara faktor genetik tertentu membuat lalat lain mengalami dampak parah meski kelebihan makan hanya dalam jumlah sedang (Musselman dan Kühnlein, 2018).



Sambiloto (*Andrographis paniculata*)

Sambiloto (Andrografolid) dan turunannya adalah senyawa bioaktif utama yang menunjukkan efek antiinflamasi, antitumor, antidiabetes, perlindungan kardiovaskular, neuroprotektif, dan hepatoprotektif. Konstituen aktif utama termasuk lakton, diterpenoid, flavonoid, lakton diterpenoid, glikosida diterpenoid, terutama lakton diterpenoid labdane seperti andrografolid ($C_{20}H_{30}O_5$), neoandrografolid ($C_{26}H_{40}O_8$), 14-deoksiandrografolid ($C_{20}H_{30}O_4$), dan dehydroandrografolid ($C_{20}H_{28}O_4$) (Chen dkk., 2023).

1.2.4 Fenotip

Fenotip adalah karakteristik yang dapat diamati pada organisme, mencakup aspek fisik, biokimia, fisiologis, hingga perilaku. Fenotip ini merupakan hasil dari interaksi antara genotipe dan lingkungan, serta dipengaruhi oleh kedua faktor tersebut. Istilah fenotip mencakup berbagai tingkatan ekspresi gen dalam suatu organisme. Pada tingkat organisme, fenotip meliputi sifat-sifat yang dapat dilihat, diukur, dan diamati. Sebagian fenotip ditentukan oleh genotipe individu, sementara sebagian lainnya dipengaruhi oleh lingkungan tempat individu hidup, faktor waktu, dan interaksi antara genotip dengan lingkungannya, dimana waktu sering dikategorikan sebagai bagian dari aspek lingkungan (Meilani dkk., 2019).

1.3 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu bagaimana pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap fenotip (Bobot tubuh, kemampuan hidup, dan morfologi) model obesitas *D. melanogaster*?

1.4 Tujuan dan Manfaat

1.4.1 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak sambiloto terhadap fenotip (Bobot tubuh, kemampuan hidup, dan morfologi) model obesitas *D. melanogaster*.

1.4.2 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar dalam menggunakan lalat buah (*D. melanogaster*) sebagai hewan uji skrining efek anti-obesitas senyawa bahan alam secara *in vivo*



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Pada penelitian ini alat yang digunakan seperti, alat-alat gelas, jangka sorong, micropestle (Geneaid[®]), papan CO₂ (CO₂ stage), pipa kapiler, *plugs Drosophila* (Biologix[®]), timbangan analitik, toples kaca, vial, dan *zoom stereo microscope* (Motic[®]).

2.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan didalam penelitian ini seperti, agar, aluminium foil, asam propionat, *aquadest*, *brewer's yeast*, *corn meal*, *D. melanogaster* (W¹¹¹⁸), etanol 96%, etanol 70% (onemed[®]), etil asetat, *sambiloto* (*Andrographis paniculata*), gas CO₂, glukosa, kapas, kertas saring (whatman[™]), lempeng silika gel GF 254, *microtube* (Gene follower[®]), metil paraben, minyak kelapa, dan n-heksan.

2.2 Metode Penelitian

2.2.1 Penyiapan Hewan Uji (*D. melanogaster*)

Lalat buah (*D. melanogaster*) strain w¹¹¹⁸ diperoleh dari koleksi Laboratorium Farmakologi Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Lalat buah dipelihara pada suhu 25°C dengan kelembapan 60% pada siklus gelap/terang per 12 jam (Baenas dan Wagner, 2022).

2.2.2 Pembuatan Pakan *D. melanogaster*

Pada penelitian ini pakan Lalat buah (*D. melanogaster*) yang digunakan adalah pakan kontrol tanpa perlakuan (KTP), pakan DTL, dan pakan DTL + ekstrak *sambiloto* dengan berbagai konsentrasi (0,04%; 0,08%; dan 0,16%). Komposisi pakan perlakuan adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Pakan

Komposisi Pakan (%)	KTP	DTL	Ekstrak Sambiloto		
			0.16%	0.08%	0.04%
Tepung Jagung	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Agar	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Gula pasir	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Ragi (Yeast)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Minyak Kelapa	-	2	2	2	2
Ekstrak Sambiloto	-	-	0,16	0,08	0,04



Lalat dewasa umur 4 hari dikawinkan dalam pakan perlakuan (KTP dan DTL) lah dibuat sehari sebelumnya. Larva instar 2 dikumpulkan setelah 5 hari uran eksperimen kemudian dipindahkan kedalam pakan perlakuan (KTP, DTL, dan DTL + Ekstrak) (Nayak dan Mishra, 2021).

2.2.3 Ekstraksi dan Uji Kualitatif Sambiloto

Ekstraksi daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia sambiloto 400 g direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L selama 3x24 jam sambil diaduk secara berkala. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diuapkan dengan *waterbath* pada suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental (Riyo dkk., 2019). Kemudian, dilakukan pengujian secara kualitatif menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak sambiloto akan ditotol pada KLT menggunakan pipa kapiler dengan menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan dan etil asetat (2:8). Kemudian dianalisis secara visual di bawah lampu UV λ 254 nm dan disemprot H₂SO₄ 10% (Riyo dkk., 2019).

2.2.4 Uji Tahap Perkembangan *D. melanogaster*

Uji Masa hidup dilakukan seperti penelitian yang dilakukan oleh Liao dkk (2021) dengan beberapa modifikasi. Larva instar II hasil perkawinan pada pakan tinggi lemak dan tanpa perlakuan diambil dan diletakkan kedalam pakan tinggi lemak, tanpa perlakuan, dan ekstrak. Siklus perkembangan larva lalat buah dipantau setiap hari setelah perlakuan dan dicatat. Perkembangan larva yang diberi perlakuan DTL dicatat dari larva ke pupa dan pupa ke lalat (Nayak dan Mishra, 2021; Liao, Amcoff dan Nässel, 2021).

2.2.5 Uji Bobot Tubuh

Pengukuran bobot tubuh dilakukan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu menggunakan larva dari beberapa perlakuan. Pengukuran dilakukan pada hari ke 5 ketika larva telah menjadi instar 3 dan ditimbang menggunakan neraca analitik (Nayak dan Mishra, 2021).

2.2.6 Evaluasi Morfologi Lalat Buah

Larva instar ke-3 diambil secara acak dari pakan perlakuan kemudian dibersihkan menggunakan larutan *phosphate buffer saline* (PBS). Larva kemudian difoto menggunakan kamera *stereo zoom* (500×). Gambar-gambar tersebut dipindahkan ke komputer dan perbedaannya diamati. Panjang dan lebar larva diukur menggunakan perangkat lunak *Image Raster* (Nayak dan Mishra, 2021).

2.2.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengujian kelangsungan hidup, bobot, dan ukuran tubuh dianalisis menggunakan metode *one-way ANOVA*. Semua hasil analisis statistik diolah dengan software *GraphPad Prism® 8*. Data yang disajikan adalah sebagai rata-rata \pm SD dan nilai p (<0.05) yang dianggap signifikan secara statistik