

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian utama di dunia. Pada tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta orang meninggal akibat penyakit kardiovaskuler yang mewakili 30% dari kematian total di dunia. Telah diperkirakan jumlah orang yang meninggal akibat penyakit kardiovaskuler akan meningkat sebesar 23,3 juta pada tahun 2030 (WHO, 2013). Penyakit kardiovaskuler sangat erat hubungannya dengan aterosklerosis. Secara konvensional faktor risiko utama pada penyakit kardiovaskuler yaitu abnormalitas lipid darah terutama kolesterol total. Diet tinggi lemak merupakan faktor paling besar pengaruhnya terhadap pemicu kejadian aterosklerosis (Murini, 2011).

Diet tinggi lemak dapat mengakibatkan kelebihan berat badan dan obesitas. Menurut hasil penelitian Lauterio *et al.* (1994), menunjukkan bahwa tikus yang diberi diet tinggi lemak yang mengandung komposisi lemak sebesar 32% dari total energi selama perlakuan 10 minggu dapat mengalami peningkatan berat badan serupa dengan kejadian pada manusia dan peningkatan berat badan tersebut mencerminkan massa lemak (Dobrian *et al.*, 2000). Dari hasil penelitian dijelaskan bahwa kondisi obesitas cenderung memiliki kadar plasma leptin yang tinggi dalam darah yang disebabkan oleh penumpukan sel adiposit penghasil leptin. Jaringan adiposit ini bertindak sebagai pemicu proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-6* (IL-6), leptin resisten, dan *C-reactive protein*

(CRP) yang dapat menginduksi terjadinya disfungsi endotel, resistensi insulin dan aterosklerosis (Djati *et al.*, 2010)

Pada kondisi obesitas akan terjadi hiperleptinemia karena adanya peningkatan kadar leptin dalam darah. Leptin merupakan hormon polipeptida yang berasal dari sel-sel lemak yang sekresinya berbanding lurus dengan massa jaringan lemak (Anggraeni *et al.*, 2012). Leptin merupakan komponen penting dalam "*long term*" regulasi berat badan. Efek tersebut diperantai oleh efek hipotalamus terhadap pengontrolan perilaku makan dan lapar. Pada penelitian Munzberg *et al.* (2004), menunjukkan bahwa tikus yang mengalami obesitas setelah diberikan diet tinggi lemak selama 16 minggu terjadi peningkatan konsentrasi leptin yang disertai dengan peningkatan *suppressor cytokine signaling* yang mana berfungsi menghambat sinyal leptin (Greenberg dan Obin, 2006). Peningkatan sekresi leptin oleh sel adiposit dapat berperan dalam akumulasi makrofag melalui penarikan makrofag ke dalam jaringan adipose serta promosi adhesi makrofag pada sel endotel (Sudiarto, 2012). Oleh karena itu, dapat dipahami bahwa leptin memiliki peranan dalam aktivitas perifer yang merangsang inflamasi pembuluh darah, stres oksidatif dan hipertrofi otot polos pembuluh darah yang berkontribusi terhadap patogenesis dari aterosklerosis (Koh *et al.*, 2008).

Tingginya angka kejadian aterosklerosis dan obesitas saat ini, membuat banyak peneliti yang tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aterosklerosis. Penelitian merupakan suatu kegiatan yang dilakukan berdasarkan kaidah dan metode ilmiah secara sistematis untuk memperoleh informasi, data dan keterangan dari subjek terkait, dengan

pemahaman teori dan pembuktian asumsi atau hipotesis (Komisi Etik Penelitian Kesehatan Badan Litbangkes, 2007). Pada penelitian kesehatan, tahap awal bisa dilakukan secara *in vitro* yaitu penelitian pada sel atau kultur jaringan. Jika hasil penelitian akan dimanfaatkan untuk manusia, diperlukan penelitian lanjutan dengan menggunakan makhluk hidup (*in vivo*) seperti pada hewan coba (Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 2006).

Hewan coba merupakan unsur penting dalam melakukan penelitian biologis atau biomedis berdasarkan standar penelitian (Ridwan, 2013). Saat ini hewan coba yang banyak digunakan adalah tikus terutama tikus putih galur *wistar* (Berata *et al.*, 2010). Penelitian pada hewan coba hendaknya menerapkan 3 prinsip yaitu *replacement*, *reduction*, dan *refinement* (Bousfield dan Brown, 2010). Salah satu prinsip pada hewan coba adalah *refinement* yaitu memperlakukan hewan coba secara manusiawi, memelihara hewan dengan baik, membebaskan hewan coba dari rasa lapar dan haus dengan memberikan akses makanan dan minuman yang sesuai dengan jumlah yang memadai, baik dari jumlah dan komposisi zat gizi untuk kesehatannya (Ridwan, 2013).

Dengan mempertimbangkan prinsip dari hewan coba maka pemberian pakan pada hewan coba perlu diperhatikan. Diet standar merupakan diet yang diberikan pada hewan coba secara homogen yang digunakan agar penelitian hewan coba tidak menimbulkan bias dan dapat berdampak sesuai dengan parameter penelitian yang diukur (Reeves *et al.*, 1993). Diet yang direkomendasikan oleh *American Institute of Nutrition* sebagai pakan tikus atau hewan pengerat yang menjadi hewan coba

laboratorium adalah diet AIN-93M. Diet AIN-93M mengandung beberapa komposisi yaitu karbohidrat, lemak, protein, antioksidan, serat, *mineral mix* dan *vitamin mix* (Reeves *et al.*, 1993). Dengan mempertimbangkan prinsip *refinement* maka untuk menghasilkan model hewan coba dengan aterosklerosis perlu dilakukan modifikasi diet standar.

Pada penelitian Murwani *et al.* (2006), salah satu cara menghasilkan model tikus aterosklerosis yaitu dengan menggunakan diet tinggi lemak. Pada penelitian Handayani *et al.* (2012) pemberian diet tinggi lemak dengan komposisi standar AIN-93M yaitu *corn starch, sucrose, copha, lard, sunflower oil, gelatin, casein, fiber*, mineral dan vitamin hanya dapat menyebabkan obesitas serta kadar *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL) meningkat secara bersamaan, dimana seharusnya pada kondisi aterosklerosis kadar HDL menurun dan kadar LDL meningkat (Murwani *et al.*, 2006). Maka dari itu, diperlukan adanya penambahan asam kolat dan kolesterol (Shatanovi, 2012). Pemakaian kolesterol ini bertujuan untuk menginduksi peningkatan LDL darah (Murwani *et al.*, 2006), sedangkan asam kolat dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik, yaitu dengan menurunkan kadar HDL dan meningkatkan LDL plasma (Srivastava *et al.*, 2000).

Penggunaan diet aterogenik modifikasi dengan diet tinggi lemak yang ditambahkan asam kolat masih jarang dilakukan. Beberapa penelitian sudah menggunakan diet aterogenik dengan standar AIN-93M tetapi dengan jumlah komposisi yang digunakan tidak disebutkan (Abidah *et al.*, 2014), sehingga belum ada diet modifikasi aterogenik yang standar dengan penggunaan diet AIN-93M. Selain itu, penelitian tentang kadar leptin masih

jarang dilakukan dalam penelitian aterogenik dengan penggunaan diet standar AIN-93 khususnya di Indonesia. Oleh karena itu, perlu dilakukan analisis mengenai pemberian diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M dan diet normal standar AIN-93M terhadap kadar leptin serum pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan kadar leptin serum pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang diberi diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M dan diet normal standar AIN-93M?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui dan menganalisa adanya perbedaan kadar leptin serum pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang diberi diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M dan diet normal standar AIN-93M.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengetahui rata-rata jumlah asupan makan per hari pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan.
- 2) Mengetahui rata-rata berat badan akhir pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* Jantan.
- 3) Mengetahui kadar leptin serum pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang diberi diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M.

- 4) Mengetahui kadar leptin serum pada hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang diberi diet normal standar AIN-93M.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan**

Dapat memberikan informasi mengenai diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M sebagai alternatif pakan untuk pembuatan hewan coba aterosklerosis, khususnya tikus.

##### **1.4.2 Bagi Bidang Gizi**

Dapat dijadikan sebagai dasar teori dalam pemilihan diet aterosklerosis terstandar untuk hewan coba model aterosklerosis dengan mengetahui komposisi diet yang sesuai.

##### **1.4.3 Bagi Peneliti**

Untuk mengembangkan kemampuan peneliti di bidang penelitian dan mengasah daya analisis peneliti serta menambah pengetahuan peneliti tentang hal-hal yang berkaitan dengan gizi yang diberikan pada hewan coba, khususnya tikus.

## 1.5 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai analisa kadar leptin serum pada tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar yang diberi diet aterogenik modifikasi standar AIN-93M dan diet normal standar AIN-93M belum pernah dilakukan sebelumnya. Beberapa penelitian yang berkaitan dengan penelitian yang akan dilakukan diantaranya yaitu:

No.	Peneliti	Judul Penelitian	Isi Penelitian	Hasil Penelitian
1.	Hidayat <i>et al.</i> , 2013	Pengaruh Polifenol Buah Tin ( <i>Ficus carica Linn</i> ) Terhadap Kadar Leptin Serum Tikus Wistar Jantan yang Diberi Diet Aterogenik	Penelitian dengan studi eksperimental menggunakan <i>post test only control grup design</i> . Sampel yang digunakan tikus <i>Rattus norvegicus</i> galur <i>wistar</i> jantan yang dipilih secara random sampling dan dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif (diet normal), kelompok kontrol positif (diet aterogenik), kelompok perlakuan A, B, dan C. Variabel yang diukur adalah kadar leptin serum dan dianalisis secara statistik menggunakan uji <i>Oneway ANOVA</i> .	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kenaikan kadar leptin serum pada tikus kontrol negatif dan kontrol positif terdapat perbedaan yang bermakna (ANOVA <math>p &lt; 0.05</math>)</li> <li>2. Terdapat hubungan kuat antara polifenol buah Tin terhadap kadar leptin serum (uji korelasi <math>p &lt; 0.05</math> dan bernilai negatif)</li> </ol>
2.	Hadzovic-Dzuvo <i>et al.</i> , 2014	<i>Impact of High-Fat Diet on Serum Adiponectin and Leptin Level in Streptozocin-induced</i>	Penelitian menggunakan 40 ekor tikus <i>wistar</i> jantan yang dibagi menjadi empat kelompok: kelompok kontrol diet standar, kelompok <i>streptozotocin</i> (STZ)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kadar adiponektin serum secara signifikan lebih rendah pada STZ diet tinggi lemak dibandingkan dengan STZ non diet tinggi lemak,</li> </ol>

		<p>diet standar, kelompok kontrol diet tinggi lemak, dan kelompok STZ diet tinggi lemak selama 5 minggu. Variabel yang diukur kadar leptin serum dan adiponektin dengan ELISA.</p>	<p>kontrol non diet tinggi lemak, dan kontrol diet tinggi lemak.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>2. Kadar leptin serum secara signifikan lebih tinggi di STZ diet tinggi lemak dibandingkan dengan STZ non diet tinggi lemak, kontrol non diet tinggi lemak, dan kontrol diet tinggi lemak.</li> <li>3. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diet tinggi lemak mengganggu kontrol glukosa dengan meningkatkan sekresi leptin</li> </ol>
<p>3. Anggraeni <i>et al.</i>, 2012</p>	<p>Diabetes Mellitus Type 2 Identifikasi Leptin pada Kesembuhan Luka Tikus yang Diberi Pakan Lemak Tinggi dan Aplikasi Zinc Topical</p>	<p>Penelitian menggunakan 32 ekor tikus <i>Sprague Dawley</i> jantan yang dibagi secara acak menjadi empat kelompok yaitu kelompok A dan B diberi pakan normal dan kelompok C dan D diberi pakan lemak tinggi selama 8 minggu. Variabel yang diukur kadar leptin dan pemeriksaan histopatologi. Leptin dianalisis menggunakan uji statistik <i>oneway</i> ANOVA dan histopatologi dianalisis secara deskriptif.</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Faktor pakan tidak berpengaruh pada kadar leptin secara signifikan, kadar leptin tikus yang diberi pakan lemak tinggi (<math>5.94 \pm 4.96</math> ng/ml) cenderung lebih tinggi dibandingkan kadar leptin tikus yang diberi pakan normal (<math>4.33 \pm 3.10</math> ng/ml)</li> <li>2. Analisis histopatologi setelah operasi, epidermis sudah menutup pada kelompok A sebanyak 75%, B sebanyak 100%, C sebanyak 25%, dan D</li> </ol>

- 
- sebanyak 75%.
4. Sudiarto, 2011 Pengaruh Pemberian Penelitian studi eksperimental Quercetin Terhadap Kadar dengan *post test control grup design* dilakukan terhadap hewan coba tikus *wistar*. Tikus diberi perlakuan selama 8 minggu dengan *Diet Induced Obesity* (DIO) dan pemberian quercetin dengan dosis yang berbeda. Variabel yang diukur adalah kadar leptin serum tikus yang mengalami obesitas dibandingkan kadar leptin pada kelompok kontrol. Dianalisis dengan menggunakan uji statistik *oneway ANOVA*.
1. Ada perbedaan rata-rata kadar leptin pada serum tikus *wistar* yang mengalami obesitas pada masing-masing perlakuan.  
2. Pemberian quercetin dengan kadar leptin pada serum tikus *wistar* yang mengalami obesitas mempunyai hubungan yang signifikan.
5. Leibowitz et al., 2006 *Leptin Secretion After a High-Fat Meal in Normal-Weight Rats: Strong Predictor of Long-Term Body Fat Accrual on a High-Fat Diet* Penelitian menggunakan tikus dewasa *Sprague-Dawley* jantan yang diberikan *high fat meal* (5,15 kcal/g) dengan lemak 50% selama 5 minggu. Tujuan penelitian untuk mengetahui hubungan antara asupan dengan perubahan endrokin pada kelompok *prone* (OP) dan *resistant* (OR) untuk obesitas. Variabel yang diukur kadar leptin.
-