

## INTISARI

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) secara tradisional telah banyak digunakan untuk pengobatan diabetes melitus (DM), terutama DM tipe-2. Namun, mekanisme molekulnya sebagai agen antidiabetes belum sepenuhnya diketahui. Komponen utama dalam herba sambiloto adalah andrografolid. Penelitian ini bertujuan untuk menelusur mekanisme isolat andrografolid dari sambiloto sebagai agen antidiabetes pada sel 3T3-L1 adiposit terhadap *uptake* glukosa dan ekspresi gen *PPAR $\gamma$*  dan *GLUT-4* pada tingkat mRNA. Gen-gen tersebut diketahui berhubungan dengan peningkatan *signaling* dan sensitivitas insulin. Mekanisme andrografolid sebagai antidiabetes akan dibandingkan dengan obat antidiabetes; pioglitazon dan herbal fitofarmaka; inlacin (DLBS3233).

Isolat andrografolid diperoleh dari hasil isolasi mandiri oleh peneliti pada penelitian sebelumnya dengan konsentrasi uji aktivitas yang dipilih adalah 5, 10, dan 20  $\mu\text{g/mL}$ . Subyek uji menggunakan sel 3T3-L1 yang akan didiferensiasi menjadi sel adiposit matang dengan menambahkan insulin, deksametason dan 3-isobutil-1-metilxantin (IBMX) atau induktor hormonal MDI. Indikator diferensiasi dengan mengukur ekspresi gen *adiponektin* dan *C/EBP $\alpha$*  serta pengukuran akumulasi lipid dengan *ORO Staining Assay*. Aktivitas *uptake* glukosa dan ekspresi gen *PPAR $\gamma$*  dan *GLUT-4* diujikan terhadap kelompok pioglitazon (0,008  $\mu\text{g/mL}$ ), inlacin (5  $\mu\text{g/mL}$ ) dan isolat andrografolid. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak *IBM SPSS Statistic ver. 25* dengan uji *oneway ANOVA* atau *Mann whitney*.

Diferensiasi sel pre-adiposit menjadi *early* adiposit terjadi tiga hari setelah induksi MDI dengan indikator hasil menunjukkan peningkatan ekspresi gen *adiponektin* dan *C/EBP $\alpha$*  yang signifikan dibanding kelompok pre-adiposit ( $p < 0,05$ ). Sel dipertahankan dengan insulin untuk dapat terdiferensiasi menjadi *mature* adiposit (matang) selama sepuluh hari, dengan indikator hasil menunjukkan peningkatan ekspresi gen *PPAR $\gamma$*  ( $p < 0,05$ ). Sel 3T3-L1 yang telah terdiferensiasi mempunyai bentuk sel, ukuran dan droplet lipid yang lebih besar dibanding preadiposit dengan hasil akumulasi lipid meningkat 3 kali lebih besar ( $p < 0,05$ ). Pengujian isolat andrografolid dengan dosis 5, 10, 20  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan peningkatan *uptake* glukosa, peningkatan ekspresi gen *PPAR $\gamma$*  dan *GLUT-4* secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kontrol sel (DMSO). Isolat andrografolid 20  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan hasil peningkatan ekspresi gen paling tinggi. Secara statistik peningkatan ekspresi gen yang ditunjukkan andrografolid 20  $\mu\text{g/mL}$  berbeda secara signifikan ( $p < 0,05$ ) bila dibandingkan dengan pioglitazon 0,008  $\mu\text{g/mL}$  dan inlacin 5  $\mu\text{g/mL}$ . Kesimpulannya, isolat andrografolid menunjukkan kemampuan dalam meningkatkan penyerapan glukosa yaitu melalui peningkatan ekspresi *PPAR $\gamma$*  dan *GLUT-4* pada tingkat mRNA; dengan demikian, andrografolid memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen antidiabetes.

Kata kunci : *Andrographis paniculata*, Andrografolid, Sel 3T3-L1, *PPAR $\gamma$* , *GLUT-4*.

## ABSTRACT

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees) has traditionally been used to treat diabetes mellitus (DM), particularly type 2. However, its molecular mechanism as an anti-diabetic agent was not fully understood. Andrographolide was the primary constituent of *A. paniculata* herbs. This study aimed to investigate the mechanism of andrographolide isolate from sambiloto as an antidiabetic agent in 3T3-L1 adipocytes on glucose uptake and *PPAR* $\gamma$  and *GLUT-4* gene expression at the mRNA level. These genes were known to be associated with increased insulin signalling and sensitivity. The mechanism of andrographolide as antidiabetic will be compared with antidiabetic drugs; pioglitazone and phytopharmaca herbs; inlacin (DLBS3233).

In a previous study, researchers obtained andrographolide isolate through direct isolation at concentrations of 5, 10, and 20  $\mu\text{g/mL}$ . 3T3-L1 cells were used in the study, which were differentiated into mature adipocytes with insulin, dexamethasone, and 3-isobutyl-1-methylxanthine (IBMX), also known as the MDI agent. Indicator of differentiation measured by *adiponectin* and *C/EBP* $\alpha$  genes expression, as well as lipid accumulation measured by the ORO Staining Assay. Pioglitazone (0.008  $\mu\text{g/mL}$ ), inlacin (5  $\mu\text{g/mL}$ ), and andrographolide were used to test glucose uptake activity as well as *PPAR* $\gamma$  and *GLUT-4* genes expression. The collected data were statistically analyzed using IBM SPSS Statistics software version 25 by oneway ANOVA or the Mann Whitney test.

Three days after MDI induction, pre-adipocytes differentiated into early adipocytes, with the result indicator demonstrating a significant increase in *adiponectin* and *C/EBP* $\alpha$  genes expression compared to the control group ( $p < 0.05$ ). Cells were maintained with insulin to differentiate into mature adipocytes for ten days, with the result indicator showing an increase in *PPAR* $\gamma$  and *GLUT-4* genes expression ( $p < 0.05$ ). Differentiated 3T3-L1 cells had larger cell shape, size, and lipid droplets than pre-adipocytes, resulting in three times more lipid accumulation ( $p < 0.05$ ). Tests with andrographolide isolate at doses of 5, 10, and 20  $\mu\text{g/mL}$  revealed a significant ( $p < 0.05$ ) increase in glucose uptake, as well as an increase in *PPAR* $\gamma$  and *GLUT-4* genes expression compared to the control cells (DMSO). Andrographolide 20  $\mu\text{g/mL}$  showed the highest increase in genes expression. Statistically, the increase in gene expression indicated by andrographolide 20  $\mu\text{g/mL}$  was significantly different ( $p < 0.05$ ) than pioglitazone 0.008  $\mu\text{g/mL}$  and inlacin 5  $\mu\text{g/mL}$ . In conclusion, andrographolide was demonstrated to improve glucose uptake by increasing *PPAR* $\gamma$  and *GLUT-4* mRNA levels; thus, it has the potential to develop as an antidiabetic therapeutic agent.

**Keywords:** *Andrographis paniculata*, Andrographolide, 3T3-L1 cells, *PPAR* $\gamma$ , *GLUT-4*.