

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Mengonsumsi makanan tinggi lemak (HFD) masih menjadi kebiasaan dan termasuk faktor pemicu utama munculnya obesitas pada sebagian besar orang dewasa. Padahal *World Health Organization* (WHO) sudah merekomendasikan untuk tidak mengonsumsi lemak lebih dari 30% (L. Wang et al., 2020). Obesitas termasuk ke dalam kasus global dengan kasus penderita dewasa sejak tahun 2016 mencapai lebih dari 650 juta jiwa (WHO, 2021). Kasus tersebut diprediksi akan terus meningkat hingga 2030 dengan taksiran peningkatan sebesar 17,5% atau sekitar 1 miliar penderita di dunia (Federation, 2022).

Selain mendorong terbentuknya masalah obesitas, HFD juga menjadi pencetus munculnya masalah kardiovaskular yang diperantarai oleh hiperlipidemia berupa peningkatan trigliserida, penurunan *high density lipoprotein* (HDL) dan peningkatan *low density lipoprotein* (LDL) (Klop et al., 2013; Nelson, 2013). Dalam jangka panjang, hiperlipidemia memicu komplikasi penyakit kronis lain, ditandai oleh munculnya stres oksidatif, dislipidemia aterogenik, biomarker *C-reactive protein* (CRP) serta faktor pro inflamasi pendukung (Lasker et al., 2019; Ridker, 2012). Penyakit kronis lain seperti arteriosklerosis disebabkan oleh aktivasi sitokin IL-6 dan 18 (Basiak et al., 2022). Kenaikan kadar IL-6 dan IL-18 juga dibuktikan melalui penelitian sebelumnya. Tikus yang mendapatkan HFD selama 8 minggu mengalami kenaikan signifikan pada kadar IL-6 yang didukung dengan

adanya penebalan pembuluh darah dibandingkan tikus yang diberi pakan standar (Ahmadwirawan et al., 2021). Sementara IL-18 ditemukan lebih tinggi beserta komplikasi kalsifikasi di pembuluh darah pada tikus yang diberikan HFD (Y. Zhang et al., 2021).

Kenaikan kasus obesitas diprediksi akan meningkat sejalan dengan kejadian kasus hiperlipidemia. Untuk kawasan Asia, kejadian hiperlipidemia menjadi kasus tertinggi dunia. Angka kematian karena hiperlipidemia mencapai sekitar 100 ribu jiwa termasuk di Indonesia (Lee et al., 2021). Peningkatan tersebut umumnya berhubungan dengan semakin bertambahnya usia dan jenis kelamin pria sangat rentan terserang (Lin et al., 2018).

Perbaikan masalah hiperlipidemia secara umum dilakukan dengan cara modifikasi gaya hidup dan terapi menggunakan obat kimia (Natesan & Kim, 2021). Kurang berolahraga dan diet tidak seimbang menjadi faktor yang sulit diperbaiki oleh sebagian besar dindividuu. Dengan demikian, memodifikasi gaya hidup agar lebih sehat masih menjadi tantangan berat (Alshammari et al., 2020). Statin menjadi terapi inisial yang sering digunakan untuk mencegah masalah kardiovaskuler karena hiperlipidemia berupa peningkatan kolesterol (Natesan & Kim, 2021). Namun terapi statin seringkali tidak efektif pada pasien dengan hipertrigliseridemia. Pasien dengan komplikasi arteriosklerosis juga mendapatkan statin dengan dosis rendah (Natesan & Kim, 2021). Terapi lainnya yaitu menggunakan Orlistat yang bekerja dengan cara menghambat enzim gastrik dan pankreas. Penghambatan enzim tersebut akan mencegah penyerapan lemak sehingga mengurangi *intake* kalori (Medicine, 2012). Tetapi, terdapat efek samping

pada penghambatan enzim berupa defisiensi absorpsi vitamin D dan E. Oleh karena itu penggunaan Orlistat dalam jangka panjang berisiko menyebabkan masalah kesehatan lain seperti gangguan kesehatan kulit dan tulang (Filippatos et al., 2008).

Solusi yang paling berpotensi mencegah hiperlipidemia yaitu dengan mengurangi akumulasi lemak tubuh, terutama dalam kondisi obesitas. Perubahan proses metabolisme lipid yang menyebabkan hiperlipidemia terjadi karena gangguan hormonal dan kontrol nafsu makan. Hal tersebut kemudian mendorong peningkatan akumulasi lemak di adiposit (Maradonna & Carnevali, 2018). Studi lain juga menjelaskan bahwa hiperlipidemia terbentuk akibat defisiensi protein *thermogenesis regulator* yaitu *uncoupling protein-1* (UCP-1). Defisiensi UCP-1 menyebabkan terganggunya reaksi termogenesis sehingga produksi panas untuk lipolisis dan pembakaran kalori berkurang (Kataoka et al., 2020). Kondisi tersebut kemudian berlanjut menyebabkan penurunan fungsi dari UCP-1 (Fromme & Klingenspor, 2011).

Memperbaiki fungsi UCP-1 akan mempertahankan fungsi termogenesis adaptif sehingga berat badan ideal dapat dihasilkan dengan metode yang efektif dan efisien (Rosenbaum & Leibel, 2013). Termogenesis adaptif terbentuk dari banyak proses pensinyalan yang berlangsung di jaringan adiposa coklat (Z. Zhang et al., 2021). Untuk menghasilkan termogenesis adaptif, tidak dibutuhkan adanya aktivitas fisik dari otot atau sering dikenal dengan istilah *non-shivering* (Luginbuehl et al., 2011). Termogenesis adaptif berperan penting dalam homeostatis energi di dalam tubuh (Z. Wang et al., 2021). Secara rinci termogenesis yang berlangsung di adiposit diaktivasi oleh UCP-1 sehingga menyebabkan adanya

difusi proton ke dalam membran mitokondria. Proton yang masuk ke dalam membran ini akan dikonversi menjadi panas. Sementara beberapa lipid di mitokondria seperti: cardiolipin (CL), 12,13-diHome, plasmalogens, *free fatty acid* (FFA), keton dan *acylcarnitis* berperan penting dalam mendukung berlangsungnya termogenesis (Bank et al., 2021).

Mekanisme termogenesis diatur melalui pensinyalan adrenergik. Reseptor adrenergik dibagi menjadi 2 jenis yaitu  $\alpha$  dan  $\beta$ . Stimulasi reseptor adrenergik  $\beta$  akan memicu aktivitas lipolisis dan menghambat aktivitas enzim lipoprotein lipase. Sedangkan stimulasi reseptor adrenergik  $\alpha$  akan menghambat mobilisasi sel lemak (Smith, 1983). Jalur stimulasi reseptor adrenergik  $\beta$  di adiposit terhubung dengan aktivasi adenylyl siklase yang akan menstimulasi *Adenosine Monophosphat-activated Protein Kinase* (AMPK) dan *triagliserol lipase* (Fain & Garcia Sainz, 1983). Sementara stimulasi adrenergik  $\alpha$  akan meregulasi proses *gluconeogenesis* dan ketogenesis melalui hormon neurotransmitter seperti katekolamin. Induksi jalur tersebut menghasilkan bahan baku untuk kebutuhan energi saat tubuh merespon stress (T. Shi et al., 2017).

Banyak studi yang menjelaskan bahwa tanaman herbal dipakai sebagai pilihan untuk meningkatkan termogenesis secara alami dalam tubuh. Hal tersebut karena pemanfaatan herbal dipercaya memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat farmasi terutama untuk mengurangi masalah komplikasi karena obesitas (Chien et al., 2016). Selain itu terdapat studi yang menjelaskan bahwa agen terapi kimia berpotensi memicu efek samping berupa hepato dan kardio toksisitas (Zu et al., 2021).

Pemanfaatan herbal yang sudah diteliti berupa uji ekstrak maupun analisis setiap senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman. Beberapa diantaranya seperti daun teh hijau telah dibuktikan memiliki efek meningkatkan termogenesis melalui jaringan adiposa coklat. Tanaman lainnya seperti *Kaempferia Parviflora*, *Aframomum Melegueta* dan daun teh oolong (Payab et al., 2019). Studi analisis salah satu senyawa polifenol *Trans-resveratrol* (R) yang diperoleh dari kulit anggur merah, blueberry, raspberi dan mulberi terbukti efektif dalam produksi termogenesis (Zu et al., 2021). *Moringa Oleifera* atau dikenal dengan daun kelor berpotensi meningkatkan termogenesis yang dibuktikan dengan adanya peningkatan adiposa coklat yang diperantarai oleh ekspresi UCP-1 (Syamsunarno et al., 2021). Tetapi meskipun sudah ada kandidat herbal yang dipelajari mampu memproduksi termogenesis, studi eksplorasi terhadap tanaman di Indonesia masih perlu ditingkatkan. Terutama tanaman yang menjadi ciri khas dan banyak tumbuh di area Kalimantan Barat.

*Mitragyna speciosa* (*M. speciosa*) atau dikenal sebagai Kratom termasuk salah satu tanaman yang sangat mudah ditemukan di Kalimantan Barat (Novindriani et al., 2021). Tanaman ini diolah masyarakat menjadi minuman penambah stamina, mengurangi nyeri, rematik dan asam urat. Sedangkan untuk mencegah masalah kardiovaskuler, masyarakat mempercayai *M. speciosa* sebagai ramuan untuk hipertensi, stroke dan kolesterol (Wahyono et al., 2019). Saat ini *M. speciosa* banyak dicari oleh negara di luar Indonesia sebagai bahan baku untuk suplemen diet (Obeng et al., 2020). *M. speciosa* dikelompokkan pemerintah

Indonesia sebagai tanaman herbal dengan efek narkotika dan dapat menyebabkan ketergantungan (Maharani & Prasetyo, 2020).

*M. speciosa* memiliki lebih dari 50 kandungan alkaloid, salah satunya yang populer yaitu *Mitragynine* (Flores-Bocanegra et al., 2020). Efek analgesik dan antiinflamasi merupakan sifat alkaloid dari *Mitragynine* yang sudah banyak dikaji dalam berbagai studi. Studi Matsumoto et al. (1997) menjelaskan bahwa efek analgesik *Mitragynine* dihasilkan melalui adanya induksi terhadap antinosiseptif di otak dan melibatkan sebagian dari mekanisme opioid supraspinal (Matsumoto et al., 1996).

Sedangkan efek antiinflamasi dihasilkan *Mitragynine* dengan cara mengurangi ekspresi COX-1 dan 2 (Utar et al., 2011). Sifat antiinflamasi dari *Mitragynine* juga bekerja secara spesifik mengurangi penyebab masalah pada pembuluh darah seperti malfungsi makrofag, fibroblast dan unsur vasodilator (Shaik Mossadeq et al., 2009). *Mitragynine* juga pernah diteliti memiliki efek anti obesitas dan hiperglikemia melalui studi *in vitro* menggunakan ekstrak *M. speciosa*. Terhadap aktivitas enzim lipase, *Mitragynine* bekerja sebagai aktivator (*competitive inhibitor*) pada rentang dosis 0-100 µg/mL (Limcharoen et al., 2022). Enzim lipase meregulasi asam lemak di jaringan adiposa untuk mempertahankan termogenesis (Duta-mare et al., 2018).

Studi *in vitro* yang lain menjelaskan bahwa *Mitragynine* dalam ekstrak *M. speciosa* dapat bekerja sebagai parsial agonis pada reseptor adrenergik  $\alpha_1a$  dan d. Selain itu bekerja sebagai antagonis kompetitif pada reseptor adrenergik  $\alpha_1a$ ,  $\alpha_1b$ ,

$\alpha$ 1d dan  $\alpha$ 12c. Hasil uji *in vitro* juga didukung dengan screening menggunakan metode *docking* yang menunjukkan ikatan energi negatif pada reseptor adrenergik  $\alpha$ 1b,  $\alpha$ 1d,  $\alpha$ 2a, dan  $\alpha$ 2b (Obeng et al., 2020). Aktivasi reseptor adrenergik  $\alpha$ 1 diketahui dapat menginduksi ekspresi gen termogenik yang akan menghasilkan proses termogenesis di adiposit (Borst et al., 1994; Rahbani et al., 2022).

Selain pada reseptor adrenergik, *Mitragynine* diketahui berinteraksi kuat menstimulasi reseptor  $\mu$ -opioid (Obeng et al., 2020). Alkaloid lain dalam *M. speciosa* yaitu *7-Hydroxymitragynine* juga dapat berikatan dengan reseptor  $\mu$ -opioid dan memiliki afinitas lebih tinggi dibandingkan *Mitragynine* (Obeng et al., 2021). Stimulasi terhadap reseptor  $\mu$ -opioid dapat memicu masalah kesehatan yaitu depresi pernapasan, sedasi, halusinasi, mual, retensi urin, dan konstipasi (Stein, 2013). Oleh karena hal tersebut, maka tumbuhan *M. speciosa* digolongkan ke dalam jenis opium. Selain digolongkan ke dalam jenis opium, peneliti juga telah mempelajari bahwa alkaloid *Mitragynine* dapat memicu kardiotoxicitas dengan menghambat ekspresi protein channel hERG1a yang bertugas dalam aktivitas kelistrikan jantung (Tay et al., 2019). Meskipun demikian ada pendapat yang menjelaskan bahwa *Mitragynine* tidak memicu toksisitas pada gen meskipun dalam dosis yang sangat tinggi (Saidin et al., 2015).

Hasil penelusuran melalui situs ProTox II – *Prediction of Toxicity of Chemical* (tox-new.charite.de), ditemukan bahwa *Mitragynine* masuk ke dalam zat toksik kelas 3 yang berarti *Mitragynine* berbahaya jika tertelan dalam rentang dosis 300 – 2000 mg/kg. Selain itu dalam situs tersebut juga memprediksi bahwa *Mitragynine* memiliki potensi sebagai zat karsinogenik.

Hasil studi *in vivo* menjelaskan bahwa penggunaan ekstrak *M. speciosa* sebanyak 50 mg/kg berat badan (BB) efektif menekan kenaikan berat badan dan menurunkan *intake* makanan pada tikus dengan pakan standar selama 60 hari (Kumarnsit et al., 2006). Penekanan berat badan ini juga pernah diteliti menggunakan agonis (*norepinephrine*) reseptor adrenergik  $\beta$  pada tikus dengan dosis 0,25 mg/kg BB (Racotta & Soto-Mora, 1993). Tetapi penelitian *in vivo* lain yang menggunakan ekstrak *M. speciosa* pada tikus model diabetes dengan dosis 100 mg/kg BB menghasilkan perbaikan nafsu makan dan berat badan serta memperbaiki profil lipid pada tikus (P. Zhang et al., 2023). Studi menambahkan pemberian *M. speciosa* jika dengan dosis 200 mg/kg BB dilaporkan dapat menyebabkan kematian pada tikus (Azizi et al., 2010).

Maka dapat dijelaskan bahwa alkaloid *Mitragynine* dalam *M. speciosa* dapat berdampak positif untuk pencegahan hiperlipidemia melalui jalur aktivasi termogenesis. Tetapi juga ada efek negatif berupa potensi toksisitas dan stimulasi adiksi karena bersifat opium. Masalah ini membutuhkan solusi agar *Mitragynine* dapat terkirim spesifik ke target reseptor adrenergik yang diketahui berperan dalam aktivasi termogenesis. Mengenkapsulasi *M. speciosa* yang mengandung *Mitragynine* ke dalam bentuk nanopartikel bisa menjadi solusi alternatif.

Pengiriman nanopartikel telah dipelajari dalam studi sebelumnya dapat mengirimkan zat aktif *resveratrol* dengan menargetkan sel stromal adiposa. (Zu et al., 2021). Bahan enkapsulasi utama yang banyak digunakan dalam metode pengiriman bahan obat nanopartikel adalah polimer *chitosan*, diperoleh dari deasetilasi kitin (Wathoni et al., 2021). *Chitosan* diketahui bersifat lebih stabil,



sederhana, biokompatibel dan mudah didegradasi. Penggunaan *chitosan* dapat mengurangi penyerapan lemak di sistem pencernaan dengan cara mengikat kelompok karboksil lemak dan menetralkan lipid seperti kolesterol dan kelompok sterol lain melalui pengikatan hidrofobik (Ylitalo et al., 2002). Terdapat 3 gugus reaktif pada *chitosan* yaitu amina, hidroksil primer, dan hidroksil sekunder (Raftery et al., 2013).

*Chitosan* dapat larut dalam air dan bermuatan positif ketika berada di lingkungan dengan pH rendah  $< 6,5$ . Sebaliknya, *chitosan* akan kehilangan muatan menjadi tidak larut dalam air saat berada di lingkungan dengan pH  $> 6$  (Zargar et al., 2015). *Chitosan* yang bermuatan positif dapat berinteraksi dengan mudah melalui interaksi elektrostatik dengan molekul bermuatan negatif seperti fosfolipid, glukosaminoglikan dan proteoglikan (Raftery et al., 2013; Wulandari, 2019).

Bahan alami herbal yang sudah dipelajari menggunakan nanopartikel *chitosan* yaitu tangeretin dan etil kafeat. Kedua substansi herbal yang dimodifikasi bersama nanopartikel *chitosan* tidak memiliki efek sitotoksik dan menginduksi ekspresi gen SR-B1 dibandingkan bentuk tangeretin dan etil kafeat konvensional (non nanopartikel). Nanopartikel *chitosan* yang mengandung kedua bahan herbal tersebut lebih efektif mengurangi kadar profil lipid (Oksal et al., 2020).

Penggunaan *chitosan* sebagai polimer alami juga telah disetujui oleh *United States Food and Drug Administration* (US FDA) (Garg et al., 2019). Dengan mengkombinasikan *Mitragynine* dan *chitosan* sebagai pembungkus obat, maka terdapat kemungkinan nanopartikel ekstrak *M. speciosa* berpotensi bekerja lebih

aman dan efektif terhadap sel target yaitu adiposit dengan reseptor adrenergik. Sejauh penelusuran penulis, belum terdapat studi yang mempelajari fungsi *Mitragynine* sebagai stimulator termogenesis adaptif, terutama yang dikemas dalam bentuk nanopartikel. Selain itu dengan penambahan sodium alginat ke dalam suspensi bisa memberikan hasil ukuran nanopartikel yang lebih kecil (Amin & Boateng, 2022; Ibrahim et al., 2023). Agar nanopartikel dapat terkirim tertarget menuju reseptor adrenergik diperlukan modifikasi pembungkus yaitu dengan menambahkan polietilen glikol (PEG) (Barthe et al., 2020; Qiao et al., 2017a). Nanopartikel dengan kandungan PEG akan memiliki penghubung untuk proses konjugasi ligand meningkatkan ekspresi reseptor yang berada di permukaan sel (L. Shi et al., 2021).

Menganalisis efektifitas dan keamanan penggunaan dari nanopartikel dibutuhkan studi yang komprehensif. *Molecular Docking* menjadi pilihan *tool* yang efisien untuk memprediksi kemungkinan interaksi antara ligand dan protein spesifik (Innok et al., 2021). Proses prediksi terdiri atas beberapa klasifikasi aktivitas: agonis parsial atau penuh (aktivitas pensinyalan stimulasi), antagonis (pemblokiran sinyal) dan agonis inversi (penurunan sinyal) (Vilar et al., 2017). Untuk membuktikan hasil studi *docking* dapat dilanjutkan dengan melakukan verifikasi menggunakan percobaan *in vivo* (Malik et al., 2023; Zaidan et al., 2021). Subjek penelitian yang digunakan yaitu tikus yang diinduksi HFD dan diberikan terapi ekstrak *M. speciosa* menjadi nanopartikel dengan pembungkus *chitosan*, alginat, dan tambahan PEG. Memformulasikan ekstrak *M. speciosa* menjadi nanopartikel

berbasis biopolimer *chitosan*, alginat, dan tambahan PEG untuk stimulasi termogenesis adaptif pada tikus model HFD menjadi kebaruan dalam penelitian ini.

## **1.2. Pertanyaan Penelitian**

Hiperlipidemia berhubungan dengan obesitas yang dapat disebabkan oleh faktor defisiensi proses termogenesis. Pemulihan termogenesis menggunakan bahan herbal dari alkaloid *Mitragynine* menjadi alternatif yang bisa diterapkan untuk mencegah masalah hiperlipidemia terutama pada pasien obesitas. Namun pemanfaatan *Mitragynine* dari *M. speciosa* sebagai herbal pilihan untuk termogenesis masih perlu dilakukan penelitian. Terutama pemanfaatannya dalam bentuk pengiriman nanopartikel. Maka dari itu pertanyaan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah *Mitragynine* dapat berinteraksi dengan reseptor adrenergik menstimulasi termogenesis adaptif di dalam tubuh ?
2. Bagaimana memformulasikan dan mengevaluasi nanopartikel ekstrak *M. speciosa* berbasis biopolimer *chitosan*, alginat dan tambahan PEG untuk stimulasi termogenesis adaptif pada tikus yang diinduksi HFD ?
3. Apakah pemberian nanopartikel ekstrak *M. speciosa* dapat menstimulasi UCP-1 pada tikus yang diinduksi HFD ?
4. Apakah pemberian nanopartikel ekstrak *M. speciosa* pada kelompok tikus yang diinduksi HFD memiliki berat badan dan profil lipid yang lebih baik ?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini dibagi menjadi beberapa bagian:

#### **a. Tujuan Umum**

Memformulasikan dan mengevaluasi nanopartikel ekstrak *M. speciosa* sebagai stimulator termogenesis adaptif pada Tikus Model yang diinduksi HFD.

#### **b. Tujuan Khusus**

Tujuan khusus yang dicapai dari adanya pelaksanaan penelitian ini adalah:

1. Identifikasi interaksi *Mitragynine* terhadap reseptor adrenergik untuk menstimulasi termogenesis adaptif menggunakan uji *Molecular Docking (in silico study)*.
2. Memformulasikan dan mengevaluasi nanopartikel ekstrak *M. speciosa* berbasis biopolimer *chitosan*, alginat, dan tambahan PEG untuk stimulasi termogenesis adaptif pada tikus yang diinduksi HFD (*in vivo study*).
3. Menganalisis aktivitas UCP-1 setelah pemberian nanopartikel ekstrak *M. speciosa* pada tikus yang diinduksi HFD (*in vivo study*).
4. Menganalisis perubahan berat badan dan profil lipid tikus yang diinduksi HFD dan diberikan nanopartikel ekstrak *M. speciosa* (*in vivo study*).

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

##### 1. Aspek Teoritis

Penelitian ini bisa menjadi sumber referensi tambahan bagi dunia pendidikan khususnya pengetahuan tentang termogenesis adaptif pada kasus hiperlipidemia yang disebabkan oleh kebiasaan konsumsi HFD.

##### 2. Aspek Praktis

Penelitian ini bisa menjadi referensi untuk pengembangan penelitian selanjutnya di bidang termogenesis adaptif pada kasus hiperlipidemia karena kebiasaan konsumsi HFD.

#### **1.5. Keaslian Penelitian**

Penelitian ini memiliki keaslian dalam memformulasikan ekstrak *M. speciosa* menjadi nanopartikel berbasis biopolimer *chitosan*, alginat dan tambahan PEG. Pendekatan metode dilakukan dengan mengadopsi metode pembuatan nanopartikel dari penelitian sebelumnya yang tidak menggunakan ekstrak *M. speciosa*. Penelitian ini memiliki kontribusi orisinal dalam pengembangan teknologi formulasi nanopartikel ekstrak *M. speciosa* untuk menstimulasi proses termogenesis pada tikus yang diinduksi HFD.