

HIBAH RISET MADYA UI
TAHUN 2013

PENGARUH INHALASI MINYAK ATSIRI
KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*)
TERHADAP AKTIVITAS HORMON METABOLIK
PADA RESEPTOR SISTEM OLFAKTORI MENCIT

Kusmardi
Aryo Tedjo
Fadilah
Ade Arsianti

Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Pendahuluan

- ⦿ Obesitas menjadi masalah utama di banyak negara.
 - Prevalensinya makin meningkat.
 - 2008
 - 1,4 milyar penduduk dunia
 - (>20 tahun) kelebihan BB
 - > 500 juta obesitas.
 - 40 juta balita kelebihan BB
 - Peningkatan 2x lipat dari 1980.

Obesitas di Indonesia

- ◎ RISKESDAS 2007
 - prevalensi obesitas nasional adalah 19,1% (8,8% BB lebih dan 10,3% obese).
- ◎ RISKESDAS 2010
 - meningkat menjadi 21,7%
- ◎ Pada anak : kegemukan paling besar ditemukan pada balita (14%), terkecil pada usia 16-18 (1,4%)

Obesitas

- ⦿ Penyakit kronik
- ⦿ Meningkatkan risiko penyakit penyerta :
 - NIDDM
 - jantung,
 - kandung empedu,
 - osteoarthritis,
 - kanker kolon,
 - kanker payudara.

Penyebab Obesitas

- Multifaktor :
 - genetik
 - pola makan
 - psikis (stress)
 - aktivitas fisik
 - kerja otak (kognitif dan sensori)

Faktor Penyebab Obesitas

- Faktor kognitif :
kontrol rasional terhadap makanan (mis. pengaruh iklan dan kepercayaan)
- Faktor sensori :
rasa, bau, tekstur, dan penglihatan.
 - mendorong aktivitas otak
 - mengarahkan keinginan untuk makan .

Faktor Penyebab Obesitas

- ⦿ Jansen *et al* (2003): anak 8-12 tahun *overweight* , kecenderungan pola makan berlebih pada usia tersebut dipicu oleh rangsangan indera penciuman (bau makanan) daripada faktor psikis.
- ⦿ Peters *et al* (2007) : tikus diberi leptin - hormon *anorexigenic* – eksogen → penurunan BB & asupan makanan dalam waktu 48 jam (hormon pada sistem olfaktori berperan dalam metabolisme).
- ⦿ Keung *et al* (2011): pemberian leptin eksogen pada mencit obese:
 - menurunkan BB dan asupan makanan
 - meningkatkan oksidasi asam lemak
 - meningkatkan toleransi glukosa.
- ⦿ Schulz *et al* (2012): tikus obese diberikan leptin eksogen → penurunan BB.

Obesitas dan Leptin

- Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut:

ikatan leptin dengan reseptornya pada
sistem olfaktori



hipotalamus merespon nafsu makan dan proses
metabolisme.



penurunan BB dan asupan makanan

Kayu manis

- ⦿ Minyak atsiri yang diekstrak dari *Cinnamomi cortex* → diberikan peroral pada mencit yang resisten terhadap insulin → meningkatkan metabolisme glukosa dan lipid dengan cara mereduksi konsentrasi leptin serum dan meningkatkan sensitivitas terhadap insulin.

Senyawa atsiri dari kayu manis

No	Nama senyawa	No	Nama senyawa
1	Alfa-pinen	16	Alfa-muroolen
2	Benzaldehid	17	Delta-kadinen
3	Beta-pinen	18	Alfa-kalakoren
4	Limonene	19	Kariofilen oksida
5	1,8-sineol	20	Widdren
6	Benzene propanal	21	Torreyol
7	Terpineol	22	Benzyl benzoate
8	Alfa-terpineol	23	Linalool
9	Cis-sinamaldehyd	24	Alfa-bergamoten
10	Trans-sinamaldehyd	25	Kumarin
11	Alfa-kopaen	26	Tetradekanal
12	Asam sinamat	27	Beta elemen
13	...	28	...

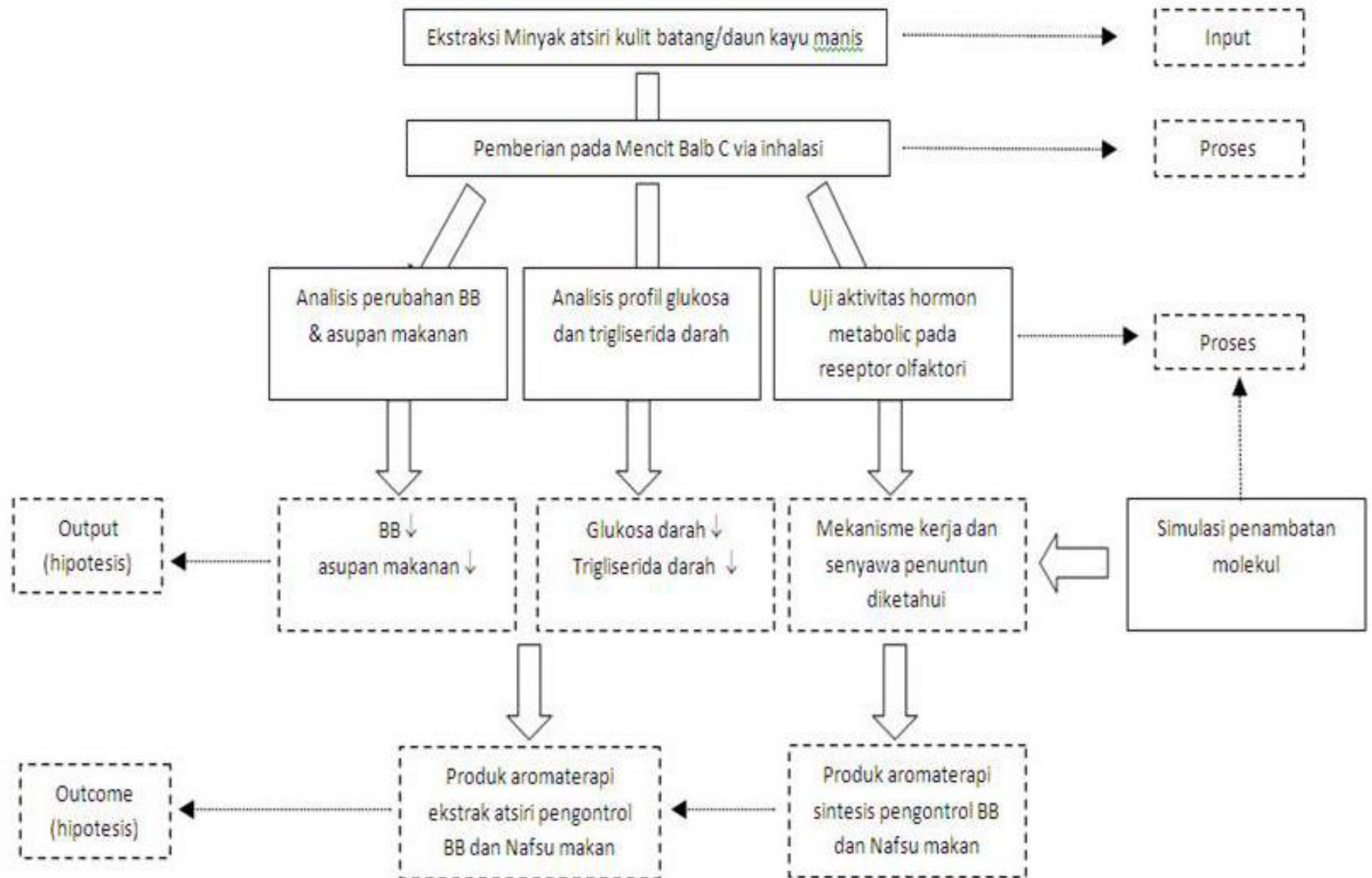
Tujuan Riset

- ⦿ melihat pengaruh inhalasi minyak atsiri kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap aktivitas hormon metabolik pada reseptor olfaktori mencit berdasarkan protein yang disekresikan di hipotalamus

MANFAAT RISET

- ⦿ menghasilkan suatu bukti empirik terkait efek minyak atsiri kayu manis dalam mempengaruhi proses metabolisme.
- ⦿ Dengan simulasi penambatan molekul (*molecular docking*) diharapkan diperoleh dugaan senyawa penuntun (*lead compound*) dari minyak atsiri kayu manis yang mekanisme kerjanya mempengaruhi beberapa reseptor hormon metabolik di sistem olfaktori.
- ⦿ dihasilkannya sediaan minyak atsiri kayu manis atau sediaan derivat senyawa penuntun dari minyak atsiri kayu manis dalam bentuk produk inhaler (aromaterapi) sebagai pengontrol nafsu makan dan berat badan

Alur Kerja Riset



◎ CARA KERJA

Hewan coba

(Penyediaan dan pemeliharaan)

- ⦿ Mencit Balb/c
- ⦿ jantan dewasa
- ⦿ berat badan 25-30 g
- ⦿ dibiakkan dan dipelihara di Departemen Patologi Anatomi FKUI
- ⦿ ditempatkan pada kondisi 12 jam siklus gelap-terang dan
- ⦿ diberikan diet pelet standar dan air keran *ad libitum*.

Pengelompokan hewan coba.

- ◎ 5 kelompok @ 5 ekor
 - kontrol,
 - minyak atsiri kulit batang (0,2 ml/kandang)
 - minyak atsiri kulit batang (1,0 ml/kandang)
 - minyak atsiri daun (0,2 ml/kandang)
 - minyak atsiri daun (1,0 ml/kandang)

Pemberian minyak atsiri

- ⦿ metode Muctaridi *et al* (2011)
- ⦿ mencit dalam kandang 40x40x30 cm³ tertutup
- ⦿ kandang diuapjenuhkan minyak atsiri 2 x sehari selama 15 menit sebelum pemberian makanan.
- ⦿ selama 21 hari.
- ⦿ pada 7, 14, dan 21 hari darah mencit diambil
- ⦿ darah diukur glukosa dan lemak
- ⦿ hari ke 21 mencit dikorbankan → pemeriksaan aktivitas hormon metabolik di hipotalamus.

Pengukuran berat badan dan asupan makanan

- ⦿ setiap hari 3 jam setelah lampu dinyalakan.
- ⦿ Jumlah asupan makan dihitung dari makanan yang tersisa dari 2x pemberian makanan.

Pengukuran glukosa dan lipid darah

- ⦿ metode Keung et al (2011)
- ⦿ Glukosa darah diukur setelah mencit dipuasakan selama 16 jam
- ⦿ menggunakan glukometer.
- ⦿ Lemak darah (trigliserida) diukur sebagai gliserol menggunakan metode enzimatik secara spektrofotometri.

Pengukuran aktivitas hormon metabolik dengan imunohistokimia

- ⦿ jaringan otak , fiksasi dg formalin bufer
- ⦿ dehidrasi dg etanol bertingkat.

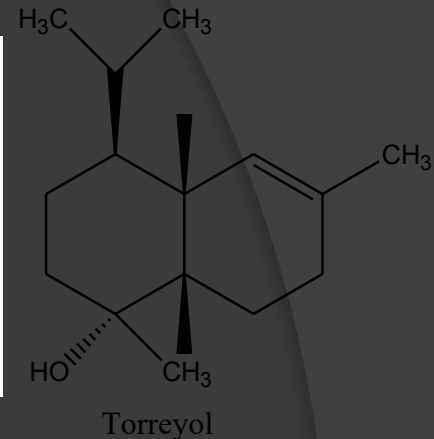
- ⦿ IHK:
- ⦿ buffer sitrat 0,01 M (pH6.0)
- ⦿ *microwave* selama 5 menit.
- ⦿ antibodi dari protein target , O/N 4°C.
- ⦿ antibodi sekunder selama 1 jam
- ⦿ DAB 10 menit pada suhu kamar.
- ⦿ MIKROSKOP

◎ HASIL & PEMBAHASAN

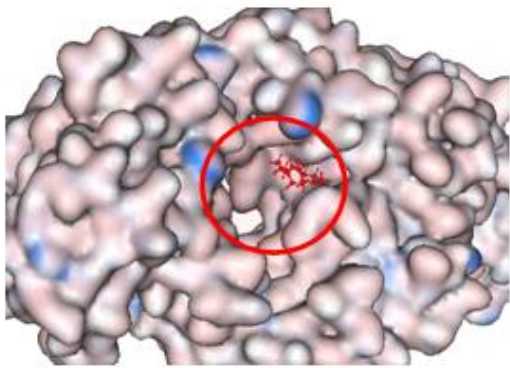
1. Simulasi docking

Docking reseptor Leptin dengan senyawa dalam kayu manis

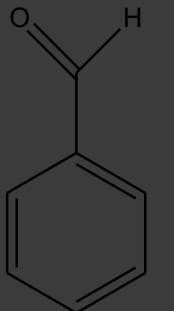
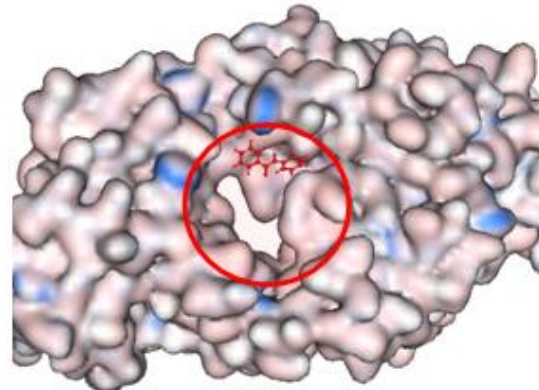
Ligan	ΔG	PKi	H don/acc	
Asam sinamat	-7.8740	6.580	2	Lys 149, Pro 125
Benzaldehida	-5.6544	5.959	1	Val 161
Torretol	-5.4563	4.835	1	Glu 48



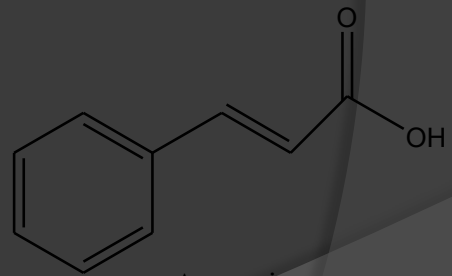
Lep-R dengan benzaldehid



Lep-R dengan asam sinamat



Benzaldehida



Asam sinamat

Gambar Kompleks Lep-R-senyawa aktif dalam situs katalitik

2. Destilasi uap-air

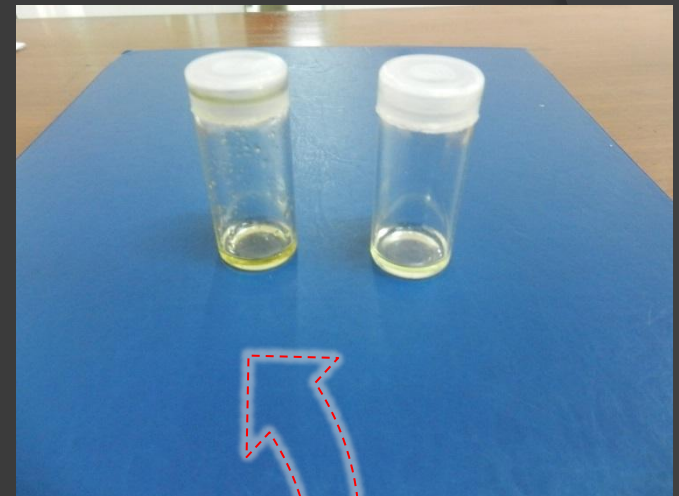


(a)

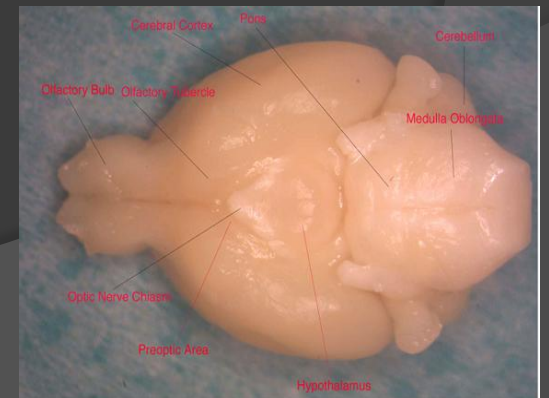


(b)

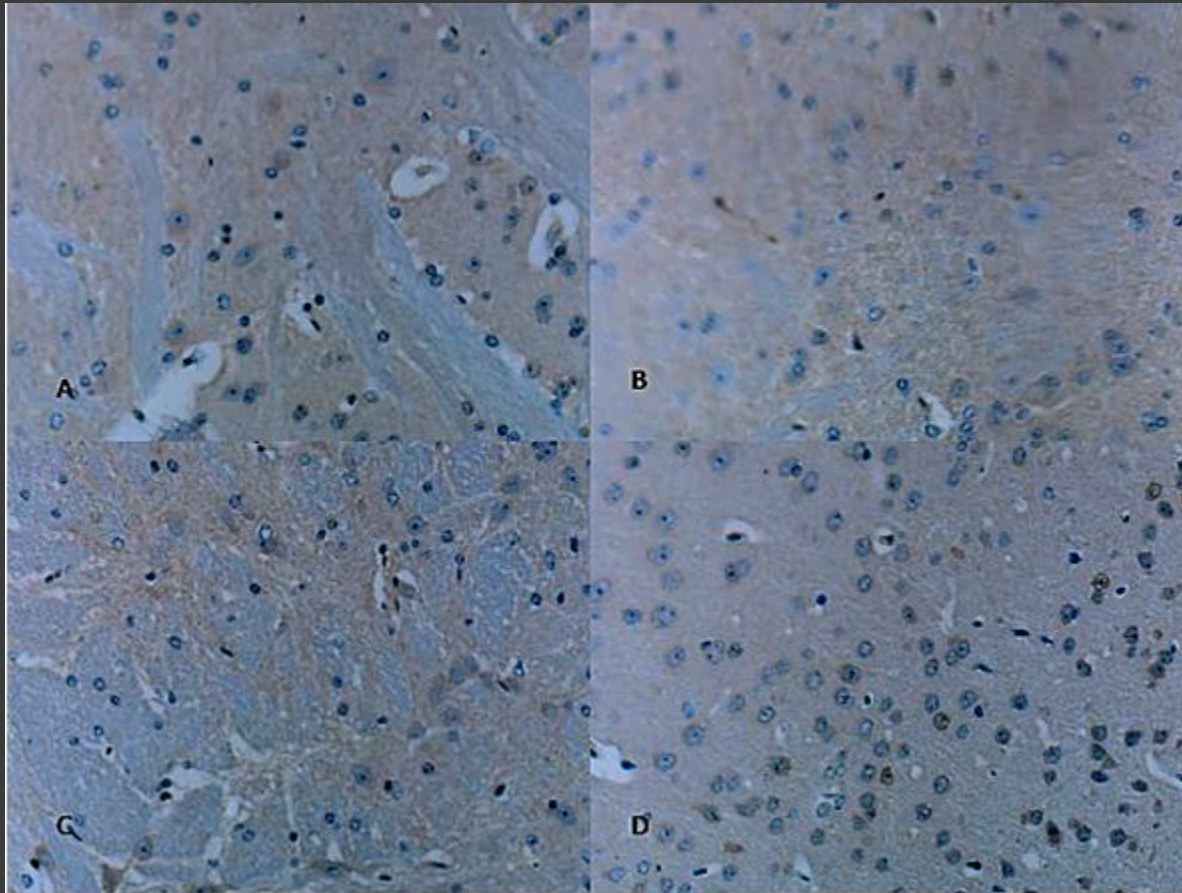
Gambar Kulit kayu manis
(a) sebelum dan sesudah (b)
destilasi



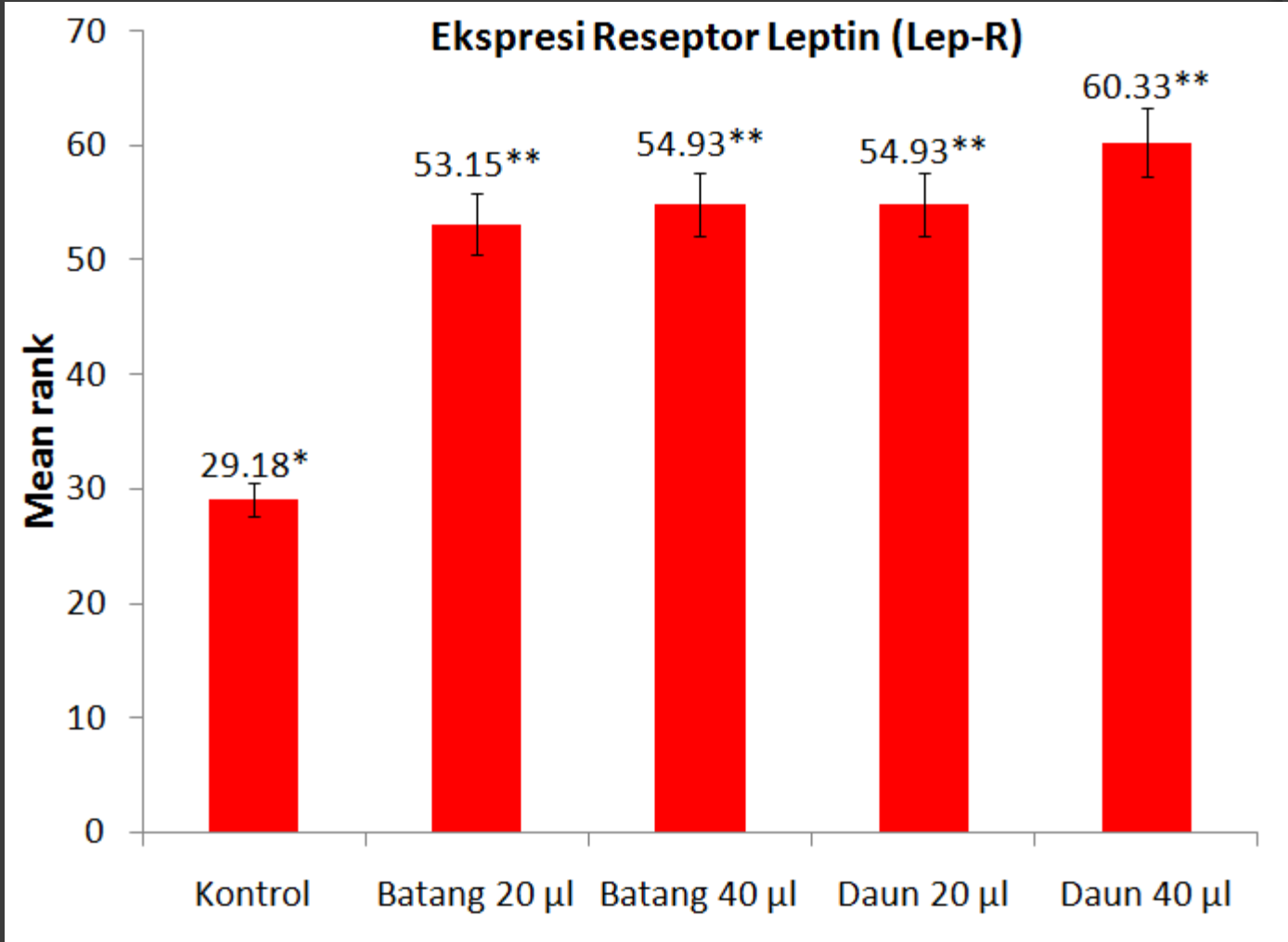
3. Perlakuan hewan coba



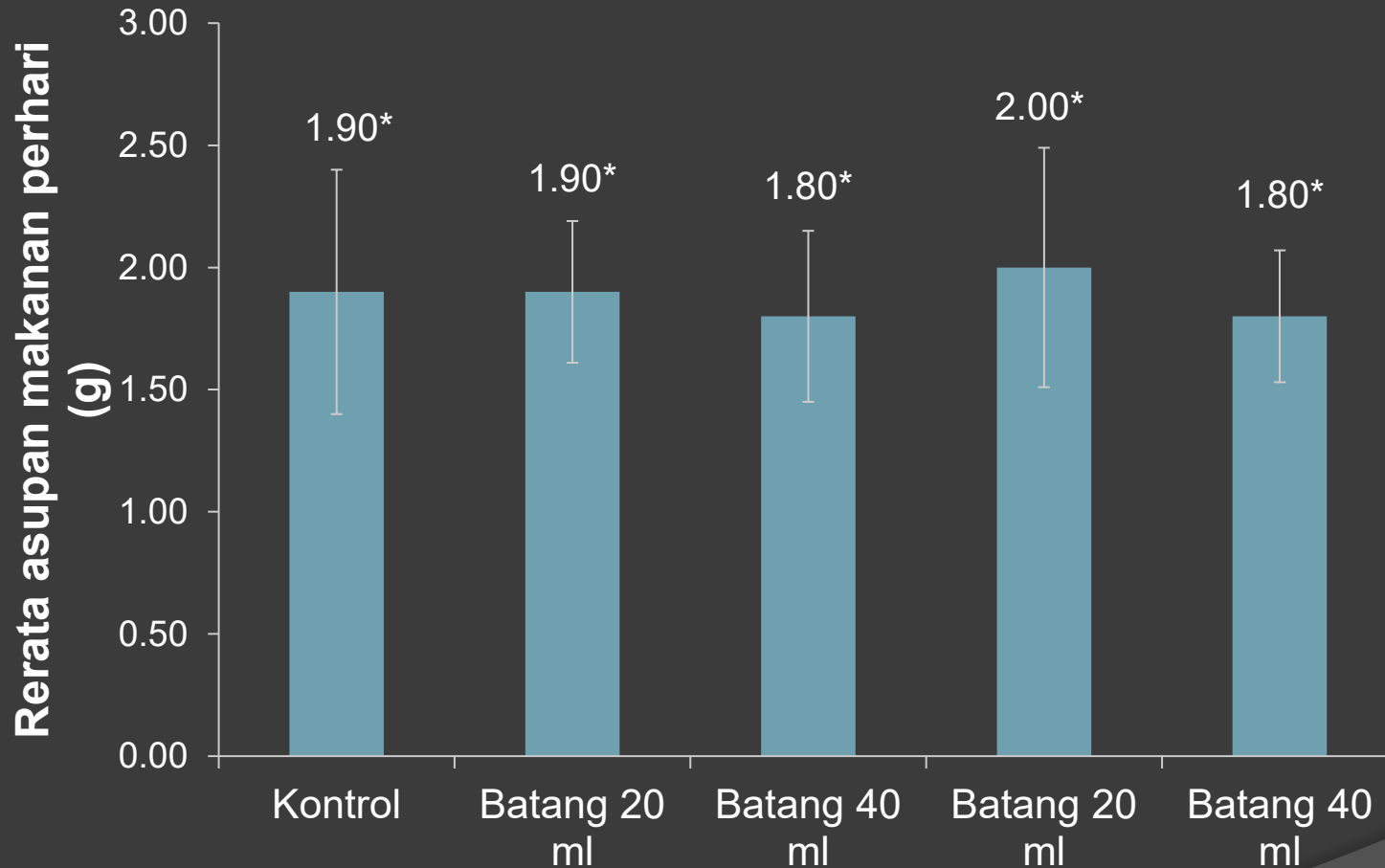
4. Ekspresi Lep-R



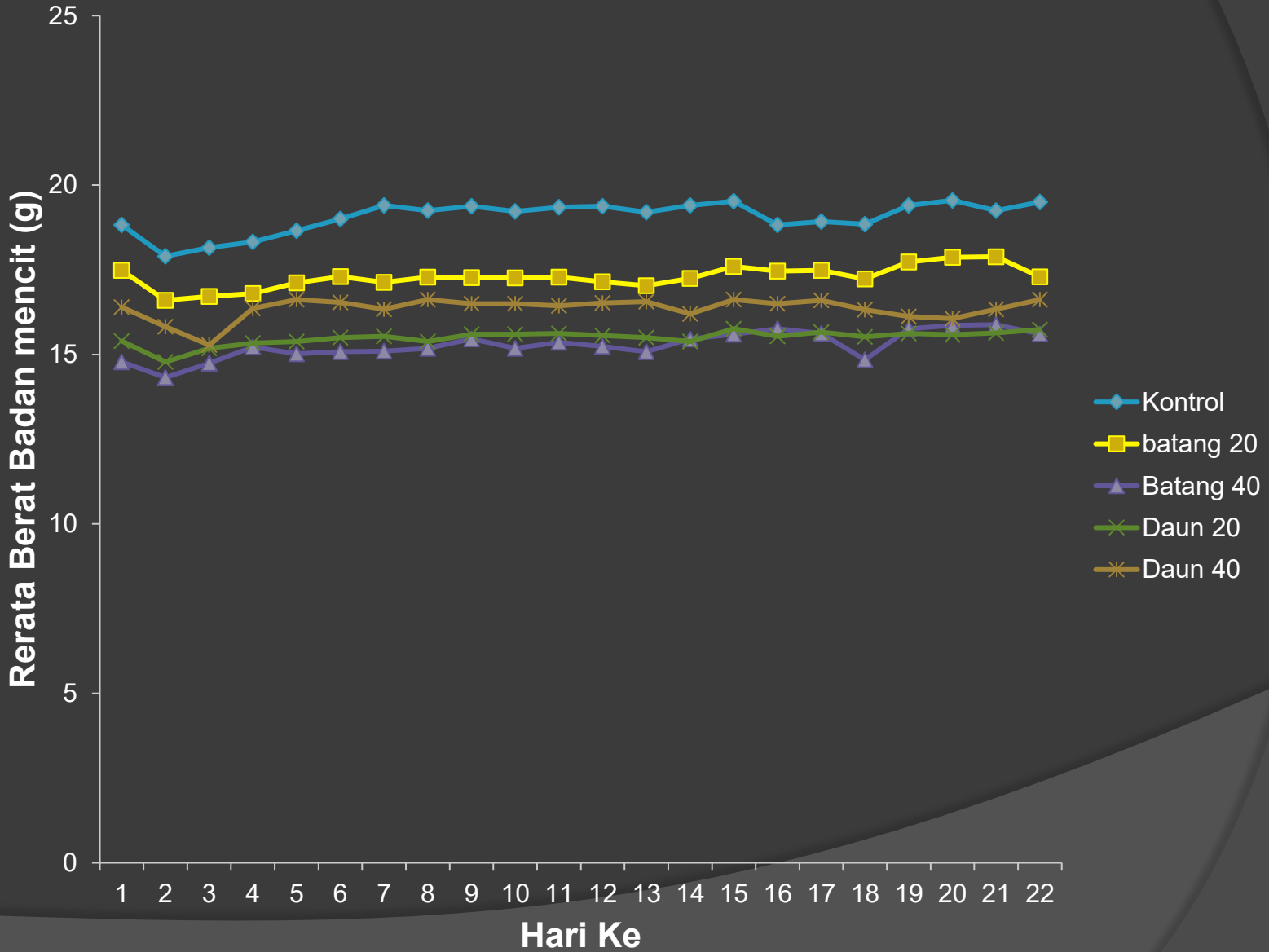
Gambar Pewarnaan imunohistokimia reseptor leptin (Lep-R)) pada kelompok minyak atsiri daun dosis 20 ul (A) dengan ekspresi negatif, minyak atsiri daun 20 ul (B) positif 1, dan batang 40 ul (C) positif 2, serta daun 40 ul (D) positif 3. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

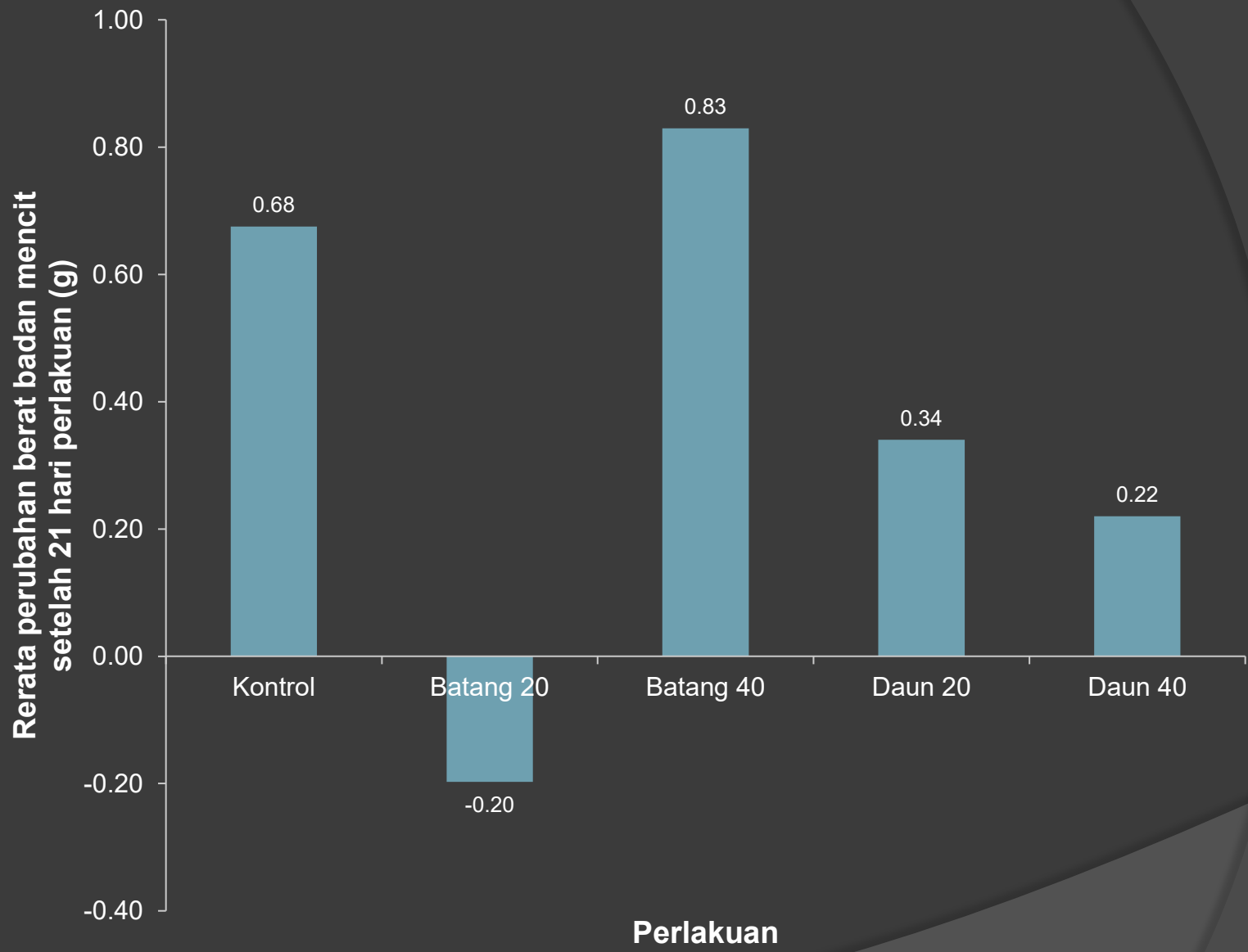


5. Asupan Makanan



6. Berat Badan





7. Gula darah

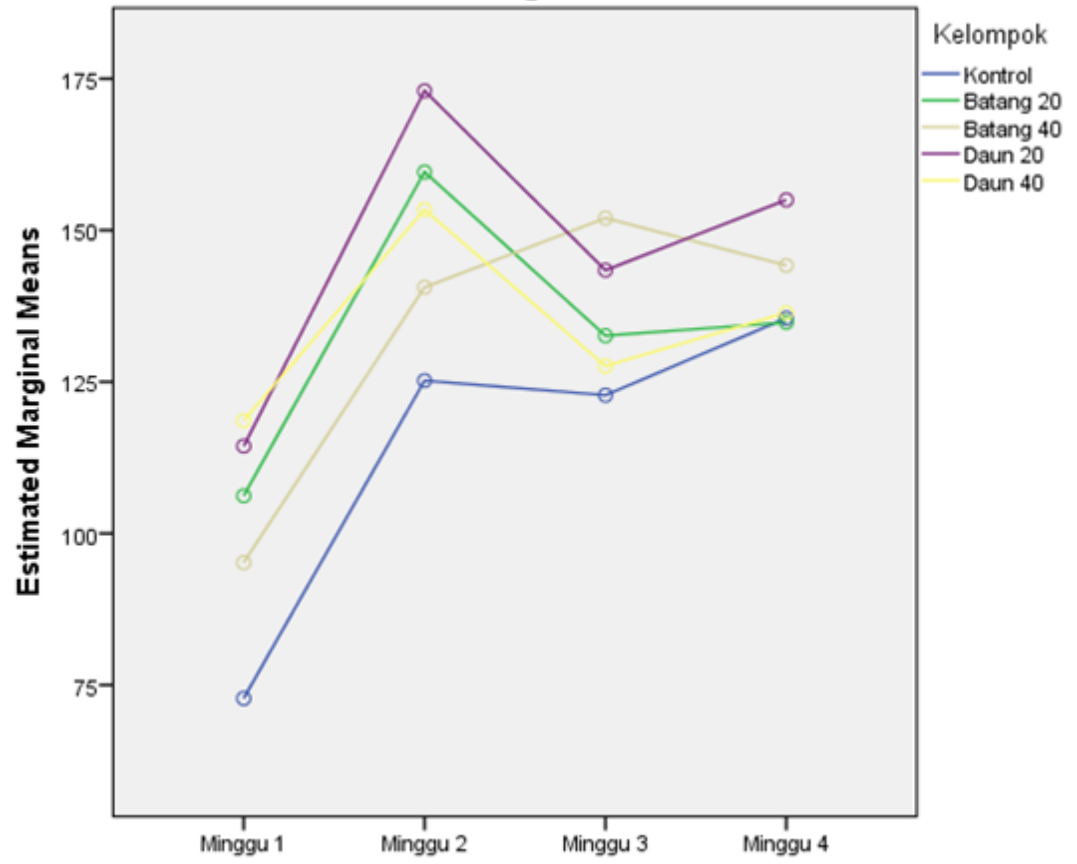
Gula darah

Duncan^{a,b,c}

Kelompok	N	Subset	
		1	2
Kontrol	19	112.95	
Batang 40 µl	20		133.00
Batang 20 µl	20		133.30
Daun 40 µl	20		134.00
Daun 20 µl	20		146.45
Sig.		1.000	.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Estimated Marginal Means of Guladarah



8. Kolesterol

Kolesterol

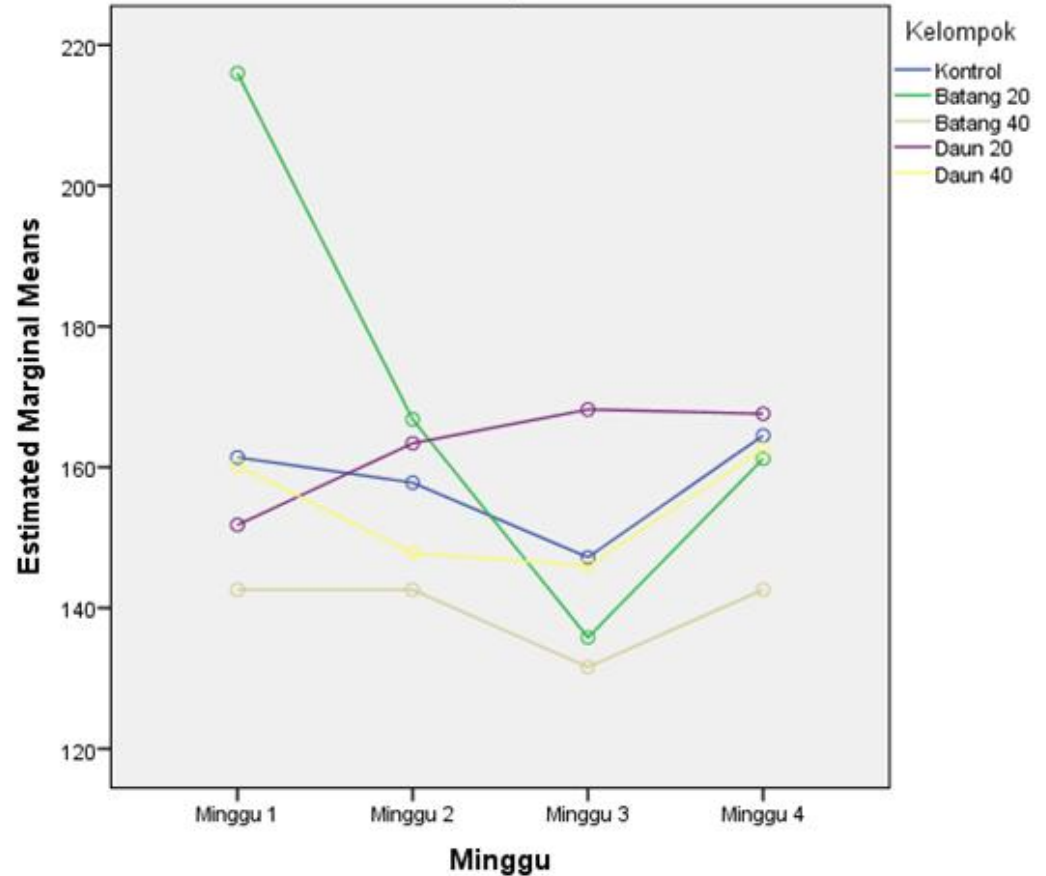
Duncan^{a,b,c}

Kelompok	N	Subset		
		1	2	3
Batang 40 µl	20	139.85		
Daun 40 µl	20		154.15	
Kontrol	19		157.37	157.37
Daun 20 µl	20		162.75	162.75
Batang 20 µl	20			169.95
Sig.		1.000	.237	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

Estimated Marginal Means of Kolesterol



◎ Kesimpulan

- Pemberian uap minyak atsiri kayu manis dari batang dan daun dapat menghambat kenaikan BB dari mencit.
- Diduga kenaikan berat badan mencit dihambat oleh senyawa asam sinamat dan benzaldehida dengan cara menempati reseptor leptin yang ada di hipotalamus. Hal tersebut dapat dilihat dari meningkatnya ekspresi reseptor leptin yang ada di otak.
- Aktifnya reseptor leptin di hipotalamus yang disebabkan senyawa atsiri yang ada pada kayu manis, menyebabkan efek fisiologis berupa dihambatnya kenaikan berat badan mencit. Efek ini serupa dengan bila mencit diberikan leptin eksogen secara *intracerebroventricular* (ICV) seperti penelitian yang oleh Peters *et al* (2007), Keung *et al* (2011), atau diberikan leptin eksogen via intranasal seperti penelitian yang dilakukan oleh Schulz *et al* (2012)

TERIMA KASIH...