

## INTISARI

Herba sambiloto [(*Andrographis paniculata* (Burm., f) Ness)] secara tradisional telah banyak digunakan sebagai andiabetes, namun mekanisme aksi komponen senyawa dalam herba sambiloto pada tingkat molekuler dalam menurunkan glukosa darah belum banyak diketahui. Deoksiandrografolid merupakan salah satu komponen senyawa diterpenoid terbesar yang berada dalam herba sambiloto. Penelitian ini bertujuan untuk menelusur potensi Deoksiandrografolid sebagai antidiabetes pada sel 3T3-L1 adiposit terhadap *uptake* glukosa, serta peningkatan regulasi PPAR $\gamma$  dan GLUT-4 yang merupakan gen-gen yang berhubungan dengan peningkatan *signaling* dan sensitivitas insulin. Deoksiandrografolid diperoleh dari hasil isolasi herba sambiloto, kemudian dibandingkan dengan obat Pioglitazon dan obat bahan alam Inlacin yang dikenal dengan mekanismenya dalam meningkatkan translokasi GLUT-4 (*glucose transporter*) dari sitoplasma menuju membran dan *upregulator* PPAR $\gamma$ .

Isolat Deoksiandrografolid diidentifikasi menggunakan KLT dengan menggunakan baku pembanding Deoksiandrografolid, kemudian dilakukan *scanning* panjang gelombang, pembacaan titik lebur, pembacaan gugus fungsi dengan spektrometer IR, dan konfirmasi fragmen dengan LC-MS. Uji kemurnian isolat dilakukan dengan menggunakan HPLC. Toksisitas isolat Deoksiandrografolid kemudian diujikan terhadap sel 3T3-L1. Diferensiasi sel adiposit dilakukan dengan menggunakan dexametason, *3-isobutil-1-metilxantin* (IBMX) dan insulin. Hasil diferensiasi sel preadiposit menjadi sel adiposit dipastikan dengan pengujian regulasi gen adiponektin dan C/EBP $\alpha$  pada hari ketiga setelah diferensiasi, serta pengujian terhadap akumulasi lipid yang dilakukan pada hari kesepuluh setelah diferensiasi dengan pewarnaan ORO. Aktivitas *uptake* glukosa, regulasi PPAR $\gamma$  dan GLUT-4 diujikan terhadap masing-masing kelompok pengujian. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA *oneway* atau *Kruskall Wallis-Mann Whitney*.

Pengujian isolat Deoksiandrografolid dengan dosis 2,5  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$  terhadap sel 3T3-L1 tidak menunjukkan adanya toksisitas, namun pada dosis di atas 25  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan adanya toksisitas sel. Diferensiasi sel pada hari ketiga menunjukkan peningkatan regulasi gen adiponektin dan C/EBP $\alpha$  yang signifikan dibanding preadiposit ( $p < 0,05$ ), sedangkan pada hari kesepuluh juga menunjukkan bentuk, ukuran dan droplet lipid yang lebih besar jika dibandingkan dengan sebelum sel didiferensiasi. Akumulasi lipid juga meningkat 300% atau berbeda signifikan dibandingkan dengan preadiposit ( $p < 0,05$ ). Isolat Deoksiandrografolid 2,5  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$  dan 10  $\mu\text{g/ml}$  dengan analisis ANOVA *oneway* dan menunjukkan peningkatan *uptake* glukosa, peningkatan regulasi PPAR $\gamma$  dan GLUT-4 pada level mRNA yang signifikan dibandingkan kontrol. Isolat Deoksiandrografolid 5  $\mu\text{g/ml}$  menunjukkan hasil regulasi yang paling signifikan jika dibandingkan dengan Pioglitazon 0,008  $\mu\text{g/ml}$  dan Inlacin 5  $\mu\text{g/ml}$  ( $p < 0,05$ ).

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

## **ABSTRACT**

The bitter herbs: sambiloto [*Andrographis paniculata* (Burm., F) Ness] had traditionally been widely used as anti-diabetic, however, the mechanism of its components in lowering blood glucose were unknown. Deoxyandrographolide was the one of the major component in sambiloto herbs. This study discusses the potential of Deoxyandrographolide which isolated from sambiloto herbs as an anti-diabetic agent in adipocytes 3T3-L1 cells by enhancing regulation of PPAR $\gamma$  and GLUT-4 genes associated with increased insulin signaling and sensitivity compared to Pioglitazone as a drug standard and Inlacin as a natural standard by its mechanism in GLUT-4 (glucose transporters) translocation from the cytoplasm of the membrane and PPAR $\gamma$  upregulators.

Deoxyandrographolide isolates had been identified by TLC and it confirmed by Deoxyandrographolide standard, scanning the wavelength, melting point assay, IR assay and LC-MS assay. The purities of Deoxyandrographolide isolates was also carried out using HPLC. The toxicity of the Deoxyandrographolide isolates from the sambiloto were tested in 3T3-L1 cells. Differentiation of adipocyte cells was carried out using dexamethasone, 3-isobutyl-1-methylxanthin (IBMX) and insulin. The differentiation of adipocyte cells results were confirmed by adiponectin and C/EBP $\alpha$  genes assay on the third day after differentiation and on the tenth day after differentiation were tested with ORO staining assay. The regulation of PPAR $\gamma$  and GLUT-4 were tested on each test groups. The data results were analyzed by using ANOVA oneway or Kruskal Wallis-Mann Whitney statistics tests.

The Deoxyandrographolide isolates in 2.5  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$  did not show the cell toxicities, however the toxicities of Deoxyandrographolide isolates with the concentration more than 25  $\mu\text{g/ml}$  still exist. The cells differentiation on the third day increase the ratio of the adiponectin and C/EBP $\alpha$  genes' regulation significantly compared to preadipocytes ( $p < 0.05$ ). The Deoxyandrographolide isolates with the concentration 2,5  $\mu\text{g/ml}$ , 5  $\mu\text{g/ml}$  and 10  $\mu\text{g/ml}$  were analyzed by oneway ANOVA analysis showed a significant increase in uptake glucose, PPAR $\gamma$  and GLUT-4 mRNA levels compared to control ( $p < 0.05$ ). The biggest significant effect came from the Deoxyandrographolide isolates 5  $\mu\text{g/ml}$  compared to Pioglitazone 0,008  $\mu\text{g/ml}$  dan Inlacin 5  $\mu\text{g/ml}$ .

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