

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tahun 2024, sekitar 2,5 miliar orang dewasa memiliki berat badan yang berlebih dengan 890 juta diantaranya mengalami obesitas (WHO, 2024). Data dari Kementerian Kesehatan juga menunjukkan angka obesitas di Indonesia meningkat dari 10,5% pada tahun 2007 menjadi 21,8% pada tahun 2018 (Kemenkes, 2022). Obesitas didefinisikan sebagai kondisi kronis di mana terjadi penumpukan lemak tubuh yang abnormal atau berlebihan sehingga dapat menimbulkan dampak negatif terhadap kesehatan (Lin dan Li, 2021). Obesitas meningkatkan risiko kesehatan serius, terutama penyakit kardiovaskular. Risiko tersebut diantaranya hipertensi, penyakit jantung koroner, gagal jantung, stroke, aritmia, dan kematian mendadak. Efek tersebut dapat terjadi kapanpun dan dimanapun secara langsung. Selain itu, risiko diabetes tipe 2 juga meningkat tajam pada individu obesitas. Obesitas juga dikaitkan dengan peningkatan risiko beberapa jenis kanker, serta dapat menyebabkan gangguan pernapasan (termasuk sleep apnea, hipovekilasi, dan hipertensi pulmonal) serta penyakit hati (Blüher, 2025).

Sebelum menggunakan obat-obatan, ada banyak intervensi yang dilakukan, diantaranya adalah diet rendah kalori, olahraga, perubahan perilaku, kombinasi, bahkan operasi yang tinggi akan risiko (Siwiec et al., 2025). Berbagai macam hambatan terjadi dalam mempertahankan intervensi tersebut. Tantangan ini mencakup faktor internal seperti kurangnya motivasi, kontrol diri, serta masalah psikologis seperti stres dan depresi. Selain itu, mereka juga menghadapi hambatan eksternal, termasuk keterbatasan waktu karena komitmen lain, kurangnya dukungan sosial dari keluarga atau teman, hambatan fisik seperti nyeri sendi yang menyulitkan aktivitas, serta keterbatasan akses dan biaya yang membuat banyak orang beralih ke obat-obatan (Binsaeed et al., 2023). Penggunaan obat yang disetujui untuk mengatasi obesitas dalam jangka panjang sebelumnya ada tujuh. Namun, terdapat risiko terjadinya kanker yang ditemukan pada salah satu obat yaitu Lorcaserin, sehingga pada tahun 2020 izin edarnya dicabut di Amerika Serikat dan beberapa negara lain. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut untuk obat obesitas sebaiknya dilakukan menggunakan senyawa alami yang minim efek samping dan lebih aman (Tak dan Lee, 2021).

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) tumbuh subur di Asia Tenggara dan banyak digunakan sebagai obat herbal untuk berbagai macam penyakit dan komplikasi. Pengelolaan obesitas dan diabetes merupakan salah satu alasan tanaman tersebut dijadikan obat herbal. Andrografolid menjadi kandungan utama dalam modulasi metabolisme lemak dan glukosa untuk mengatasi obesitas (Dai et al., 2018). Andrografolid bekerja multifaset dalam mengatasi dan mencegah obesitas, seperti menghambat adipogenesis atau pembentukan sel lemak baru dari sel prekursor. Selanjutnya, andrografolid meningkatkan metabolisme lipid dengan cara menurunkan sintesis lemak dalam jaringan hati dan lemak sekaligus

mengurangi penyerapan lemak dari makanan pada saluran pencernaan (Ran et al., 2022). Sebelumnya, telah dilakukan pengujian ekstrak sambiloto pada mamalia tikus (*Rattus norvegicus*) yang secara konsisten memperbaiki metabolisme tubuh dengan menurunkan penyerapan glukosa, lemak, LDL, dan trigliserida (Chen et al., 2020). Penelitian menggunakan tikus telah menjadi standar emas yang lama untuk obesitas dan metabolisme. Namun beberapa hambatan seperti lama siklus hidup memengaruhi lama penelitian serta biaya pemeliharaan yang tinggi. Sehingga perlu sebuah model alternatif yang lebih cepat dan efisien biaya (Speakman, 2019).

Hewan model alternatif yang cepat dan efisien biaya dapat dengan menggunakan lalat buah (*Drosophila melanogaster*). Penggunaan lalat buah juga dapat memenuhi prinsip 3R penelitian yaitu replacement yang menggantikan penggunaan mamalia dalam pengujian dan prinsip refinement yang meminimalkan rasa sakit dengan menggunakan lalat buah yang memiliki sistem saraf tidak sekompleks mamalia (Verderio et al., 2023). Sekitar 75% gen lalat buah memiliki kesamaan dengan gen manusia dalam penyakit metabolisme, sehingga penggunaan lalat buah bisa lebih dikembangkan (Baenas dan Wagner, 2022). Berdasarkan keunggulan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mengevaluasi efektivitas penggunaan lalat buah sebagai hewan uji obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak dengan perlakuan andrografolid yang terkandung dalam ekstrak sambiloto.

1.2 Teori

1.2.1 Obesitas

Obesitas merupakan akumulasi lemak tubuh yang berlebihan hingga mencapai tingkat yang dapat menimbulkan berbagai risiko kesehatan yang serius. Kondisi ini dipicu oleh ketidakseimbangan energi yang persisten, di mana asupan kalori secara konsisten melebihi pengeluaran energi, dan dipengaruhi oleh interaksi kompleks antara faktor genetik, epigenetik, lingkungan, perilaku, serta sosia (Lin dan Li, 2021). Secara patologis, ketidakseimbangan ini menyebabkan perluasan massa lemak melalui dua mekanisme utama: hipertrofi (peningkatan ukuran sel adiposa) dan hiperplasia (peningkatan jumlah sel adiposa). Lebih lanjut, jaringan lemak yang mengalami kelebihan beban ini akan memicu inflamasi kronis tingkat rendah dan disfungsi hormonal, yang mengganggu regulasi neuroendokrin tubuh. Akumulasi lemak visceral (lemak di sekitar organ dalam) memiliki peran krusial dalam memicu pelepasan adipokin pro-inflamasi, yang berkontribusi signifikan terhadap inflamasi sistemik dan beragam komplikasi metabolik. Komplikasi tersebut meliputi diabetes tipe 2, penyakit jantung koroner, stroke, dan peningkatan risiko kanker tertentu. Oleh karena itu, obesitas kini telah diakui sebagai penyakit kronis yang progresif dan memerlukan penanganan jangka panjang untuk mencegah kerusakan organ dan komplikasi metabolik lebih lanjut (Jin et al., 2023).

1.2.2 Lalat Buah (*D. melanogaster*)

Lalat buah telah menjadi model hewan utama yang krusial untuk penelitian obesitas dan gangguan metabolik, memungkinkan studi mekanisme molekuler, skrining obat, dan pemahaman jalur metabolik yang relevan dengan manusia. Keunggulan utamanya terletak pada kombinasi kepraktisan biologis dan kecanggihan genetik (Chatterjee dan Perrimon, 2021).



Gambar 1. Lalat Buah (*D. melanogaster*) (Weaver et al., 2023).

Menurut Jürgens et al. (2024), lalat buah (*D. melanogaster*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Arthropoda
Kelas	: Insecta
Ordo	: Diptera
Famili	: Drosophilidae
Genus	: <i>Drosophila</i>
Spesies	: <i>Drosophila melanogaster</i>

Lalat buah memiliki siklus hidup yang sangat cepat (10–14 hari), biaya pemeliharaan rendah, dan menghasilkan keturunan dalam jumlah besar. Secara genetik, genomnya sangat mudah dimanipulasi melalui teknik mutasi, RNAi, dan CRISPR, sehingga ideal untuk analisis genetik fungsional skala besar (Chatterjee dan Perrimon, 2021). Relevansi model ini diperkuat oleh respons metaboliknya yang sangat mirip (terkonservasi) dengan manusia ketika terpapar diet tinggi lemak. Lalat buah menunjukkan fenotipe yang homolog dengan sindrom metabolik, termasuk peningkatan simpanan lemak, resistensi insulin, dan gangguan fungsi jantung (Meshrif et al., 2022). Organ kunci dalam proses ini adalah fat body (badan lemak) larva, yang berfungsi sebagai gabungan fungsional dari jaringan adiposa dan hati mamalia. Organ ini tidak hanya menyimpan energi (trigliserida, kolesterol), tetapi juga secara sentral mengatur homeostasis glukosa dan lipid, detoksifikasi, dan mengekspresikan gen-gen metabolisme kunci yang juga ditemukan pada mamalia (Silva dan Gunatilake, 2024).

1.2.3 Diet Tinggi Lemak (DTL)

Diet tinggi lemak (DTL) merupakan metode utama dan paling efektif untuk

menginduksi kondisi obesitas dan gangguan metabolik pada lalat buah, khususnya pada tahap larva, karena model ini menunjukkan respons fisiologis yang sangat mirip (terkonservasi) dengan mamalia. Diet standar lalat buah, yang umumnya berbasis campuran jagung, gula, ragi, dan agar, dimodifikasi secara spesifik dengan penambahan sumber lemak untuk memicu kondisi ini, di mana minyak kelapa (VCO) sering menjadi pilihan utama (Asiimwe et al., 2023). Paparan DTL ini memicu serangkaian fenotipe yang mencerminkan sindrom metabolik, tidak hanya pada tingkat penyimpanan lemak tetapi juga pada fungsi sistemik. Secara nyata, lalat yang diberi DTL menunjukkan penurunan kemampuan memanjat (*climbing ability*), sebuah indikator penting dari penurunan fungsi neuromuskular dan kesehatan secara keseluruhan. Lebih lanjut, dampak DTL meluas hingga ke fungsi neurologis, menyebabkan perubahan perilaku seperti perubahan pola makan, penurunan kemampuan belajar dan memori, serta fragmentasi pola tidur, yang kesemuanya meniru komplikasi komorbiditas yang sering diamati pada obesitas manusia (De et al., 2025).

1.2.4 Sambiloto (*A. paniculata*)

Andrografolid adalah metabolit sekunder utama dari *A. paniculata* (sambiloto), termasuk golongan diterpenoid lakton. Senyawa ini menjadi penanda utama kualitas ekstrak sambiloto dan bertanggung jawab atas sebagian besar aktivitas farmakologinya (Adiguna et al., 2023).



Gambar 2. Sambiloto (*A. paniculata*) (Hidanah, 2023).

Menurut Ikot et al. (2025), sambiloto (*A. paniculata*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: <i>Andrographis</i>
Spesies	: <i>Andrographis paniculata</i>

Secara molekuler dan seluler, andrografolid menunjukkan mekanisme aksi antiobesitas melalui beberapa jalur yang saling terkait. Mekanisme utamanya adalah inhibisi adipogenesis, di mana senyawa ini secara signifikan menekan

diferensiasi preadiposit menjadi adiposit matur. Hal ini dicapai dengan menurunkan ekspresi faktor transkripsi kunci yang mengatur pembentukan lemak. Sejalan dengan itu, andrografolid juga menyebabkan penurunan sintesis lemak (lipogenesis) secara umum dengan menekan ekspresi SREBP-1c dan enzim lipogenik terkait, sehingga menghambat akumulasi trigliserida dan kolesterol (Chen et al., 2016).

Selain membatasi penyimpanan, andrografolid turut meningkatkan metabolisme lipid dengan mendorong laju β -oksidasi asam lemak, terutama di jaringan adiposa coklat, yang mempercepat pembakaran lemak. Bukti praklinis yang ada mendukung mekanisme aksi tersebut (Ran et al., 2023). Pada berbagai model tikus dan mencit yang diinduksi obesitas melalui diet tinggi lemak, pemberian andrografolid terbukti efektif menurunkan berat badan, mengurangi akumulasi lemak di hati (steatosis hepatic), menurunkan kadar trigliserida serum, memperbaiki sensitivitas insulin, dan menekan ekspresi gen-gen lipogenik (Chen et al., 2016).

1.2.5 Uji Fenotipe

Pengukuran morfometrik, khususnya panjang dan lebar larva, merupakan metode utama untuk menilai status pertumbuhan, akumulasi cadangan energi, dan fenotipe obesitas pada model serangga. Parameter ini krusial karena ukuran tubuh secara langsung mencerminkan status nutrisi dan pertumbuhan, di mana larva yang lebih besar cenderung memiliki simpanan lemak (trigliserida) yang lebih banyak. Oleh karena itu, dimensi tubuh sering digunakan sebagai proksi yang andal untuk obesitas atau pertumbuhan berlebih. Korelasi ini didukung oleh temuan bahwa larva dengan kadar lemak tinggi tidak hanya berukuran lebih besar tetapi juga memiliki densitas tubuh yang lebih rendah. Selain untuk studi metabolik, pengukuran morfometrik ini juga penting untuk menentukan stadium perkembangan secara akurat dan memantau dampak spesifik dari diet atau manipulasi genetik terhadap laju pertumbuhan (Lee et al., 2021).

1.3 Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah larva lalat buah dapat digunakan sebagai platform skrining senyawa antiobesitas. Selanjutnya untuk mengetahui efektivitas dan potensi ekstrak sambiloto dalam mengatasi obesitas pada larva lalat buah. Manfaat dari penelitian ini diharapkan ada sebuah platform pengujian senyawa antiobesitas menggunakan larva lalat buah serta inovasi dalam bidang penelitian.

BAB II

METODOLOGI PENELITIAN

2.1. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April hingga Agustus 2024 di Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin. Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia mencakup ekstraksi dan uji kromatografi lapis tipis (KLT), Laboratorium Farmakologi-Toksikologi mencakup penyiapan dan pemeliharaan hewan uji serta uji in vivo, serta Laboratorium Biofarmaka untuk analisis kadar kolesterol.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam riset ini antara lain gelas laboratorium, gel silika, lempeng KLT, mikropipet (Dragonlab®), papan CO2 (CO2 stage), pipa kapiler (Onemed®), plugs *Drosophila* (Biologix®), *vial* (Biologix®), dan *zoom stereo microscope* (Motic®). Bahan yang digunakan dalam riset ini antara lain aluminium foil, *aquadest*, asam propionat, *brewer's yeast* (Health Paradise®), *cornmeal* (Mugo®), *D. melanogaster* (FB-GAL4; UAS GFP), etanol 96% (Onemed®), etil asetat (Schuchardt®), gas CO2, gula (Gulaku®), metil paraben, *virgin coconut oil* (Concos®), n-heksan, dan sambiloto yang telah dideterminasi.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan pendekatan empiris yang didasarkan pada metode eksperimental. Fokus utama dari studi ini adalah untuk mengevaluasi potensi larva lalat buah (*D. melanogaster*) sebagai model hewan uji yang efisien dalam penanganan obesitas. Eksperimen ini secara khusus dirancang untuk menguji efektivitas ekstrak sambiloto (*A. paniculata*) sebagai senyawa antiobesitas dalam sistem model tersebut.

2.4 Prosedur Penelitian

2.4.1 Ekstraksi

Proses pembuatan ekstrak kental sambiloto untuk penggunaan penelitian melibatkan beberapa tahapan krusial yang terkontrol. Tahap awal adalah herba sambiloto disortir, dicuci, dan dikeringkan menggunakan oven sebelum digiling menjadi simplisia halus, di mana proses penghalusan dilakukan bertahap untuk mencegah degradasi senyawa aktif akibat panas. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dalam proses ini, serbuk simplisia direndam dalam etanol 96% selama 1 pekan pada suhu ruang dengan pengadukan sesekali. Filtrat yang diperoleh kemudian disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu terkontrol hingga diperoleh ekstrak kental. Efisiensi ekstraksi dievaluasi melalui penghitungan rendemen dengan rumus $(\text{berat ekstrak kental} / \text{berat serbuk simplisia awal}) \times 100\%$, di mana ekstraksi etanol 96% pada daun sambiloto biasanya menghasilkan rendemen sekitar 6%.

Terakhir, uji kualitas ekstrak dilakukan, salah satunya menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT), untuk mengidentifikasi senyawa aktif utama seperti andrografolid. Ekstrak ditotolkan pada pelat silika gel, dikembangkan dengan fase gerak, dan dideteksi untuk memastikan keberadaan senyawa target berdasarkan nilai R_f spesifiknya (Hita et al., 2022).

2.4.2 Penyiapan Hewan Uji

Prosedur persiapan larva lalat buah mengikuti langkah-langkah yang telah distandarisasi untuk menjamin validitas hasil. Langkah-langkah utama ini meliputi pemeliharaan kultur stok, sinkronisasi larva, dan pembuatan media DTL. Kultur stok lalat buah dipelihara secara konsisten pada media diet standar. Pemeliharaan ini dilakukan dalam kondisi lingkungan yang terkontrol ketat, yakni pada suhu 25°C, kelembaban 60%, dan siklus terang-gelap 12:12 jam. Untuk memastikan keseragaman usia dan tahap perkembangan pada kelompok perlakuan, sinkronisasi larva menjadi tahap krusial. Proses ini biasanya dilakukan dengan mengumpulkan larva instar kedua (L2) yang baru menetas dalam rentang waktu yang sangat spesifik. Setelah populasi larva yang seragam secara usia ini diperoleh, mereka kemudian dipindahkan ke media perlakuan untuk memulai penelitian (Baenas dan Wagner, 2022).

2.4.3 Induksi Diet Tinggi Lemak (DTL) dan Diet Ekstrak Sambiloto

Prosedur induksi diet tinggi lemak (DTL) pada lalat buah dilakukan dengan menyiapkan media diet standar yang terdiri dari air, agar, sukrosa, dan ragi, kemudian dimodifikasi dengan penambahan minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil* atau VCO) sebanyak 10% untuk menghasilkan media DTL yang efektif menginduksi obesitas pada lalat buah. Setelah media tercampur homogen dan mengeras, larva *D. melanogaster* yang telah disinkronisasi ditempatkan pada media DTL sebagai kelompok kontrol obesitas. Untuk penambahan ekstrak sambiloto, ekstrak dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut etanol 96%. Ekstrak sambiloto kemudian dicampurkan ke dalam media DTL pada dosis 0.04, 0.08, dan 0.16 lalu diaduk hingga tercampur merata, memastikan distribusi ekstrak homogen dalam media. Larva lalat buah selanjutnya ditempatkan pada media DTL yang mengandung ekstrak sambiloto sesuai dosis perlakuan, sedangkan kelompok kontrol tetap pada media DTL tanpa ekstrak. Prosedur ini memungkinkan pengujian efek ekstrak sambiloto terhadap model obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak pada *D. melanogaster* secara terstandar dan konsisten (Nainu et al., 2024).

2.4.4 Uji Fenotipe

Prosedur pengukuran indikator efek antiobesitas pada lalat buah dilakukan melalui dua metode utama, yaitu uji aktivitas lokomotor (*crawling assay*) dan uji morfometrik. Pada uji aktivitas lokomotor, larva lalat buah ditempatkan pada cawan petri yang dialasi kertas mikrometer dan pergerakannya direkam untuk mengukur jarak pergerakan dalam waktu 1 menit. Hasil aktivitas *crawling* dari kelompok

perlakuan diet tinggi lemak (DTL) saja, diet normal, dan kelompok yang mendapat ekstrak sambiloto kemudian dicatat dan dibandingkan untuk menilai pengaruh perlakuan terhadap kemampuan gerak larva, yang merupakan salah satu indikator status metabolik dan obesitas. Sementara itu, uji morfometrik dilakukan dengan mengambil gambar larva menggunakan mikroskop stereo, lalu mengukur panjang dan lebar larva menggunakan perangkat lunak analisis gambar seperti ImageJ. Data ukuran larva dari semua kelompok perlakuan dikumpulkan untuk dianalisis, sehingga perubahan morfologi akibat diet atau perlakuan dapat diamati secara kuantitatif. Kedua metode ini merupakan prosedur standar yang banyak digunakan dalam penelitian antiobesitas pada *D. melanogaster* untuk mengevaluasi efek intervensi diet maupun senyawa bioaktif (Eickelberg et al., 2022).

2.4.5 Analisis Kadar Kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol total pada larva dilakukan untuk menilai perubahan metabolisme lipid akibat perlakuan DTL dan pengaruh ekstrak sambiloto terhadap penurunan kolesterol. Kolesterol merupakan komponen lipid penting yang banyak dipakai sebagai indikator status metabolik dan risiko gangguan terkait lemak pada hewan percobaan, termasuk *D. melanogaster* (Serrano et al., 2024). Metode yang digunakan adalah metode kolorimetri enzimatis CHOD-PAP (*cholesterol oxidase–peroxidase aminoantipyrine phenol*). Pada metode ini, kolesterol ester dihidrolisis oleh kolesterol esterase menjadi kolesterol bebas, kemudian dioksidasi oleh kolesterol oksidase membentuk kolestenon dan H_2O_2 . Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan fenol dengan bantuan enzim peroksidase membentuk senyawa berwarna yang memiliki serapan maksimum sekitar 500 nm (Alaseem et al., 2025).

2.5 Pengamatan dan Pengukuran

Proses pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan mencatat seluruh hasil kuantitatif dari uji fenotipe, seperti panjang dan lebar larva lalat buah, serta kecepatan merayap (*crawling*). Data yang terkumpul kemudian dianalisis secara deskriptif kuantitatif untuk memberikan gambaran umum mengenai perbedaan antar kelompok perlakuan. Selanjutnya, analisis statistik dilakukan menggunakan aplikasi SPSS dengan metode Anova *One-way* untuk membandingkan rata-rata hasil dari berbagai kelompok perlakuan, seperti kelompok diet tinggi lemak, diet normal, dan kelompok yang mendapat perlakuan ekstrak. Jika hasil Anova menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji lanjutan (*post hoc*), untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Penggunaan uji statistik ini telah menjadi standar dalam penelitian biologi dan model lalat buah untuk memastikan validitas hasil dan mengidentifikasi efek perlakuan secara objektif (Agbangba et al., 2024).