

**Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan *Treadmill*  
Terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran  
Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*)  
Obesitas Induksi HFD (*High-Fructose Diet*)**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**M. AMRIYAN NURRAKHMAN**  
**115130101111008**



**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN  
PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2016**

## LEMBAR PENGESAHAN

# Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan *Treadmill* Terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattusnorvegicus*) Obesitas Induksi HFD (*High-Fructose Diet*)

Oleh:  
**M. AMRIYAN NURRAKHMAN**  
115130101111008

Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji  
pada tanggal 30 Juni 2016  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

**Dr. Drs. Agung Pramana W.M., M.Si**  
NIP. 19650616 199111 1 001

**drh. Dyah Ayu O.A.P., M. Biotech**  
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan  
Program Studi Kedokteran Hewan Univesitas Brawijaya

**Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES**  
NIP. 19600903 198802 2 001

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : M. Amriyan Nurrakhman  
NIM : 115130101111008  
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan  
Penulis Skripsi berjudul : Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan *Treadmill* Terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattusnorvegicus*) Obesitas Induksi HFD (*High-Fructose Diet*)

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima. Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 1 Agustus 2016

Yang menyatakan,

M. Amriyan Nurrakhman  
NIM. 115130101111008

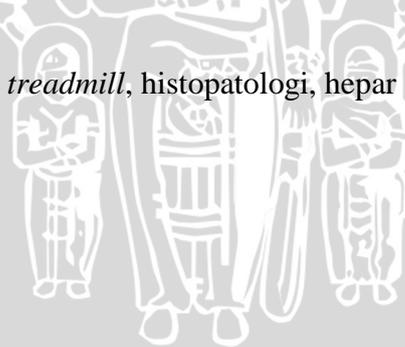
repository.ub.ac.id

**Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan *Treadmill* Terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas Hasil Induksi HFD (*High-Fructose Diet*)**

**ABSTRAK**

Obesitas merupakan kondisi kelainan metabolik berupa akumulasi lemak yang berlebihan di dalam tubuh akibat dari ketidakseimbangan antara asupan makanan dan pengguna anenergi. Salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya obesitas adalah kurangnya aktivitas fisik (*exercise*). Penggunaan *treadmill* sebagai aktivitas fisik dapat menginduksi metabolisme lemak sehingga akumulasi lemak jaringan adiposa dapat berkurang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh aktivitas fisik menggunakan *treadmill* terhadap peningkatan kadar trigliserida dan perbaikan gambaran histopatologi hepartikus (*Rattusnorvegicus*) obesitas induksi *high-fructose diet* (HFD). Hewan coba yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus*) strain Wistar jenis kelamin jantan usia 6-8 minggu dengan berat badan 150-200 gram. Induksi terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas menggunakan HFD 40% dan kondisi obesitas ditentukan dengan perhitungan indeks obesitas Lee  $> 0,3$ . Tikus dibagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu tikus kontrol, tikus obesitas, tikus obesitas yang diberi aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit per hari, dan tikus obesitas yang diberi aktivitas menggunakan *treadmill* selama 10 menit per hari. Kadar trigliserida diukur dengan metode GPO-PAP (*Enzimatic spectrophotometri*) dan pembuatan preparat histopatologi organ hepar menggunakan metode pewarnaan hematoksilin eosin (HE). Analisa Trigliserida dilakukan secara kuantitatif menggunakan ANOVA sedangkan gambaran histopatologi hepar dianalisa secara kualitatif menggunakan system dan alat mikroskop.

**Kata Kunci:**obesitas, HFD, *treadmill*, histopatologi, hepar



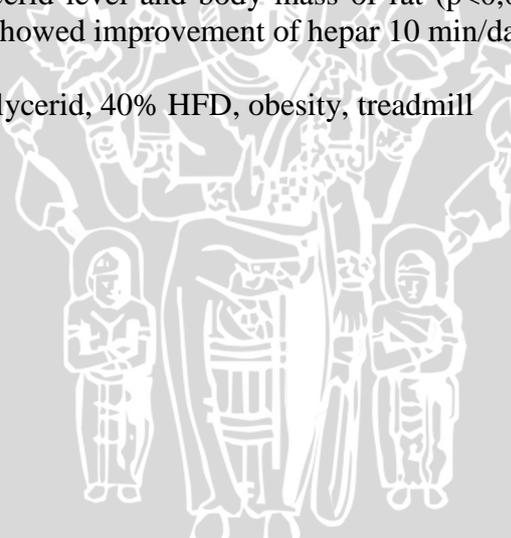
repository.ub.ac.id

**Effect of Physical Activity Against Using Treadmill Triglyceride Levels and Liver Histopathology Overview On Rat ( *RattusNorvegicus* ) Obesity results for Induction HFD (High - Fructose Diet )**

**ABSTRACT**

Obesity is the abnormality caused by increased consumption of fat and fructose, and lack of physical activity. 40% High-Fructose Diet (HFD) can lead to obesity. Physical activity using treadmill can reduce obesity conditions due to increased of energy intake. The study was aimed to determine the effect of physical activity using treadmill in triglycerid levels and decreased the aortic histopathology damage of the obesity rats (*Rattus novegicus*) induced by 40% HFD. This study used male rats ages 6–8 weeks with 150–200 grams BW. Rats were divided into 4 groups, negative control, 40% HFD induced group, and 40% HFD induced group with physical activity using treadmill for 5 min/day and 10 min/day. HDL and LDL levels were measured using spectrophotometer, and aortic histopathology preparation observed using Hematoxyline-Eosin (HE) stain. Triglycerid analysis were performed quantitative statistic, and the artic histopathology qualitatively analyzed. The result showed that physical activity using treadmill for 10 min/day could decreased triglycerid level and body mass of rat ( $p<0,05$ ) between group. Aortic histopathology showed improvement of hepar 10 min/day.

Key words : hepar, triglycerid, 40% HFD, obesity, treadmill



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa Allah Swt. yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya. Sholawat dan salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW., sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan kripsi yang berjudul **“Pengaruh Aktivitas Fisik Menggunakan Treadmill Terhadap Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Pada Tikus (*Rattusnorvegicus*) Obesitas Induksi HFD (*High-Fructose Diet*)”** ini. Penelitian ini merupakan paying penelitian dari Prof. Dr. Aulanni’am, drh., DES. Selainitu, skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang membantu membimbing, memotivasi dan memperlancar dalam menyelesaikan skripsi ini, secara khusus penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Agung Pramana Warih M., M.Si selaku dosen pembimbing I yang telah berkenan memberikan bimbingan, waktu, kesabaran, motivasi dan bantuan dalam penyelesaian proposal skripsi ini.
2. drh. Dyah Ayu Oktaviani, M.Biomed selaku dosen pembimbing II yang telah berkenan memberikan bimbingan, waktu, kesabaran, motivasi dan bantuan dalam penyelesaian proposal skripsi ini.
3. Drh. Fajar Shodiq, M. Biomed selaku dosen penguji I yang telah berkenan memberikan waktu, kritik, saran, dan pertanyaan yang membangun kepada penulis dalam pelaksanaan seminar proposal skripsi.
4. drh. Arfan Laksana M.Sc selaku dosen penguji II yang telah berkenan memberikan waktu, kritik, saran, dan pertanyaan yang membangun kepada penulis dalam pelaksanaan seminar proposal skripsi.
5. Abdul Munir dan SitiAzizah selaku orang tua penulis yang telah memberikan waktu, arahan, semangat, motivasi, kasih sayang, dan dukungan yang tak terhingga kepada penulis.

6. M. Alfian shuril Hakim dan M. Zakhri Ilmansyah selaku adik-adik penulis yang telah memberikan semangat yang tak terhingga kepada penulis.
7. Edi, S. Psidan Bengkel “SURYA TEKNIK” yang telah membantu dalam penyelesaian pembuatan *treadmill* untuk mendukung keberhasilan penelitian ini.
8. Seluruh staf dan asisten Laboratorium Biokimia (Vivi Shofia, S. Sidan Maryanto) dan Laboratorium Fisiologi Hewan (Muhaimin Rifa’i, S. Si, Ph.D. Med.Sc dan Harmadji) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Brawijaya atas bantuan yang telah diberikan selama penulis melakukan penelitian.
9. Tim penelitian obesitas: Gede Eko Darmono, Farid Abdurrahman, Lutfan Suyudi, Permadi Kusuma, Almabi ganadamar, dan Davella atas semangat, motivasi, nasehat, toleransi, keceriaan dan kebersamaan dalam melakukan penelitian.
10. Keluarga besar VETASCLUB khususnya dan semua kolega PKH UB yang telah menjadi keluarga baru selama proses pendidikan di Kedokteran Hewan dan menjadi dorongan untuk mencapai puncak kesuksesan.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan proposal skripsi ini yang tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini tentu jauh dari kesempurnaan mengingat keterbatasan pengetahuan dan referensi yang penulis miliki. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan dari berbagai pihak. Sekal ilagi penulis mengucapkan banyak terimakasih dan penulis mohon maaf apabila terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini.

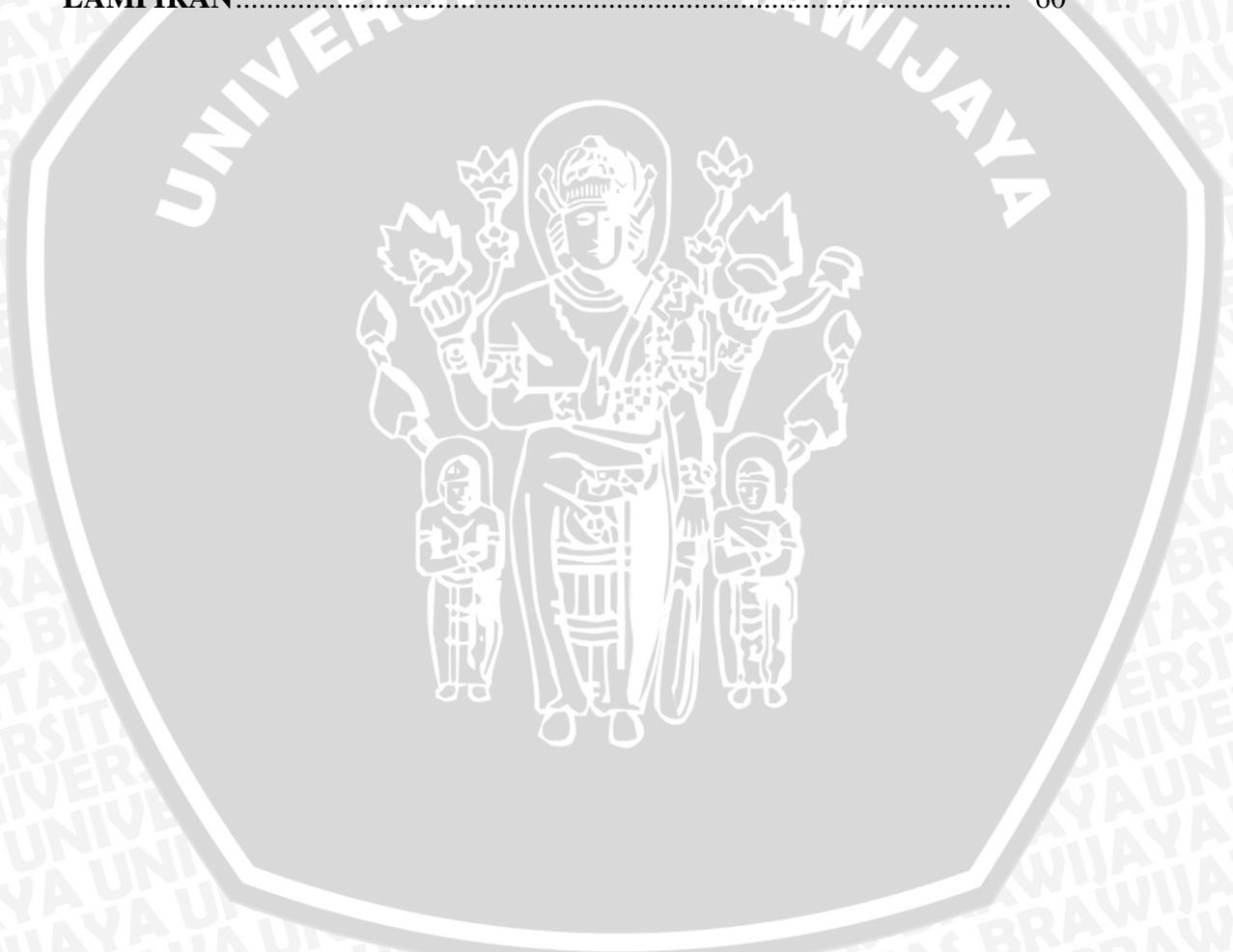
Malang, Agustus 2016

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMBUTAN</b> .....	ii
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	iii
<b>LEMBAR PENYATAAN</b> .....	iv
<b>ABSTRAK</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vi
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG</b> .....	xiv
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Batasan Masalah .....	3
1.4 Tujuan Penelitian .....	4
1.5 Manfaat Penelitian .....	6
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
2.1 Obesitas .....	7
2.2 Patomekanisme Obesitas .....	9
2.3 Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Model Obesitas .....	10
2.4 <i>High-Fructose Diet</i> (HFD) 40% .....	12
2.5 Trigliserida .....	14
2.6 Anatomi dan Histopatologi Hepar .....	15
2.7 Treadmill .....	18
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b> .....	25
3.1 Kerangka Konsep .....	25
3.2 Hipotesis Penelitian .....	26
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	28
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	28
4.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	28
4.2.1 Alat .....	28
4.2.2 Bahan .....	29
4.3 Tahapan Penelitian .....	29
4.3.1 Rancangan Penelitian .....	29
4.3.2 Variabel Penelitian .....	30
4.4 Prosedur Kerja .....	30
4.4.1 Persiapan Hewan Percobaan .....	30
4.4.2 Persiapan Hewan Model Tikus Obesitas .....	31
4.4.3 Perlakuan Aktivitas Fisik Menggunakan <i>Treadmill</i> .....	32
4.4.4 Pengambilan Darah dan Koleksi Serum .....	33
4.4.5 Pengukuran Trigliserida .....	34
4.4.6 Pengambilan organ hepar .....	35
4.4.7 Histopatologi hepar .....	35

4.4.7.1 Pembuatan Preparat Histopatologi hepar.....	35
4.4.7.2 Pewarnaan HE Preparat Histopatologi hepar.....	37
4.4.7.3 Pengamatan Histopatologi Hepar .....	37
4.5 Analisa Data .....	37
<b>BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan <i>Treadmill</i> terhadap Berat Badan Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Obesitas Induksi HFD ( <i>High-Fructose Diet</i> ) 40% .....	38
5.2 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan <i>Treadmill</i> terhadap Kadar Trigliserida Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Obesitas .....	43
5.3 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan <i>Treadmill</i> terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) Obesitas .....	49
<b>BAB 6 PENUTUP</b> .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	55
<b>LAMPIRAN</b> .....	60



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Kerangka Konsep.....	23
4.1 Rancangan Kelompok Penelitian.....	30
5.1 Berat Badan dan Indeks Obesitas Lee Tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ).....	38
5.2 Kadar Trigliserida tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) perlakuan.....	43



DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>	<b>Halaman</b>
2.2 Treadmill tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) (ICS, 2015).....	19
2.5 Mekanisme kontraksi-relaksasi otot (Firmansyah dkk., 2007) .....	21
4.1 Rumus Indeks Obesitas Lee (Hermawan dkk, 2011) .....	32
5.1 Gambaran histopatologi hepar tikus ( <i>Rattus norvegicus</i> ) dengan pewarnaan HE dengan perbesaran 400x .....	49



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Penelitian.....	41
2. Perhitungan dan Pembuatan <i>High-Fructose Diet</i> (HFD).....	42



## DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

°C	: Derajat celcius
μL	:Mikro liter
μm	: Mikro meter
ANOVA	: <i>One Way Analysis of Varians</i>
Apo C-II	: Apolipoprotein C-II
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
BNJ	: Beda Nyata Jujur
C	: Atom karbon
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DNL	: <i>De Novo Lipogenesis</i>
FFA	: <i>Free fatty acid</i>
H	: Atom hidrogen
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HE	: Hematoksin-Eosin
HFD	: <i>High-Fructose Diet</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IL-6	: Interleukin-6
LPL	: Lipoprotein lipase
mL	: Mili liter
mm	: Mili meter
mRNA	: <i>messenger Ribo Nucleotid Acid</i>
Na	: Atom Natrium
O	: Atom oksigen
PUFA	: <i>Polyunsurated fatty acid</i>
TG	: Trigliserida
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
VHDL	: <i>Very High Density Lipoprotein</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar belakang

Obesitas merupakan kondisi tidak normal dimana terdapat akumulasi lemak yang terdapat dalam tubuh. Obesitas adalah penyakit yang kompleks dengan banyak penyebab. Hal ini terjadi karena aktifitas fisik tidak berbanding lurus dengan jumlah penggunaan kalori yang sangat sedikit (Buchman, 2006). Manusia maupun hewan dapat mengalami kasus obesitas. Hewan peliharaan seperti anjing dan kucing akan mengalami obesitas dikarenakan terlalu seringnya pemilik memberikan camilan dan juga pakan. Pemilik tidak menyadari bahwa efek negatif memberikan pakan yang berlebihan akan membuat hewan peliharaan menjadi malas bergerak dan akhirnya akan menimbulkan obesitas (AgroMedia, 2008). Pakan yang dijual secara komersial dipasaran kebanyakan komposisinya mengandung karbohidrat dengan alasan harga karbohidrat lebih rendah dan paling mudah digunakan untuk alasan sumber energi dibandingkan dengan bahan lain. Pada pakan komersial karbohidrat merupakan bahan paling utama, akan tetapi mengkonsumsi karbohidrat secara berlebihan akan menimbulkan gejala serta kasus obesitas dan juga gangguan pencernaan (Yuliarti, 2010). Fruktosa merupakan salah satu karbohidrat yang dapat menyebabkan obesitas. Fruktosa yang dikonsumsi secara berlebihan akan menginduksi terjadinya masalah kelainan metabolis seperti obesitas (Bray dkk., 2004).

Menurut Diez dan Nguyen (2006), ada banyak faktor yang memicu terjadinya obesitas pada suatu individu khususnya pada hewan kesayangan kucing

dan anjing yaitu : genetik, usia, jenis kelamin, penyakit endokrin, pakan yang tidak seimbang, jenis pakan, obat-obatan dan kurangnya aktivitas fisik.

Pada negara berkembang seperti Indonesia banyak ditemukan kasus obesitas pada hewan. Di negara maju maupun negara berkembang obesitas merupakan kelainan yang sangat menyebar luas. Menurut data yang dikeluarkan oleh POP (2012), terdapat 36,7 juta (52,5%) anjing di USA mengalami obesitas dan 43,2 juta (58,3%) kucing di USA mengalami obesitas yang diantaranya 80 juta anjing dan kucing beresiko tinggi menderita penyakit *weight-related disorders* seperti diabetes tipe-2, osteoarthritis, hipertensi dan kanker. Sedangkan di Indonesia khususnya di Surabaya, berdasarkan hasil penelitian Triakoso dan Isnaini (2012) menunjukkan bahwa sebanyak 30 ekor (9,09%) dari jumlah 330 ekor anjing yang diperiksa mengalami obesitas.

Obesitas akan mempengaruhi fungsi dari hepar, Sel hepar tidak dapat memetabolisme lemak dengan baik apabila akumulasi lemak dalam hepar lebih dari 10% dari berat hati itu sendiri, jika proses ini terjadi terus menerus maka akan menimbulkan sel tidak mampu menjalankan fungsinya sehingga memicu kematian sel (nekrosis dan apoptosis), (Macfarlane dkk, 2000).

Penderita obesitas akan disertai dengan meningkatnya kadar trigliserida (TG) yang disebabkan oleh aktifitas enzim lipoprotein lipase (LPL) dan *abdominal obesity*. Enzim LPL adalah salah satu enzim yang sangat penting dan berfungsi dalam proses metabolisme lemak dalam tubuh (Dugi dkk., 1997). Penurunan aktivitas enzim LPL akan mengganggu proses hidrolisis trigliserida (TG) VLDL dan kilomikron (Goldberg, 2001).

Salah satu cara untuk mengatasi obesitas yaitu dengan melakukan aktifitas fisik, mengingat kurangnya aktifitas fisik akan membuat lemak menumpuk dan menyebabkan obesitas. Salah satu cara yang sangat efektif untuk menurunkan lemak yaitu dengan cara melakukan aktifitas fisik daripada melakukan diet, karena lebih efektif dalam melakukan penurunan lemak. Penurunan berat badan dapat diatasi dengan aktifitas fisik karena penggunaan energi lebih tinggi pada saat energi tidak berubah (Pescatello dan Heest, 2000).

Berdasarkan paparan diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah latihan fisik akan mempengaruhi kadar trigliserida dan juga gambaran histopatologi hepar. melalui aktifitas fisik dengan cara treadmill secara rutin tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas yang diinduksi dengan *high-fructose diet* (HFD).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan diatas, dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*high-fructose diet*)?
2. Apakah aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dapat mengurangi gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*high-fructose diet*)?

### 1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan di atas, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan dalam penelitian adalah tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain wistar berumur 6-8 minggu dengan berat badan rata-rata 150-200 gram yang berasal dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta strain Wistar sejumlah 20 ekor, jenis kelamin jantan, berumur 6-8 minggu dengan berat badan 100-150 gram dan penggunaan hewan model telah mendapatkan sertifikat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (KEP) Universitas Brawijaya Nomor 276-KEP-UB tanggal 5 November 2014
2. Pembuatan keadaan obesitas pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan induksi HFD (*high-fructose diet*) 40%, yaitu 18 gram pakan babi *starter* (Pokphand 551<sup>®</sup>) ditambah 12 gram fruktosa (Modifikasi Vasselli dkk., 2013; Lestari dkk., 2014; Zarfeshani dkk., 2012).
3. Penentuan obesitas pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) menggunakan perhitungan Indeks Obesitas Lee, tikus dinyatakan obesitas jika Indeks Obesitas Lee  $> 0,3$  (Hermawan dkk, 2011).
4. Perlakuan yang diberikan adalah aktifitas fisik menggunakan *treadmill* dengan durasi waktu 5 menit per hari dan 10 menit per hari selama 14 hari dengan kecepatan 20 meter/menit (Modifikasi Burghardt dkk., 2004).
5. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida secara kuantitatif yang diukur menggunakan metode GPO-PAP (Glycerol

Phosphate Oxidase-Phenol Amino Phenazone) menggunakan Enzymatic-spectrophotometric. gambaran histopatologi hepar secara kualitatif menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX 51*. Berupa perlemakan, infiltrasi sel adiposa, kerusakan endhotel, terbentuknya vakuola-vakoula serta hipertrofi dan hiperplasia sel adiposa pada hepar.

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan diatas, tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui manfaat aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*high-fructose diet*).
2. Mengetahui manfaat aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dalam mengurangi gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*high-fructose diet*).

#### 1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan bahwa aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dapat menurunkan kadar trigliserida dan mengurangi gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*high-fructose diet*), sehingga aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dapat digunakan sebagai alternatif penanganan kondisi obesitas.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Obesitas

Obesitas adalah keadaan kelainan metabolik berupa akumulasi lemak berlebih yang disimpan pada jaringan adiposa dalam tubuh. Adapun penyakit yang bisa disebabkan oleh obesitas yaitu penyakit jantung, diabetes tipe-2, beberapa bentuk kanker, dan penyebab kematian (Kopelman, 2000). Obesitas terjadi karena tidak seimbangnya penggunaan energi dengan asupan makanan sehingga akan meningkatnya jaringan lemak pada organ hati, otot, dan organ lain yang melakukan metabolisme. Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi terjadinya obesitas pada hewan yaitu antara lain jenis pakan dan obat-obatan, penyakit endokrin, jenis kelamin, usia, genetik, dan kurangnya aktifitas fisik (*exercise*) (Diez dan Nguyen, 2006).

*Overweight* atau obesitas keduanya memiliki kesamaan yaitu abnormalnya akumulasi lemak yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan. Pada manusia, *body mass index* (BMI) adalah indeks yang digunakan untuk mengukur berat badan dan mengklasifikasikan apakah berat badan tersebut *overweight* atau Obesitas.. *body mass index* (BMI) diartikan dengan berat badan pada satuan kilogram dibagi dengan tinggi badan dengan satuan meter. Menurut WHO (2015), BMI  $\geq 25$  dinyatakan sebagai *overweight* dan BMI  $\geq 30$  dinyatakan sebagai obesitas. Terdapat perbedaan antara manusia dengan hewan anjing dan kucing, akan dinyatakan *overweight* bila berat badannya  $>15\%$  di atas berat badan maksimal dan dikatakan obesitas bila berat badannya  $>30\%$  dari berat badan optimal (German, 2006).

Menurut Hermawan dkk. (2011), pada hewan termasuk tikus, kondisi obesitas dapat ditentukan dengan cara menggunakan index obesitas lee. Perhitungan indeks obesitas Lee yaitu akar dari berat badan (gram) dikalikan dengan 10 lalu dibagi panjang naso-anal (mm). Jika nilai indeks obesitas Lee  $< 0,3$  berarti hewan tersebut masih normal dan tidak mengalami obesitas. Hewan dinyatakan obesitas jika memiliki nilai indeks obesitas Lee  $> 0,3$ .

Pengukuran dan kriteria penilaian obesitas selain menggunakan metode lee. yang pertama yaitu menggunakan Body Mass Indeks yang lazim digunakan untuk melakukan penilaian obesitas. Cara melakukan perhitungan dalam BMI yaitu melakukan pembagian antara berat badan (BB) dalam kilogram dan kuadrat tinggi badan (TB) dalam meter (Okorodudu dkk, 2010). yang kedua yaitu menggunakan lingkar pinggang. Menurut Wall dkk, (2011) penunjukan pengukuran lingkaran pinggang dari tahun ke tahun dibandingkan dengan pertambahan ukuran lingkaran pinggang dari tahun ke tahun dibanding dengan pertambahan BMI pada organ muda obesitas sehingga pengukuran ini lebih erat kaitannya dengan tingkat resiko gangguan metabolik. selanjutnya yang ke 3 yaitu Pengukuran lemak subcutan, pemeriksaan ini melakukan prediksi presentase lemak tubuh total atau segmental termasuk lemak subcutan dengan menggunakan teknik skinfold caliper dengan satuan milimeter, salah satu tempat pengukuran metode ini adalah pada area tricep.

Dari beberapa pengukuran diatas Metode Lee lebih memberikan hasil yang merinci (Lee, 2013)

## 2.2 Patomekanisme Obesitas

Obesitas adalah suatu penyakit atau kelainan metabolik dimana terdapat penumpukan lemak secara menyeluruh, dan jaringan lain didalam tubuh. Kelainan obesitas sulit untuk diatasi karena banyak faktor penyebab terjadinya obesitas dan bisa terjadi pada semua umur (paling rentan pada usia muda). Obesitas adalah terjadinya penimbunan lemak pada tubuh yang melebihi fungsi atau jumlah yang sesuai untuk kebutuhan metabolisme. Keadaan obesitas dapat memicu terjadinya penyakit jantung, diabetes tipe-2, beberapa bentuk kanker, dan kematian (Mushref dan Srinivasan, 2013).

Menurut Jurgen (2005), tikus yang telah diberi fruktosa 15% selama 3 bulan tidak menunjukkan perubahan bobot pada organ hepar secara signifikan, akan tetapi pada evaluasi histologi menunjukkan terjadinya peningkatan simpanan lemak pada hepar (Rosa, 2014)

Ackerman (2012) dalam penelitiannya menyatakan tikus jantan yang diberikan fruktosa 60% dalam diet akan memberikan perubahan patologi pada hepar, dalam kondisi kronis yang diakibatkan oleh peningkatan sintesis trigliserida yang merupakan hasil metabolisme fruktosa dalam hati (Rosa, 2014).

Hati akan mengalami gangguan berupa pemeriksaan histologi sel hepar yang telah mengalami degenerasi dan nekrosis, pewarnaan yang digunakan pada umumnya yaitu menggunakan pewarna HE (Hematoksilin Eosin) yang akan terlihat perubahan bentuk hepatosit dari simetris akan menjadi lebih besar dan tidak simetris, dan akan terjadi perubahan tempat keberadaan inti sel (Rosa, 2014).

Jaringan adiposa tersusun atas sel adiposit dan sel makrofag yang berasal dari infiltrasi monosit ke jaringan adiposa. Makrofag merupakan sumber utama yang memproduksi TNF- $\alpha$  dan 50% IL-6 (Weisberg dkk., 2003). Jaringan adiposa visceral memproduksi IL-6 lebih tinggi daripada jaringan adiposa subkutan. Ekspresi TNF- $\alpha$  meningkat di dalam jaringan adiposa pada penderita obesitas. TNF- $\alpha$  dapat secara langsung memicu resistensi insulin dengan mempengaruhi fosforilasi serine dari reseptor insulin, yang menghalangi sinyal insulin (Hotamisligil dkk., 1994).

### 2.3 Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Obesitas

Hewan coba atau hewan laboratorium merupakan hewan yang khusus dikembangbiakkan untuk keperluan penelitian biologik. Hewan laboratorium dipergunakan sebagai model dalam penelitian yang berkaitan dengan pengaruh obat atau bahan kimia pada manusia. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan percobaan yang banyak digunakan di laboratorium karena dapat berkembang biak dalam jumlah besar dan cepat. Kelebihan penggunaan tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan coba diantaranya : tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak biasa pada esophagus yang bermuara ke dalam empedu dan tidak mempunyai kantung empedu (Kusumawati, 2004).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Krinke (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Phylum : Chordata

Sub Phylum	: Vertebrata
Classis	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> L.

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dapat digunakan sebagai hewan model obesitas adalah strain wistar jantan dengan umur 6 sampai 8 minggu yang memiliki bobot badan antara 200 gram dengan masa aklimasi satu minggu di laboratorium (Firdausi dkk., 2012). Pemilihan tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar didasarkan pada beberapa hal, diantaranya, mudah diperoleh, mudah dalam perawatannya serta memiliki kemampuan metabolik yang cepat. Hal tersebut sangat bermanfaat dalam penelitian eksperimental yang bersangkutan dengan metabolisme tubuh (Srinivasan dan Ramarao, 2007).

Menurut Mutiyani (2005), tikus dengan umur 6-8 minggu masih belum dipengaruhi oleh hormon-hormon pertumbuhan dan seksual. Pemilihan tikus dengan jenis kelamin jantan pada beberapa penelitian dikarenakan tikus jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus betina (Sugiyanto, 1995). Menurut Faridah dkk, (2011). Kondisi hormonal tikus jantan relatif stabil sehingga tidak banyak mempengaruhi metabolisme tubuh.

Hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas dapat diinduksi dengan menggunakan diet tinggi lemak dan diet tinggi fruktosa. Berdasarkan

penelitian Rismawati dkk (2012), kondisi obesitas pada hewan model dapat dilakukan dengan induksi diet tinggi lemak. Pakan diet tinggi lemak yang diberikan pada hewan model terdiri atas 0,1% kolesterol, 0,5% kuning telur dan 10% lemak hewan. Selain diet tinggi lemak, diet tinggi fruktosa dapat pula dipergunakan untuk induksi obesitas pada hewan model. Berdasarkan hasil penelitian Kanarek (2014), penggunaan karbohidrat seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa dapat dipergunakan untuk menginduksi obesitas. Karbohidrat yang memberikan hasil terbaik, yaitu berupa peningkatan bobot badan hewan model secara signifikan adalah fruktosa. Kalori normal pada tikus yaitu  $672,42 \pm 123,53$  kkal.

#### **2.4 High-Fructose Diet (HFD) 40%**

*High-Fructose Diet* (HFD) adalah substansi yang mengandung 40% fruktosa dari total diet yang diberikan. Fruktosa adalah gula sederhana yang memberikan rasa manis yang secara alami terdapat pada buah-buahan, madu, sayuran, dan biji-bijian. Sumber utama fruktosa adalah sukrosa, yang merupakan turunan gula tebu dan gula bit. Fruktosa merupakan monosakarida yang terdiri atas 6 atom karbon (heksosa) yang merupakan isomer glukosa ( $C_6H_{12}O_6$ ) dan mengandung gugus karboksil (keton) (Prahastuti, 2011).

Fruktosa merupakan monosakarida yang mempunyai fungsi untuk menjadi sumber energi utama untuk metabolisme dalam tubuh. Karbohidrat juga akan mempengaruhi otot, karena otot akan membutuhkan karbohidrat untuk melakukan aktifitas. Metabolisme fruktosa dimediasi oleh enzim fruktokinase dan aldolase B, sehingga melewati kontrol fosfofruktokinase glikolisis dan menambah aliran

glikolitik. Konsumsi fruktosa sebagai pakan utama dapat meningkatkan berat hepar, konsentrasi lipid dan glikogen hepar, dan aktivitas enzim lipogenik hepar glukosa-6-fosfat dehidrogenase, enzim *malic*, *ATP citrate lyase*, dan sintesis asam lemak. Hiperlipidemia akibat pakan tinggi fruktosa dapat diduga akan meningkatkan sintesis hepatic dan juga menurunkan pemecahan trigliserida perifer (Suckow dkk., 2006).

*High-fructose diet* (HFD) 40% diketahui dapat menyebabkan inflamasi apabila di induksi dalam berbagai keadaan seperti obesitas, diabetes, aterosklerosis. Hal tersebut sesuai dengan Vasselli dkk. (2013) yang menyatakan bahwa berat badan akan meningkat secara signifikan apabila diet menggunakan kandungan 40% fruktosa. Menurut Bell dkk. (1998) agar tidak menyebabkan tikus mengalami stress, maka pemberian diet karbohidrat fruktosa dibatasi berkisar antara 30-40%, sedangkan *Intake* maksimal fruktosa yang dapat dilakukan oleh tikus hanya sekitar 60% dari total fruktosa yang diberikan.

Penyerapan fruktosa akan terjadi pada usus halus yang kemudian akan diangkut melalui venaporta ke hepar. Induksi akan dilakukan oleh fruktosa yang akan memicu terjadinya proses *de novo lipogenesis* (DNL) dengan menyediakan atom karbon untuk gliserol dan asil-KoA yang akan mensintesis trigliserida dan meningkatkan penimbunan lemak dalam hati yang menyebabkan penurunan sensitivitas insulin (Prahastuti, 2011). Asam lemak yang berlebihan akan menyebabkan resistensi insulin (Van Pelt dkk., 2015). Menurut Dewi (2007), resistensi insulin dapat dikenali dengan berkurangnya kemampuan insulin untuk

melakukan penghambatan glukosa yang keluar dari hati dan mendukung kemampuan untuk melakukan pengambilan glukosa pada lemak dan otot.

## 2.5 Trigliserida (TG)

Trigliserida adalah jenis lemak yang memiliki proporsi tinggi dalam makanan. Saat makanan dicerna, tubuh akan menghasilkan kalori yang dibutuhkan oleh sel otot sebagai energi. Apabila energi tersebut tidak segera digunakan, maka tubuh akan mengubahnya dalam bentuk trigliserida. Trigliserida tersebut disimpan dalam sel lemak sebagai cadangan energi bila dibutuhkan dan hormon akan melepaskan trigliserida sebagai energi antar waktu makanan. Selain berasal dari makanan, trigliserida pun dihasilkan oleh organ hepar sebanyak 80 %.

Jika secara teratur seseorang makan melebihi kalori yang dibakar serta memiliki aktifitas yang kurang, maka kelebihan kalori tersebut akan disimpan dalam sel lemak sehingga memungkinkan kadar trigliserida serum pun menjadi tinggi (hipertrigliseridemia). Hal ini telah dibuktikan dalam penelitian dimana 9 kadar trigliserida tikus-tikus percobaan mengalami kenaikan yang signifikan setelah lima belas hari diberi pakan tinggi lemak, ditunjang pula dengan aktifitas fisik hewan coba yang terbatas dalam kandang (Angela, 2008).

Penetapan kadar trigliserida menggunakan uji GPO-PAP (*Enzimatic spectophotometri*). Pemeriksaan kadar trigliserida dapat dilakukan dengan cara pembuatan regensia, pengukuran absorpsi larutan blanko dengan spektrofotometri, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi trigliserida serum darah yang akan dilakukan dengan cara otomatis dengan alat biosystem tipe A15. Cara membuat

regensia yaitu mencampur *Pipes buffer* 45 mmol/L, *magnesium chlorid* 5 mmol/L, 4 *chlorophenol* 6 mmol/L, *lipase* >100 U/ml, *glycerol kinase* > 1,5 U/ml, *glycerol-3-phosphate oxidase* > 4 U/ml, *peroxidase* > 0,8 U/ml, 4 *aminoantipyrineI* 0,75 mmol/L, ATP 0,9 mmol/L. Blanko dapat dihitung dengan cara mengukur absorbansi 300 µl regensia menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  505 nm selama 312 detik. Pengukuran nilai absorbansi dapat dilakukan dengan mencampurkan 300 µl regensia dengan 3 µl dan dicuci dengan *washing buffer* 12µl, kemudian diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada  $\lambda$  505 nm selama 312 detik dengan larutan blanko sebagai titik nolnya.

## 2.6 Anatomi dan Histologi Hepar

Hepar merupakan organ terbesar dalam rongga perut. Hepar dibagi menjadi 4 lobus : lobus dextra, lobus caudatus, lobus sinistra, dan quadratus. Terdapat lapisan jaringan ikat tipis yaitu kapsula glisson, dan diluarnya akan dilindungi oleh peritoneum (Sulaiman dkk., 2007). Pada hepar terdapat hillus atau yang biasa dikenal dengan porta hepatis yaitu tempat keluar masuknya pembuluh darah pada hepar. Pembuluh darah pada bagian ini adalah vena porta, arteri hepatica propia, dan terdapat ductus hepatica dextra dan sinistra (Sudoyo dkk, 2009). Vena pada hepar akan membawa darah keluar menuju vena cava inferior adalah vena hepatica. Terdapat syaraf pada hepar yang dibagi menjadi dua yaitu bagian permukaan hepar dan parenkim. Pada bagian parenkim syaraf dikendalikan oleh n.hepaticus yang berasal dari plexus hepaticus. Sedangkan daerah persyarafan permukaan hepar dikendalikan oleh nervous intercostalis bawah (Sylvia dkk, 2006).

Pada bagian hepar disebut sebagai lobulus, dimana tiap-tiap lobulus akan dipisahkan oleh jaringan ikat dan pembuluh darah. Pada masing-masing sudut lobulus akan ditemukan pembuluh darah yang biasa disebut dengan nama area portal. Pada area portal akan ditemukan cabang arteri hepatica, cabang vena porta dan juga ductus biliaris (Tim pengajar histologi, 2010) Hepar memproduksi empedu pada tiap harinya. Empedu sangat penting digunakan untuk membantu absorpsi lemak pada usus halus. Setelah mengabsorpsi lemak empedu akan di reabsorpsi di ileum dan kemudian akan kembali ke hepar. Empedu dapat digunakan kembali setelah mengalami konjugasi dan juga sebagian dari empedu tadi akan berubah menjadi bilirubin. Metabolisme yang terjadi pada hepar yaitu kolesterol, trigliserida, fosfolipid dan juga lipoprotein menjadi asam lemak dan gliserol. Hepar memiliki fungsi lain yaitu akan mempertahankan kadar glukosa darah selalu dalam kondisi normal. Hepar juga menyimpan glukosa dalam bentuk glikogen (Guyton, 2008).

Ada beberapa patologi yang terjadi pada hepar diantaranya yaitu radang, fibrosis, nekrosis dan lain-lain. Radang adalah tubuh akan melakukan perlawanan terhadap hadirnya benda asing yang masuk dalam tubuh, kemudian akan ditemui sel fagosit seperti monosit dan sel polimorfonuklear. Fibrosis ditandai dengan rusaknya sel yang tidak disertai dengan regenerasi, sehingga bisa dilihat secara macro akan terlihat atrofi ataupun hipertrofi. Nekrosis merupakan peristiwa terjadinya kematian sel atau jaringan organisme hidup. Nekrosis dapat dilihat dari perubahan morfologi, inti sel yang kromatin dan mengecil serta serabut retikuler yang berlipat-lipat. Sel hepar dapat mengalami nekrosis pada daerah luas maupun

kecil. Nekrosis dapat dibedakan menjadi tiga macam apabila di lihat dari area nekrosis yaitu nekrosis fokal, adalah dimana akan terjadi kematian sel dalam satu lobus. Kedua, nekrosis zonal yaitu terjadinya kematian sel hepar dalam satu lobus, ketiga nekrosis masif adalah nekrosis terjadi pada daerah yang luas (Robin, 2007).

Patologi hubungan hepar dengan obesitas yaitu pada kondisi obesitas, tubuh akan mengalami tubuh akan berusaha untuk mengeluarkan kelebihan kolesterol di dalam tubuh. Pengeluaran utama kolesterol pada tubuh adalah melalui jalur sintesis asam empedu yang berlansung di hepar. Proses sintesis asam empedu akan meningkatkan jumlah radikal bebas di dalam tubuh sehingga akan terjadi lipid peroksidasi. Radikal bebas akan diakibatkan karena antioksidan dalam tubuh tidak dapat bekerja optimal (Devanita. L, 2008).

Patologi terhadap hepar terjadi karena peroksidasi pada proses sintesa empedu mengakibatkan aktivitas enzim LPL dalam mengurai trigliserida dalam kilomikron menjadi asam lemak dan kemudian sisa-sisa kilomikron mengalami penurunan saat mengalami kondisi obesitas dan kadar trigliserida menjadi naik. Kilomikron yang tersisa akan dimetabolisme di dalam hepar dan akan menghasilkan lemak bebas dan trigliserida, trigliserida yang dibentuk di hepar akan diangkut dengan jaringan adiposa melalui jalur endogen. Lipoprotein yang berfungsi di jalur ini adalah VLDL yang selanjutnya terhidrolisis oleh enzim lipoprotein menjadi IDL. Aktivitas enzim LPL yang turun akibat peroksidasi lipid akan menyebabkan VLDL tidak dapat menjadi LDL akan terakumulasi didalam hepar. Akumulasi lemak dalam hepar biasanya terjadi apabila terlalu banyak asupan asam lemak bebas kedalam sel hepar, pembentukan lipid akan meningkat di dalam

hepar yang disebabkan toxin merusak jalur metabolisme lemak dan kondisi tertentu yang menyebabkan peningkatan metabolisme lemak dari jaringan adiposa seperti pada kondisi diabetes mellitus. Terdapat beberapa sel yang intinya dipertahankan walaupun ada yang tergeser kepinggir sitoplasma vakuola lemak (maronpot,1999)

## 2.7 Treadmill

*Treadmill* adalah alat yang digunakan untuk aktifitas fisik seperti lari, jalan, dan *jogging* yang umum digunakan untuk uji latihan (*exercise*) laboratorium. Sistem kerja *Treadmill* yaitu dengan cara menggerakkan alas (*belt*) secara terus-menerus menggunakan motor elektrik sebagai tenaga penggerak dan dapat digunakan dalam aplikasi medis (Cooper dan Storer, 2001). Menurut Phincas (2006), aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dengan durasi tertentu maka dapat digunakan sebagai perantara untuk menurunkan berat badan. Untuk menjaga kesehatan dan mengurangi berat badan pada penderita overweight dapat melakukan peningkatan intensitas latihan fisik secara rutin (Wadden dan Stunkard, 2002). Resistensi insulin dari obat-obatan dapat ditanggulangi lebih efektif dengan cara melakukan aktifitas fisik secara reguler (Mukhtar, 2012).

*Treadmill* lebih sering digunakan oleh manusia. Akan tetapi, sekarang penggunaan *treadmill* juga ditujukan pada hewan kesayangan (anjing dan kucing), maupun digunakan pada tikus (*Rattus norvegicus*) (**Gambar 2.4**). penentuan kapasitas latihan dan daya tahan dapat dicapai dengan cara melakukan latihan fisik (*exercise*). Ada beberapa dampak yang diperoleh dari Latihan fisik menggunakan

treadmill yaitu kardiovaskular, neuromuskular, dan fungsi metabolisme (ICS, 2015).



**Gambar 2.4** Treadmill tikus (*Rattus norvegicus*) (ICS, 2015).

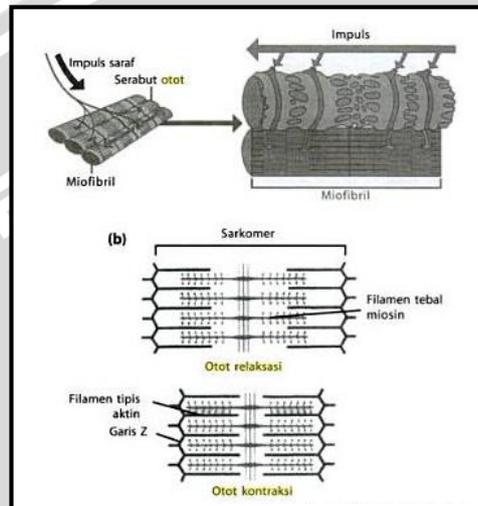
## 2.8 Mekanisme Kontraksi dan Relaksasi

Aktivitas fisik menyebabkan otot akan berkontraksi. Pada saat impuls dari saraf motorik datang sampai ke sinaps mioneural (sinaps antara saraf dan otot), membran presinaps akan melepaskan asetilkolin ke celah sinaps. Asetilkolin akan berdifusi ke celah sinaps, lalu berikatan dengan reseptornya di membran pascasinaps (pada membran sel otot) sehingga terbentuk kompleks reseptor-asetilkolin (kompleks R-AK). Kompleks R-AK akan menyebabkan sel otot terdepolarisasi sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel otot, retikulum sarkoplasma, dan tubulus transversus ion  $\text{Ca}^{2+}$ . Ion  $\text{Ca}^{2+}$  selanjutnya akan masuk ke sarkoplasma berikatan dengan troponin-C, dan mengubah konformasi troponin. Perubahan tersebut menyebabkan troponin menekan tropomiosin yang kemudian berputar sesuai dengan alurnya pada aktin sehingga posisi keduanya berubah dari posisi semula. Hal ini menyebabkan sisi aktif aktin untuk kepala miosin terbuka.

Akibat dari bergesernya posisi troponin, kepala miosin menjauh dari troponin-I mengakibatkan kepala miosin dalam keadaan bebas tidak terhambat oleh troponin-I. Kemudian kepala miosin akan berikatan dengan sisi aktif aktin sehingga terjadi hidrolisis ATP menjadi ADP membebaskan energi. Energi tersebut menyebabkan kepala miosin berputar ke pusat sarkomer. Kontraksi otot lurik membutuhkan banyak energi (Isnaeni, 2006).

Gabungan sisi aktif aktin dengan kepala miosin disebut jembatan silang (*cross bridges*) yang kemudian akan membebaskan sejumlah energi dan menyampaikan energi tersebut ke filamen aktin yang menyebabkan filamen aktin mengerut sehingga secara keseluruhan sarkomer ikut mengerut yang menyebabkan otot mengerut. Kepala miosin akan lepas dari filamen aktin. Proses ini memerlukan ATP yang diambil dari sekitarnya. Ketika filamen aktin lepas dari filamen miosin maka secara keseluruhan terjadi relaksasi otot. Proses kontraksi-relaksasi otot terjadi 5 kali per detik. Pada saat tidak terjadi rangsangan ion  $\text{Ca}^{2+}$  akan direabsorpsi, troponin dan tropomiosin tidak memiliki sisi aktif serta sarkomer dalam keadaan memanjang relaksasi (**Gambar 2.5**). Ketika otot relaksasi, kepala miosin selalu mengikat ATP dan tidak menempel pada aktin. Untuk menghidrolisis ATP pada miosin, diperlukan aktin sebagai kofaktor (Firmansyah dkk., 2007). Relaksasi sel otot dimulai dengan penurunan permeabilitas membran sarkolema, retikulum sarkolema, dan tubulus transversus terhadap  $\text{Ca}^{2+}$ . Hal ini menyebabkan pemasukan kalsium ke sarkoplasma terhenti. Proses tersebut dilanjutkan dengan pengaktifan pompa kalsium yang akan meningkatkan pemompaan kalsium dari sarkoplasma ke tempat penyimpanannya di dalam retikulum sarkoplasma dan

tubulus transversus. Setelah pompa kalsium bekerja, jumlah kalsium dalam sarkoplasma akan turun secara signifikan sehingga troponin-C tidak lagi berikatan dengan kalsium. Kemudian konformasi dan posisi aktin dan miosin akan kembali seperti semula sehingga relaksasi terjadi (Isnaeni, 2006).



**Gambar 2.5** Mekanisme kontraksi-relaksasi otot (Firmansyah dkk., 2007)

Sel otot diselubungi sarkolema. Di dalam sarkolema terdapat sarkoplasma yang merupakan sitoplasma sel otot. Dalam sarkoplasma terdapat ratusan serabut halus (miofibril) yang tersusun sejajar. Di permukaan sarkoplasma terdapat sejumlah besar inti sel yang tertata rapi dan teratur. Masing-masing miofibril tersusun atas filamen aktin dan miosin. Aktin terdiri dari troponin kompleks yang tersusun atas troponin-C, troponin-T, dan troponin-I. Troponin-C memiliki sisi aktif untuk mengikat kalsium, sedangkan troponin-I berperan dalam menghambat pertemuan antara kepala miosin dengan aktin (Isnaeni, 2006).

## 2.9 Pembentukan Energi pada Aktivitas Fisik

ATP merupakan sumber energi bagi otot, namun jumlah yang tersedia hanya dapat digunakan untuk kontraksi dalam beberapa detik saja. Aktivitas fisik yang intensif memerlukan sejumlah energi yang tinggi dan cepat, sehingga energi simpanan akan digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi tersebut. Asam lemak yang disimpan dalam jaringan adiposa akan dilepaskan dan dibawa ke sel otot oleh serum albumin untuk didegradasi menghasilkan energi. Proses degradasi asam lemak (lipolisis) dikatalisis oleh triasilgliserol lipase (*hormone-sensitive lipase*). Di dalam sel otot, asam lemak mengalami oksidasi-beta menghasilkan CO<sub>2</sub> dan energi ATP. Produksi ATP dibentuk dari ADP pada saat sel melakukan metabolisme senyawa yang memiliki energi potensial yang terikat dalam senyawa tersebut, seperti karbohidrat, asam lemak, dan asam amino. Karbohidrat didegradasi menjadi asam piruvat melalui reaksi glikolisis dalam sitosol menghasilkan ATP. Dilanjutkan dengan siklus asam sitrat (siklus krebs) dan proses fosforilasi oksidatif. Asam piruvat masuk dalam mitokondria dan dioksidasi menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O. Oksidasi satu molekul glukosa akan menghasilkan 36 ATP jika elektron dari senyawa pereduksi NADH diangkut dalam mitokondria melalui *glycerol phosphate shuttle*, glikolisis menghasilkan 2 ATP, siklus krebs menghasilkan 2 ATP, dan proses fosforilasi oksidatif akan dibentuk 32 ATP. NADH menghasilkan 2 ATP menggunakan *glycerol phosphate shuttle*. Pada jantung dan hati, total ATP yang dihasilkan sebanyak 38 ATP karena elektron dari senyawa pereduksi NADH diangkut ke dalam mitokondria menggunakan *malate-aspartate shuttle* (Yuwono, 2005).

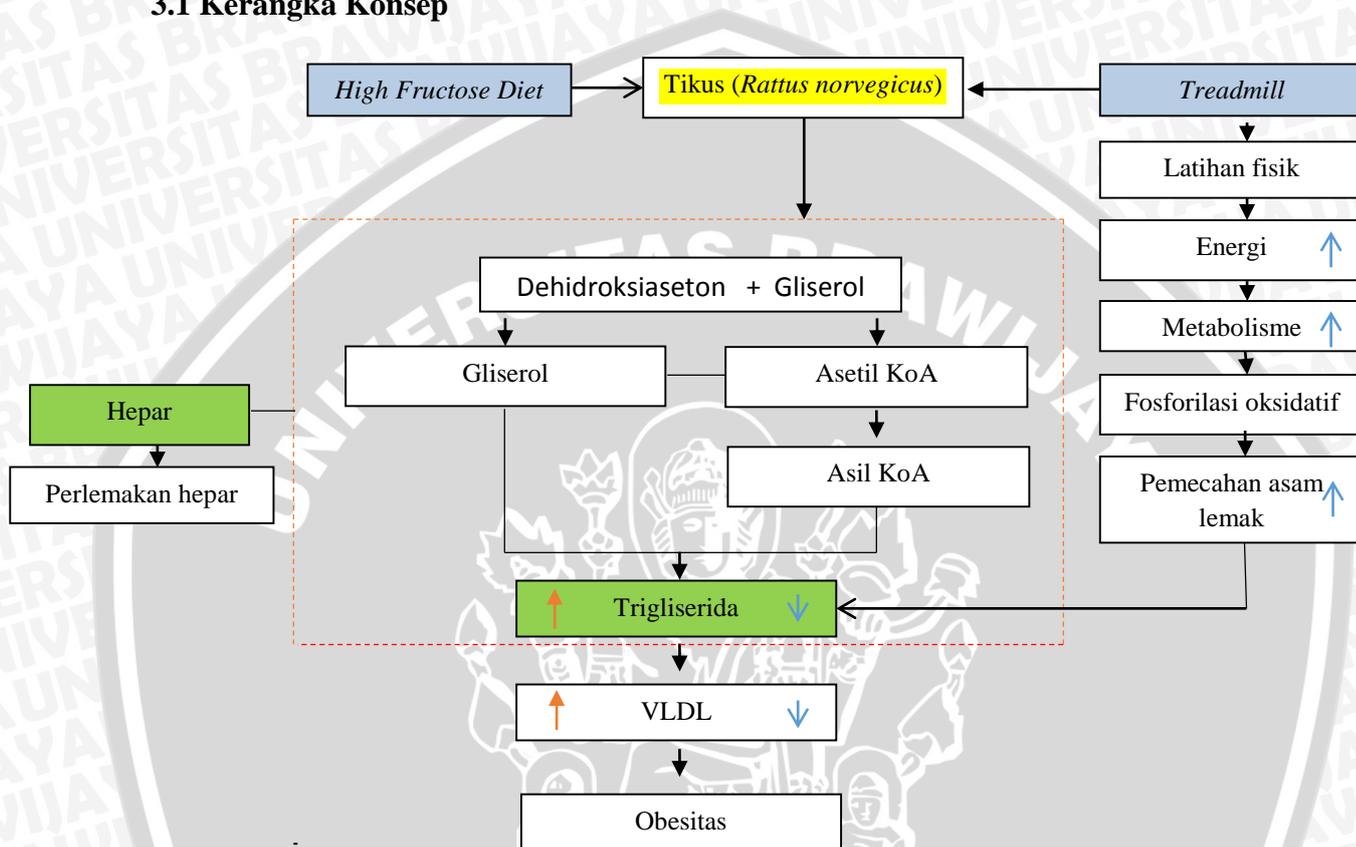
Pemecahan lipid menghasilkan gliserol dan asam lemak. Gliserol akan dikonversi menjadi gliseroldehid-3-fosfat. Gliserol yang difosforilasi dapat memasuki jalur glikolisis dimana terjadi konversi menjadi asam piruvat sebelum memasuki siklus krebs. Gliserol mengandung 3 atom karbon, sehingga menghasilkan setengah energi glukosa (19 ATP). Asam lemak akan mengalami oksidasi-beta dalam hati membentuk asetil KoA. Asetil KoA dapat langsung masuk dalam siklus krebs tanpa memasuki jalur glikolisis. Reaksi oksidasi-beta merupakan reaksi oksidasi atom karbon kedua (karbon beta) dari ujung asam rantai asam lemak. Oksidasi-beta akan memecah dua atom karbon dari rantai asam lemak (asam lemak 18C → asam lemak 16C → asam lemak 14C hingga menjadi asetil KoA 2C). Asam piruvat akan memasuki matriks mitokondria dimana terjadi pelepasan molekul karbondioksida (dekarboksilasi) membentuk senyawa asetil yang mengandung dua atom karbon. Ketika terdapat oksigen, asetil akan bereaksi dengan koenzim A menjadi asetil-KoA. Pada saat yang sama, dua atom karbon akan ditransfer ke aseptor hidrogen  $\text{NAD}^+$  membentuk  $\text{NADH}$  dan  $\text{H}^+$ . Siklus krebs diawali dengan pembentukan asam sitrat dari penggabungan antara asetil-KoA (2C) dengan asam oksaloasetat (4C). Asam sitrat akan mengalami empat reaksi redoks dan dua reaksi dekarboksilasi untuk meregenerasi asam oksaloasetat sebelum siklus ini berulang. Produk akhir siklus krebs untuk setiap asam piruvat menghasilkan 2 molekul  $\text{CO}_2$ , 4 molekul koenzim tereduksi –  $3\text{NADH} + \text{H}^+$  dan 1  $\text{FADH}_2$  serta 1 molekul ATP yang terbentuk dari fosforilasi substrat. Selama respirasi aerob siklus krebs akan terulang dua kali untuk setiap satu molekul glukosa sehingga disintesis 2 molekul ATP. Tahap akhir reaksi aerob adalah transpor elektron yang

membutuhkan oksigen. Transpor elektron merupakan reaksi reduksi dan oksidasi yang terjadi di membran dalam krista mitokondria yang terdiri dari serangkaian pembawa hidrogen dan elektron kemudian berakhir dengan oksigen. Atom hidrogen atau elektron akan melewati satu pembawa ke pembawa berikutnya. Pada setiap transfer, energi akan dilepaskan dan digunakan untuk pembuatan ATP dan produk akhirnya adalah air. 10  $\text{NADH} + \text{H}^+$  tereduksi dan 2  $\text{FADH}_2$  memasuki rantai transpor elektron mulai dari glikolisis dan siklus krebs dan kemudian terbentuk 3 ATP untuk setiap molekul  $\text{NADH} + \text{H}^+$  dan terbentuk 2 ATP dari setiap  $\text{FADH}_2$  sehingga total ATP yang terbentuk sebanyak 34 molekul. Pembentukan ATP dalam transpor elektron disebut fosforilasi oksidatif (James dkk., 2002).



### BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

#### 3.1 Kerangka Konsep



**Keterangan :**

- : variabel terikat
- : variabel control
- : variabel bebas
- : efek diet
- : efek aktivitas fisik menggunakan treadmill
- : menginisiasi
- : menghambat
- ↓



Konsumsi diet tinggi fruktosa yang berlebihan akan menyebabkan kadar lemak trigliserida (TG) dalam darah menjadi tinggi. Fruktosa difosforilasi di dalam hati oleh adenosin trifosfat menjadi fruktosa-1-fostat. Reaksi fosforilasi dikatalisasi oleh enzim fruktokinase. Fruktosa-1-fostat dipecah menjadi gliseraldehida dan dihidroksiaseton fosfat oleh aldose B. Keduanya selanjutnya diubah menjadi gliseraldehida-1-fosfat. Dihidroksiaseton fosfat juga akan diubah menjadi gliserol-3-fosfat. Gliseraldehida-3-fosfat kemudian diubah menjadi asam piruvat yang kemudian diubah menjadi asetil-KoA yang merupakan bahan utama pembentuk asil-KoA. Gliserol-3-fosfat dan asil-KoA diubah menjadi trigliserida (TG) melalui proses lipogenesis hepatic (Elliott dkk., 2002).

Trigliserida (VLDL-kolesterol) kemudian ditransportasikan ke seluruh tubuh. Ketika kadar trigliserida berlebihan, maka akan disimpan dalam jaringan adiposa. Jaringan adiposa yang berlebihan akan menyebabkan obesitas, selain terjadi peningkatan jaringan adiposa di seluruh tubuh akumulasi jaringan adiposa dapat terjadi di hepar. Jaringan adiposa tidak hanya berperan sebagai penyimpanan trigliserida, namun juga berperan dalam menghasilkan zat bioaktif, yaitu adipokin. Adipokin akan menstimulasi ROS (reactive oxygen species) yang akan menyebabkan kerusakan membran lipid pada hepar. ROS berlebihan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif (radikal bebas didalam tubuh melebihi kapasitas, sehingga tubuh tidak bisa menetralkannya) dan memicu terjadinya kerusakan komponen-komponen tubuh termasuk lipid.

Peningkatan aktivitas treadmill pada tikus akan menyebabkan meningkatnya energi yang dibutuhkan, hal tersebut akan mempengaruhi

metabolisme dari beberapa simpanan tubuh, salah satunya lemak. Pada awal terjadinya metabolisme lemak yaitu dimulai dengan pemecahan trigliserida. Trigliserida akan dikonversi menjadi asam lemak dan gliserol. Gliserol akan masuk dalam proses metabolisme yang akan diubah menjadi glukosa dan asam piruvat, sedangkan asam lemak akan dipecah dengan proses  $\beta$ -oksidasi untuk menghasilkan ATP (Jeukendrup dan Gleeson, 2004).

Kerusakan hepar terjadi karena disebabkan oleh degenerasi lemak. Degenerasi lemak akan mempengaruhi terjadinya perubahan susunan sel yaitu terbentuknya vakuola-vakuola pada hepatosit yang berisi lemak. Degenerasi lemak terjadi karena pada kondisi obesitas ditemukan adanya radikal bebas berlebih yang akan membuat penurunan aktivitas LPL. Penurunan aktifitas enzim LPL ini berefek pada penurunan hidrolisa trigliserida (TG), sel kehilangan daya untuk mengeluarkan TG yang mengakibatkan butiran TG terakumulasi di dalam hati dan menghasilkan perlemakan hati. Porth dan Matfin (2008) mengatakan bahwa terbentuknya radikal bebas di dalam hati menyebabkan sel kehilangan daya untuk mengeluarkan TG sehingga terjadi degenerasi lemak pada hati dan menyebabkan sel hati penurunan fungsinya. Peningkatan kadar radikal bebas lebih jauh akan menyebabkan terjadinya kematian sel hati berupa nekrosis.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang dapat diajukan yaitu penggunaan energi pada aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dapat mengurangi akumulasi adiposa dalam tubuh sehingga menurunkan trigliserida dan mengurangi kerusakan hepar.

## BAB 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Desember 2014 sampai bulan Maret 2015. Tempat penelitian meliputi Laboratorium Biokimia dan Fisiologi Hewan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengatahuan Alam Universitas Brawijaya dan Bagian Patologi Anatomi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang.

### 4.2 Alat dan Bahan

#### 4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : kandang tikus berupa bak plastik dan tutup kandang dari kawat, botol minum tikus, sekam berupa parutan kayu halus, tempat makan tikus, *treadmill* modifikasi, *scalpel* dan *blade*, gunting penjepit, pinset, sarung tangan, spuit 5 cc, tabung *eppendorf*, *microtube*, timbangan, gelas ukur, penangas air, pengaduk kaca, gelas objek, mikroskop Olympus BX51, *centrifuge*, *micropipette* ukuran 10-100  $\mu\text{L}$ , *yellow tip*, *blue tip*, spektrofotometer (Biosystem Type A15 *Spectrophotometers*), kompor gas, *cooler box*, *microtome*, *tissue processor*, *tissue embedding*, *water bath*, tempat *staining*, *parafin cassette*, *vortex*, botol *schott* 1000 mL (Duran), gelas ukur 250 mL (Pyrex® Iwaki), tabung *erlenmeyer* 250 mL (Pyrex® Iwaki), pipet ukur 5 mL (Pyrex® Iwaki), karet *bulb*, termometer, bunsen, tempat organ, *cover glass*, *tissue*, kapas dan aluminium foil.

#### 4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan strain Wistar, pakan tikus standar, pakan babi *starter* pokphand 551<sup>®</sup>, larutan fruktosa, Natrium klorida (NaCl) fisiologis 0,9%, Formaldehid 10%, aquades, etanol absolut I-III, 70%, 80%, 90% dan 95%, xylol, parafin blok dan pewarna *hematoxylin eosin*, balsam canada, serum darah, Reagent.

#### 4.2.3 Prinsip

Spektrofotometri adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar Universitas Sumatera Utara ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer (Dachriyanus, 2004). Sinar Ultraviolet mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, sementara sinar tampak mempunyai panjang gelombang 400-800 nm (Dachriyanus, 2004).

### 4.3 Tahapan Penelitian

#### 4.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dipergunakan apabila media yang dipergunakan dalam penelitian sama atau dianggap seragam (Kusriningrum, 2008). Pengukuran parameter kadar

Trigliserida dan gambaran histopatologi hepar dilakukan *post test only*. Hewan coba dalam penelitian terdiri atas : kelompok control negative, kelompok control positif, kelompok perlakuan treadmill 5 menit/hari dan kelompok perlakuan 10 menit/hari (Tabel 4.1).

**Tabel 4.1.** Rancangan Kelompok Penelitian

Variabel yang diamati	Ulangan				
	1	2	3	4	5
Kadar Trigliserida dan Histopatologi Hepar					
Kelompok K- (kontrol negatif)					
Kelompok K+ (kontrol positif/tikus obesitas)					
Kelompok P1 (tikus obesitas dengan aktivitas fisik menggunakan treadmill 5 menit/hari)					
Kelompok P2 (tikus obesitas dengan aktivitas fisik menggunakan treadmill 10 menit/hari)					

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus  $p(n-1) \geq 15$ , dimana

(p) adalah banyaknya perlakuan dan (n) adalah banyaknya ulangan (Kusriningrum, 2008), perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut :

$$p(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 5$$

#### 4.3.2 Variabel Penelitian

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : durasi waktu aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari dan 10 menit/hari. induksi HFD 40%

Variabel terikat : kadar Trigliserida dan histopatologi hepar tikus.

Variabel kontrol : jenis kelamin, umur, berat badan tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar, suhu ruang, pakan, kandang tikus, waktu perlakuan treadmill,

#### 4.4 Prosedur Kerja

##### 4.4.1 Persiapan Hewan Percobaan

Tikus dibagi dalam 4 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdapat 5 tikus, yaitu yaitu kelompok 1 adalah tikus yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif/K-), kelompok 2 adalah tikus obesitas (kontrol positif/K+), kelompok 3 adalah tikus obesitas dan diberikan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari dan kelompok 4 adalah tikus obesitas dan diberikan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (skema penelitian dapat dilihat pada **Lampiran 1**). Sebelum mendapatkan perlakuan, hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diadaptasikan terhadap lingkungan laboratorium selama 7 hari. Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 30 gram/ekor/hari dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Pakan yang diberikan berupa konsentrat dengan komposisi air maksimal 12%, protein kasar minimal 12%, lemak kasar 3-7%, serat kasar 8%, abu 10%, kalsium 0,9-1,2% dan fosfor 0,6-1%. Tikus dikandangkan sesuai kelompok perlakuan dan dipelihara pada ruang bersuhu 26-27°C dengan kelembaban ruang 83%.

#### 4.4.2 Persiapan Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas

Hewan model obesitas dibuat dengan induksi HFD (*high-fructose diet*) 40% yang terdiri dari 18 gram pakan babi *starter* (Pokphand 551<sup>®</sup>) dan 12 gram fruktosa yang dicampur menjadi satu. Pakan babi *starter* (Pokphand 551<sup>®</sup>) merupakan pakan berupa konsentrat dengan komposisi antara lain air 12%, protein kasar 12%, lemak kasar 3-7%, serat kasar 8%, abu 10%, kalsium 0,9-1,2%, dan fosfor 0,6-1%. Perhitungan dan pembuatan HFD (*high-fructose diet*) (**Lampiran 2**). Penentuan kondisi obesitas pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) dilakukan dengan perhitungan Indeks Obesitas Lee (**Gambar 4.1**), dimana hewan model dinyatakan obesitas apabila Indeks Obesitas Lee > 0,3 (Hermawan dkk., 2011). Pembuatan kondisi obesitas dengan induksi HFD 40% dilakukan selama 10 minggu (Modifikasi Zafeshani dkk., 2012). Penimbangan berat badan dan perhitungan indeks obesitas Lee dilakukan setiap satu minggu sekali sebelum tikus diinduksi HFD 40%.

$$\text{Indeks Obesitas Lee} = \sqrt{\frac{\text{Berat Badan (gram)} \times 10}{\text{Panjang Nasoanal (mm)}}}$$

**Gambar 4.1** Rumus Indeks Obesitas Lee (Hermawan dkk., 2011)

#### 4.4.3 Perlakuan Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill*

Perlakuan aktivitas fisik pada hewan model obesitas dilakukan dengan menggunakan *treadmill*. Waktu aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dibagi dalam 2 kelompok, yaitu kelompok perlakuan 1 (P1) selama 5 menit/hari dan 10 menit/hari untuk kelompok perlakuan 2 (P2). Penentuan durasi waktu aktivitas fisik

menggunakan *treadmill* mengacu pada penelitian Burghardt *et al.* (2004) untuk penelitian kemampuan alami lari dari tikus. Selain itu, durasi waktu untuk aktivitas fisik dengan intensitas rendah yaitu 20 sampai 30 menit (Blair, 1995) serta untuk program latihan kardiopolmuner selama 40 menit (Kraemer dan Ratamess, 2004). Perlakuan aktivitas fisik dilakukan satu kali dalam satu hari dengan pelaksanaan dilakukan pada pagi hari. Pemilihan pagi hari dilakukan untuk menghindari terjadinya stres (cekaman) yang muncul pada tikus akibat perlakuan (Suckow dkk, 2006).

Kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari pada pagi hari selama 14 hari. Sedangkan kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari pada pagi hari selama 14 hari. Perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dilakukan secara bergantian sesuai dengan kelompok perlakuan, yaitu diawali dengan perlakuan untuk kelompok perlakuan 1 (P1) selama 20 menit dan dilanjutkan untuk kelompok perlakuan 2 (P2) selama 40 menit. Selama perlakuan aktivitas fisik, hewan model diusahakan untuk terus melakukan aktivitas fisik. Pemberian jarum pada bagian belakang *treadmill* diharapkan dapat membuat hewan model melakukan aktivitas fisik tanpa berhenti. Pengukuran berat badan dan perhitungan indeks obesitas Lee dilakukan setiap selesai perlakuan fisik.

#### 4.4.4 Pengambilan Serum Darah Metode pengambilan darah menurut sirois

Metode pengambilan serum darah pada tikus yaitu dengan cara dilakukan dislokasi leher kemudian dilakukan pembedahan, setelah itu penagmbilan darah dilakukan dengan cara menusukkan spuit 3 ml ke jantung. Kemudian darah yang sudah diambil dimasukkan di *vacutainer*, diletakkan dengan posisi miring 45° dan dibiarkan mengendap dngan suhu kamar. Selanjutnya serum diambil dan dimasukkan pada eppendrof dan disimpan di refrigator, selain itu juga dilakukan pengambilan hepar.

#### 4.4.5 Pengambilan Organ Hepar Tikus

Pengambilan organ hepar tikus dilakukan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Kusnia (2014). Pengambilan organ hepar tikus dilakukan setelah perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 2 minggu selesai. Pengambilan organ hepar dilakukan dengan melakukan pembedahan. Sebelum dilakukan nekropsi, tikus dieuthanasi menggunakan dislokasi leher. pembedahan dilakukan pada rongga abdomen, dimana tikus diletakkan dengan posisi rebah dorsal di atas papan pembedahan. Organ hepar diambil dan dibagi menjadi dua bagian. Bagian kanan hepar dimasukkan ke dalam *phosphat buffer saline* (PBS) untuk pengukuran kadar Triglicerida dan dimasukkan ke dalam formaldehid 10% untuk pembuatan preparat histopatologi.

#### 4.4.6 Pengukuran Kadar *Trigliserida* (TG)

Setelah dilakukan pengambilan sampel darah pada tikus dilanjutkan dengan pemeriksaan kadar trigliserida. Pada pengukuran Trigliserida ini digunakan metode GPO-PAP (Enzymatic-spectrophotometric). Pemeriksaan kadar trigliserida terdiri dari pembuatan regensia, pengukuran absorpsi larutan blanko dengan spektrofotometer, dan pengukuran nilai absorbansi trigliserida serum darah yang dilakukan secara otomatis dengan alat Biosystem tipe A15. **Metode GPO-PAP**

: Prinsip dari metode ini yaitu pertama-tama Trigliserida akan diurai menjadi gliserol oleh enzim *Lipoprotein Lipase* kemudian gliserol hasil penguraian tadi oleh enzim *Gliserofosfooksidase* (GPO) akan diubah menjadi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Warna merah yang terbentuk adalah hasil reaksi dari H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dan phenol ditambah aminopenazon dengan bantuan enzim *peroksidase* (POD). Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan kadar trigliserid, semakin pekat warnanya maka kadar trigliserida semakin besar.

#### 4.4.7 Histopatologi Hepar

##### 4.4.7.1 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Untuk melakukan pembuatan preparat ada beberapa fase yang terdiri dari fiksasi, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, *embedding*, *sectioning*, penempelan dan pewarnaan (Junquiera dan Carneiro, 2004). Pertama yang dilakukan yaitu dengan cara memfiksasi organ hepar pada larutan formaldehid 10% selama 24 jam, selanjutnya dilakukan pengirisan dengan ukuran 2x1x0,5 cm supaya bisa dimasukkan pada kotak untuk diproses dalam *tissue processor*. Berikutnya,

organ hepar dimasukkan ke dalam etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 95%, xylol I dan II masing-masing selama 2 jam. Kemudian dimasukkan ke dalam cairan parafin dengan suhu 56°C selama 2 jam. Selanjutnya jaringan diambil menggunakan pinset dan selanjutnya dilakukan pemblokkan dengan menggunakan parafin block yang mempunyai ukuran sesuai terhadap tempat blok *microtome*. Organ dipotong menggunakan *microtome* dengan ketebalan 4-5 µm. Jaringan yang terpotong direndam pada *water bath* dengan suhu 40°C, kemudian ambil dengan *object glass*. Selanjutnya dikeringkan dalam suhu kamar 26-27°C. Preparat diwarnai dengan pewarnaan *hematoxyline eosin* (HE) (Wati dkk., 2013).

#### 4.4.7.2 Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) Preparat Histopatologi Hepar

Urutan cara melakukan pewarnaan *hematoxyline eosin* (HE) diawali dengan tahapan deparafinasi yaitu dengan memasukkan preparat ke dalam xylol bertingkat I-III masing-masing selama lima menit. Kemudian dilakukan tahapan rehidrasi, dimana preparat dimasukkan dalam etanol, mulai dari etanol absolut I-III, 95%, 90%, 80% dan 70% masing-masing selama lima menit, lalu direndam dalam aquades selama lima menit. Setelah itu dilakukan pewarnaan, preparat dimasukkan dalam pewarna *hematoxyline* kurang lebih 10 menit. Kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 menit, dibilas dengan aquades dan dimasukkan ke dalam pewarna *eosin* selama 5 menit. Selanjutnya preparat direndam dalam aquades untuk menghilangkan pewarna *eosin* yang masih menempel. Tahapan berikutnya dilakukan dehidrasi dengan memasukkan preparat ke dalam etanol bertingkat dari 70, 80, 90 dan 95% hingga etanol absolut I-III. Selanjutnya dilakukan *clearing*

dengan memasukkan preparat pada xylol I-II dan dikeringkan. Selanjutnya dilakukan *mounting* dengan menggunakan entellan (Jusuf, 2009)

#### 4.4.7.3 Pengamatan Histopatologi

Pengamatan histopatologi organ hepar menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX 51* dengan perbesaran 40x, 100x dan 400x. Kemudian gambar diambil dengan menggunakan kamera digital. Yang diamati pada organ hepar yaitu hepatosit dengan adanya perlemakan, infiltrasi sel adiposa, kerusakan endotel, terbentuknya vakuola-vakuola lemak pada hepar.

#### 4.5 Analisa Data

Analisa data kuantitatif kadar Trigliserida dilakukan secara statistika menggunakan uji sidik ragam *one way analysis of varians* (ANOVA) yang dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau Tukey untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang nyata dengan tingkat signifikansi 5% menggunakan Microsoft Office Excel dan *statistical package for the social science (SPSS) version 16.0 for windows*. Sementara itu, hasil pengamatan histopatologi hepar dianalisa secara deskriptif.

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill* terhadap Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas Induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40%

Pengukuran berat badan pada tikus (*Rattus norvegicus*) digunakan untuk mengetahui keberhasilan induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% dalam menginduksi obesitas dan keberhasilan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* dalam menurunkan obesitas. Penentuan peningkatan dan penurunan berat badan dapat ditentukan antar kelompok perlakuan dengan menggunakan indeks obesitas Lee. Penurunan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas hasil induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% yang mendapatkan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* (Darmono, 2015).

**Tabel 5.1** Berat Badan dan Indeks Obesitas Lee Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata Berat Badan (g)	Berat Badan (%)		Indeks Obesitas Lee
		Peningkatan dari kontrol negatif	Penurunan dari kontrol positif	
Kontrol Negatif (K-)	235,3±18,05 <sup>a</sup>	-	-	0,255±0,01 <sup>a</sup>
Kontrol Positif (K+)	344,5±21,12 <sup>b</sup>	46,41	-	0,315±0,01 <sup>b</sup>
Aktivitas Fisik selama 5 menit (T1)	332,9±22,50 <sup>b</sup>	-	3,37	0,307±0,01 <sup>b</sup>
Aktivitas Fisik selama 10 menit (T2)	260,0±34,19 <sup>a</sup>	-	24,53	0,265±0,01 <sup>a</sup>

Keterangan : notasi a dan b menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ )

Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dapat menurunkan berat badan dan indeks obesitas Lee tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% (**Tabel 5.1** dan **Lampiran 8**). Hasil berat badan dan indeks obesitas Lee tikus kelompok kontrol negatif dan kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dan dinyatakan tidak dalam kondisi obesitas sedangkan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) yang dinyatakan positif mengalami obesitas. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari merupakan durasi efektif dalam menurunkan berat badan dan kondisi obesitas dilihat dari indeks obesitas Lee di bawah 0,3 pada tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD 40% (Darmono, 2015).

Kontrol negatif (K-) menunjukkan berat badan tikus sebesar  $235,3 \pm 18,05$  gram dengan indeks obesitas Lee sebesar  $0,255 \pm 0,01$  (**Tabel 5.1**) yang menunjukkan tikus dalam kondisi obesitas. Berat badan tikus dapat menentukan obesitas dengan mempengaruhi perhitungan indeks obesitas Lee yang menunjukkan nilai dibawah 0,3. Hal ini dibuktikan menurut Hayatin (2007) kebutuhan basal energi tikus untuk hidup adalah sebesar 50,1598 kkal, sedangkan pemberian pakan standar sebanyak 30 gram/ekor/hari

dengan kandungan energi sebesar 38,685 kkal (**Lampiran 9.1**) tidak meningkatkan berat badan secara signifikan.

Peningkatan berat badan tikus kelompok kontrol positif (K+) sebesar 46,41% dari kelompok kontrol negatif (K-) dan berbanding lurus dengan indeks obesitas Lee sebesar  $0,315 \pm 0,01$ . Hal tersebut dikarenakan induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% selama 70 hari yang mengandung 81,276 kkal (**Lampiran 9.2**) akan menyebabkan peningkatan trigliserida. Kelebihan energi sebesar 31,118 kkal yang tidak digunakan dalam kebutuhan fisiologis akan disimpan dalam jaringan adiposa dalam bentuk trigliserida.

*High-Fructose Diet* (HFD) 40% selama 70 hari yang diberikan pada tikus (*Rattus norvegicus*) lebih efisien dalam proses lipogenesis, dengan menyediakan atom karbon untuk gliserol dan asil-KoA untuk sintesis trigliserida dan meningkatkan penimbunan lemak dalam hepar yang menyebabkan peningkatan trigliserida (Le dkk., 2006; Stanhope dan Havel, 2008). Fruktosa akan diabsorpsi oleh usus terutama jejunum dan masuk ke dalam vena porta untuk dibawa menuju hepar. Hepar memfosforilasi fruktosa menggunakan enzim fruktokinase dengan adenosine trifosfat (ATP) membentuk fruktosa-1-fosfat. Fruktosa-1-fosfat dipecah oleh aldolase B menjadi gliseraldehida dan dihidroksiaseton dikonversi menjadi gliseraldehida-3-fosfat. Fruktosa dimetabolisme menjadi 2 molekul trifosfat, yaitu dihidroksi aseton fosfat dan gliseraldehid-3-fosfat sebagai jalan pintas utama dalam glikolisis. Dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid-3-fosfat

merupakan bahan untuk pembentukan gliserol-3-fosfat dan asetil-KoA. Fruktosa menstimulasi lipogenesis dengan menyediakan atom karbon gliserol-3-fosfat dan asil-KoA membentuk trigliserida (Basciano dkk., 2005). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Trisviana (2012) yang menyatakan bahwa peningkatan trigliserida berbanding lurus dengan peningkatan berat badan.

Penurunan berat badan tikus kelompok perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari (T1) sebesar 3,37% dan penurunan indeks obesitas Lee menjadi  $0,307 \pm 0,01$  (**Tabel 5.1**) menunjukkan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari selama 14 hari belum mampu menurunkan kondisi obesitas. Hal tersebut ditunjukkan pada kelompok T1 (**Tabel 5.1**) yaitu tikus dengan pemberian aktivitas fisik selama 5 menit/hari tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol positif, yang menunjukkan pada kelompok T1 masih dalam kondisi obesitas.

Pemecahan simpanan cadangan makanan dapat diperoleh dengan cara melakukan aktivitas fisik untuk membakar energi dalam tubuh. Meski demikian apabila asupan kalori yang masuk kedalam tubuh berlebihan dan tidak diimbangi dengan aktivitas fisik yang seimbang akan menyebabkan tubuh mengalami obesitas. Menurut Aminudin (2011) kebutuhan energi untuk melakukan aktivitas fisik berlari pada manusia sebesar 10 kkal/menit. Sehingga tikus kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari mengalami kekurangan energi sebesar 18,882 kkal (**Lampiran**

**9.3).** Hal ini sesuai dengan penelitian Novitasari dkk. (2013) yang menyatakan bahwa aktivitas fisik yang kurang namun asupan makanan yang masuk lebih banyak, maka akan menyebabkan penimbunan lemak dalam tubuh. Pemecahan energi selama aktivitas fisik 5 menit/hari belum mampu menurunkan kondisi obesitas.

Penurunan berat badan tikus yang diberikan perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T2) sebesar 24,53% dari kelompok positif dan penurunan indeks obesitas Lee menjadi  $0,265 \pm 0,01$  (**Tabel 5.1**) menunjukkan bahwa aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari selama 14 hari mampu menurunkan kondisi obesitas. Hal tersebut ditunjukkan dengan penurunan berat badan dan indeks obesitas Lee yang tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Aktivitas fisik selama 10 menit memerlukan energi sebanyak 100 kkal, sedangkan energi yang dari kandungan HFD (*high-fructose diet*) 40% sebanyak 81,276 kkal tidak mampu memenuhi kebutuhan energi selama aktivitas fisik (**Lampiran 9.3**). Pemenuhan kebutuhan energi selama aktivitas fisik dilakukan dengan pemecahan cadangan energi berupa lemak. Menurut Jeukendrup dan Gleeson (2004), berat badan tikus akan cenderung turun karena cadangan energi dalam bentuk trigliserida pada jaringan adiposa dipecah untuk pembentukan ATP selama aktivitas fisik. Aktivitas fisik selama 10 menit efektif dalam menurunkan berat badan dan kondisi obesitas.

Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* yang efektif dalam menurunkan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% yaitu 10 menit/hari. Hal ini ditunjukkan dengan berat badan dan indeks obesitas Lee yang tidak berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini dikarenakan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari merupakan aktivitas fisik energi tinggi. Peningkatan kebutuhan energi akan dipenuhi melalui pemecahan cadangan energi dalam tubuh, salah satunya lemak. Pemecahan lemak melalui proses lipolisis dengan pemecahan trigliserida. Pemecahan trigliserida menyebabkan penurunan akumulasi jaringan adiposa yang akan diikuti dengan penurunan berat badan.

## 5.2 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill* terhadap Kadar Trigliserida Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas

Uji kadar trigliserida darah dilakukan untuk mengetahui pengaruh aktivitas fisik menggunakan *treadmill* pada tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% terhadap fungsi fisiologi hepar. Pengukuran kadar trigliserida darah dilakukan dengan metode spektrofotometer menggunakan kit GPO-PAP. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar trigliserida darah pada T1 dan T2 (Tabel 5.2).

**Tabel 5.2** Kadar Trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) perlakuan

Perlakuan	Rata-rata kadar trigliserida ( $\mu\text{g/mL}$ )	Kadar trigliserida (%)	
		Peningkatan dari kontrol negatif	Penurunan dari kontrol positif

Kontrol Negatif (K-)	44,6±2,073 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Positif (K+)	152,2±3,114 <sup>c</sup>	241	-
Aktivitas Fisik selama 5 menit (T1)	100,2±3,962 <sup>b</sup>	-	34,16
Aktivitas Fisik selama 10 menit (T2)	48,8±0,836 <sup>a</sup>	-	67,93

Keterangan : Notasi a, b, dan c menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ( $P < 0,05$ ).

Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* secara signifikan ( $P < 0,05$ ) mampu menurunkan kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas hasil induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% (**Tabel 5.2** dan **Lampiran 10**). Rata-rata kadar trigliserida kelompok kontrol negatif (K-), kelompok kontrol positif (K+) dan Aktivitas Fisik selama 5 menit (T1) berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ). Sedangkan pada kelompok kontrol negatif (K-) dan kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T2) tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ). Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T1) merupakan durasi paling efektif dalam menurunkan kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*).

Menurut Hardini dkk (2007) menunjukkan bahwa kadar trigliserida normal pada tikus kurang lebih 26-145 mg/dl. Rata-rata kadar trigliserida pada kelompok tikus (*Rattus norvegicus*) kontrol negatif sebesar 44,6±2,073 mg/dL. Kadar trigliserida pada kelompok kontrol negatif (K-) merupakan kadar trigliserida normal dan dipergunakan sebagai acuan dalam mengetahui adanya penurunan atau peningkatan kadar trigliserida yang terjadi pada kelompok kontrol positif (K+), kelompok aktivitas fisik

menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari (T1) dan kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T2). Trigliserida merupakan lipid yang disintesa oleh hepar. Salah satu jenis latihan kebugaran jasmani untuk lansia adalah senam. Senam lansia adalah olahraga ringan dan mudah dilakukan, tidak memberatkan untuk diterapkan pada lansia. Aktivitas olahraga ini akan membantu tubuh agar tetap bugar dan tetap segar, melatih tulang tetap kuat, mendorong jantung bekerja optimal dan membantu menghilangkan radikal bebas yang berkeliaran di dalam tubuh (Ronald,2013).

Rata-rata kadar trigliserida pada kelompok kontrol positif (K+) sebesar  $152,2 \pm 3,114$  mg/dL atau terjadi peningkatan rata-rata kadar trigliserida sebesar 241 % dibanding dengan kelompok kontrol negatif. Sesuai dengan yang dijelaskan oleh Hardini dkk (2007) bahwa kadar trigliserida normal pada tikus kurang lebih 26-145 mg/dl. Peningkatan kadar trigliserida pada kelompok kontrol positif (K+) dikarenakan induksi HFD (*high-fructose diet*) 40% selama 70 hari. Fruktosa yang diberikan pada tikus (*Rattus norvegicus*) akan menyebabkan obesitas, yang akan memicu komplikasi obesitas berupa perlemakan pada hepar (Jong dkk., 2002).

*High-Fructose Diet* (HFD) 40% yang diberikan pada tikus akan menyebabkan terjadinya peningkatan trigliserida. Peningkatan trigliserida akan menyebabkan terjadinya peningkatan akumulasi jaringan adiposa. Jaringan adiposa tidak hanya berperan sebagai penyimpan trigliserida, akan

tetapi juga menghasilkan zat bioaktif, yaitu adipokin. Adipokin akan menginduksi produksi radikal bebas dan akan menghasilkan proses yang dikenal sebagai stress oksidatif (Sanchez dkk., 2007).

Penurunan kadar trigliserida pada kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari (T1) sebesar 34,16% disebabkan karena perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit dalam 14 hari. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari merupakan perlakuan yang belum efektif dalam menurunkan kadar trigliserida. Hal ini ditunjukkan dengan kadar trigliserida T1 yang berbeda signifikan ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari mampu menurunkan kadar trigliserida, tetapi belum efektif dalam menurunkan berat badan pada tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas. Penurunan kadar trigliserida disebabkan karena aktivitas fisik akan meningkatkan kebutuhan energi, sehingga akan memicu metabolisme trigliserida. Trigliserida yang disimpan dalam jaringan lemak dipergunakan untuk pembentukan energi berupa ATP melalui proses B-oksidasi. *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) dan jaringan lemak dapat berkurang.

Penurunan rata-rata kadar trigliserida pada kelompok aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T2) sebesar 67,93% disebabkan karena aktivitas fisik selama 10 menit/hari dalam 14 hari. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari sangat efektif

dalam menurunkan kadar trigliserida pada tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas. Hal ini ditunjukkan dengan kadar trigliserida yang tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) dengan kelompok kontrol negatif. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari (T1) merupakan durasi yang paling efektif dalam menurunkan kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas dibanding dengan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari (T2). Hal ini ditunjukkan dengan rata-rata kadar trigliserida T2 lebih rendah dengan rata-rata kadar trigliserida T1.

Menurut Harikedua dkk., (2012) aktifitas fisik yang dilakukan selama  $> 10$  menit/hari merupakan aktivitas fisik kategori sedang atau berat. Aktivitas fisik berat dapat meningkatkan metabolisme dan konsumsi oksigen sehingga dapat meningkatkan produksi radikal bebas dan meningkatkan oksidasi LDL. Aktifitas fisik yang dapat meningkatkan sistem pertahanan antioksidan adalah aktivitas fisik dengan intensitas rendah atau sedang, karena aktivitas fisik rendah atau sedang mengacu pada program latihan yang direncanakan untuk meminimalkan pengeluaran radikal bebas (Harahap, 2008). Aktivitas fisik sedang dapat meningkatkan kemampuan adaptasi melalui pembentukan antioksidan endogen sehingga mengurangi radikal bebas (Arsana, 2014).

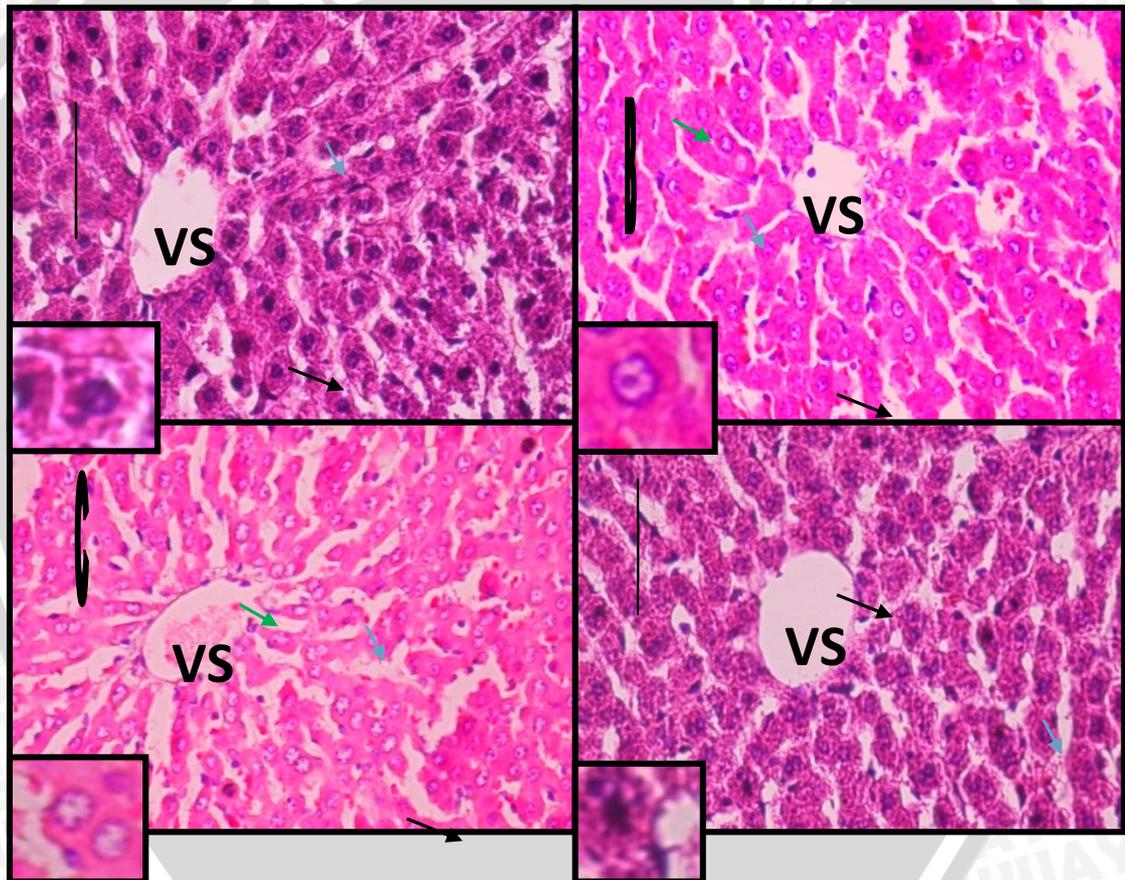
Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari dan 10 menit/hari mampu menurunkan kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas karena mampu menurunkan kadar trigliserida secara signifikan

( $p < 0,05$ ). Berdasarkan penurunan rata-rata kadar trigliserida aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari merupakan durasi yang paling efektif dalam menurunkan trigliserida, dikarenakan mampu menurunkan kadar trigliserida hingga hampir sama dengan kadar trigliserida kontrol negatif. Meskipun aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit belum mampu menurunkan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas secara detail. Hal ini dikarenakan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari merupakan aktifitas fisik dengan intensitas rendah, sehingga meminimalkan pengeluaran radikal bebas (Harahap, 2008). Jumlah radikal bebas yang berkurang dan berkurangnya LDL dalam hepar akan mengurangi kerusakan sel hepatosit, sehingga akan menormalkan sistem metabolisme hati dan menurunkan kadar trigliserida. Namun aktivitas fisik yang rendah akan menyebabkan proses metabolisme lemak berlangsung sedikit, sehingga penurunan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas pada kelompok T1 tidak mengalami penurunan yang tidak signifikan ( $p < 0,05$ ) yang ditunjukkan dengan tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif.

### 5.3 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill* terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas

Perlemakan hepar pada tikus (*Rattus norvegicus*) akibat diet fructosa dapat diketahui melalui pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE). Dari hasil pengamatan histopatologi adanya perlemakan pada hepar terjadi pada kelompok kontrol positif (B) maupun kelompok perlakuan T1 dan T2.

**Gambar 5.1.**



**Gambar 5.1** Gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan HE dengan perbesaran 400x

*Keterangan :* (A) kelompok kontrol negatif (K-), (B) kelompok kontrol positif (K+), (C) kelompok aktivitas fisik 5 menit (T1), dan (D) kelompok aktivitas fisik 10 menit (T2). (SV) sentral vein, ( ) sel hepar, ( ) sinusoid, ( ) sel hepar mengalami perlemakan,

Jaringan hepar tikus (pewarnaan HE) pada kelompok kontrol negatif (A) yang menunjukkan gambaran histologi normal, terlihat beberapa sel hepar yang dekat dengan vena sentralis (angka 1) dengan gambaran normal dan gambaran sinusoid nampak jelas. Sel hepatosit berderet secara radier dalam lobulus hati dan membentuk lempeng-lempeng, lempeng sel mengarah dari tepian lobulus ke pusatnya, celah diantara lempeng-lempeng mengandung kapiler yang disebut sinusoid hati, pada sinusoid hati kontrol negatif memiliki saluran yang berliku-liku dan melebar. Sesuai menurut Junqueira *et al* (2007) menyebutkan bahwa hati tersusun oleh lempeng-lempeng hepatosit yang saling beranastomosis yaitu pembentukan suatu hubungan antara dua rongga. hepatosit tersusun radial di sekeliling v. hepatica dan diantara jalinan hepatosit terdapat sinusoid. setiap hepatosit berada diantara sinusoid dengan perdarahan yang berasal dari v. porta hepatica dan a. hepatica.

Jaringan hepar tikus pada kelompok kontrol positif (B), terlihat di sekitar sel hepar yang dekat dengan vena sentralis mengalami perlemakan dengan pergeseran inti sel (angka 2) dan sinusoid tidak nampak teratur. Perlemakan pada kelompok B, C dan D ditunjukkan pada (angka 2), dari gambar tersebut dapat dilihat sekitar sel hepar mengalami perlemakan. Perlemakan, ditandai dengan adanya akumulasi trigliserida dan metabolit lemak lainnya pada sitoplasma, berupa vakuola jernih dalam sitoplasma (Sudiono, 2003).

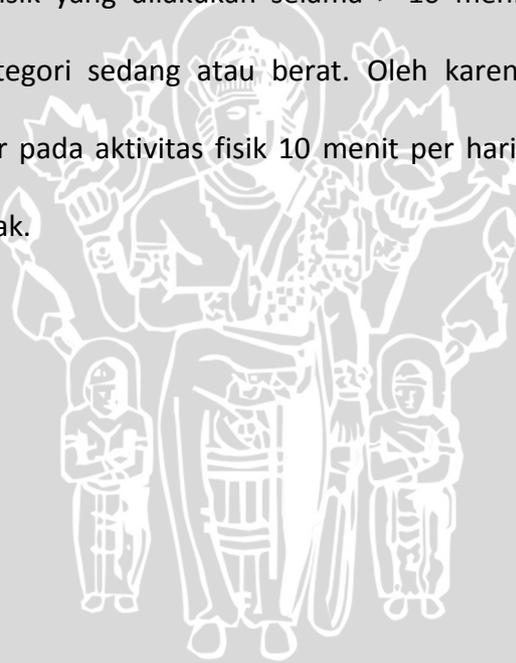
Hepar pada kelompok tikus kontrol negatif tidak ditemukan adanya perlemakan. Hal ini dikarenakan pakan yang diberikan tidak mengandung fruktosa, sehingga tidak terjadi proses lipogenesis fruktosa menjadi trigliserida. Sedangkan pada gambaran histopatologi hepar kelompok tikus kontrol positif terdapat adanya perlemakan di dalam sel hepar. Menurut Paderi (2007), akumulasi lemak umumnya dimulai dari daerah portal yang meluas menuju vena sentralis. Hal ini disebabkan karena suplai darah dari usus menuju ke hati melalui vena porta. Selanjutnya aliran darah akan melewati sinusoid menuju vena sentralis. Terdapat beberapa zat toksin akan dimetabolisme oleh hati. Hasil metabolisme akan dibawa oleh aliran darah sinusoid menuju vena sentralis. Dalam hal ini maka, kerusakan hepatosit berupa perlemakan akan banyak dijumpai pada daerah vena sentralis. Selanjutnya aliran darah akan melewati sinusoid menuju vena sentralis. Hasil metabolisme akan dibawa oleh aliran darah sinusoid menuju vena sentralis. Dalam hal ini maka, kerusakan hepatosit berupa perlemakan akan banyak dijumpai pada daerah vena sentralis.

Fruktosa yang diserap usus halus akan dibawa ke hepar dan akan dimetabolisme menjadi lemak melalui proses lipogenesis dan kemudian akan di transportasikan ke jaringan ekstra hepatic dalam bentuk VLDL (Prahastuti, 2011). Konsumsi pakan tinggi fruktosa akan meningkatkan pembentukan trigliserida yang berlebihan di hepar, fruktosa yang tidak ditransportasikan akan menumpuk di hepar dan secara berkelanjutan akan

menyebabkan terjadinya perlemakan. Fruktosa akan diabsorpsi oleh usus terutama jejunum dan masuk ke dalam vena porta untuk dibawa menuju hepar. Hepar memfosforilasi fruktosa menggunakan enzim fruktokinase dengan adenosine trifosfat (ATP) membentuk fruktosa-1-fosfat. Fruktosa-1-fosfat dipecah oleh aldolase B menjadi gliseraldehida dan dihidroksiaseton dikonversi menjadi gliseraldehida-3-fosfat. Fruktosa dimetabolisme menjadi 2 molekul trifosfat, yaitu dihidroksi aseton fosfat dan gliseraldehid-3-fosfat sebagai jalan pintas utama dalam glikolisis. Dihidroksiaseton fosfat dan gliseraldehid-3-fosfat merupakan bahan untuk pembentukan gliserol-3-fosfat dan asetil-KoA. Fruktosa menstimulasi lipogenesis dengan menyediakan atom karbon gliserol-3-fosfat dan asil-KoA membentuk trigliserida (Basciano dkk., 2005). Perlemakan pada hepar ditandai dengan adanya vakuola lemak yang berbentuk bulat berwarna putih berada di intraseluler hepar.

Hepar pada kelompok perlakuan aktivitas menggunakan *treadmill* selama 5 menit per hari terjadi pengurangan perlemakan pada hepar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (gambar 5.1C). Lemak intraseluler berkurang karena aktivitas fisik selama 5 menit per hari membutuhkan energi yang tinggi dan cepat. Untuk memenuhi kebutuhan energi tersebut didapatkan dari cadangan energi berupa trigliserida jaringan adiposa dan infiltrasi lemak yang tersebar di seluruh tubuh (Yuwono, 2005).

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok perlakuan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit per hari menunjukkan terjadinya pengurangan lemak lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan aktivitas *treadmill* selama 5 menit. (gambar 5.1D). Perlemakan intraseluler pada hepar akan berkurang karena *treadmil* selama 10 menit membutuhkan energi yang lebih tinggi dan cepat. Lipolisis pada jaringan adiposa akan lebih tinggi untuk memenuhi kebutuhan energi, sesuai menurut Harikedua dkk., (2012) aktifitas fisik yang dilakukan selama > 10 menit/hari merupakan aktivitas fisik kategori sedang atau berat. Oleh karena itu lemak yang terdapat di hepar pada aktivitas fisik 10 menit per hari akan mengurangi lemak lebih banyak.



## BAB 6 PENUTUP

### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 menit/hari dan selama 10 menit/hari mampu menurunkan kadar trigliserida tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% sebesar 34,16% dan 67,93%. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari merupakan aktivitas fisik yang paling efektif.
2. Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 10 menit/hari merupakan durasi paling efektif dalam mengurangi kerusakan gambaran histopatologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi HFD (*High-Fructose Diet*) 40% berupa perbaikan susunan sel dan berkurangnya sel nekrosis, sel inflamasi, edema serta hemoragi.

### 6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui durasi aktivitas fisik yang tepat sehingga dapat menurunkan kondisi obesitas tanpa disertai peningkatan kadar trigliserida dan kerusakan gambaran histopatologi organ hepar.

## DAFTAR PUSTAKA

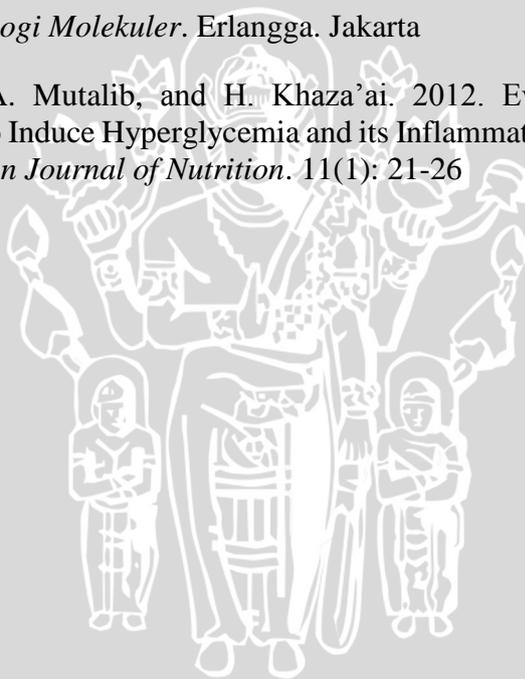
- Adytia, A., E.K. Untari, dan S. Wahdaningsih. 2014. Efek Ekstrak Etanol Daun *Premna cordifolia* Terhadap Malondialdehida Tikus yang Dipapar Asap Rokok. *Pharm Sci Res.* 1(2): 104-115
- AgroMedia. 2008. *Merawat Hewan Kesayangan*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta
- Arifah. 2006. Peran Lipoprotein dalam Pengangkutan Lemak Tubuh. *Kaunia.* 2(2): 121-134
- Bell, R. C., T. M. Sakanashi, C. L. Keen and D. T. Finegood. 1998. High Fructose Intake Significantly Reduces Kidney Copper Concentrations In Diabetic, Islet Transplanted Rats. *Biological Trace Element Research.* 61
- Bray, G.A., S.J. Nielsen, and B.M. Popkin. 2004. Consumption of High-Fructose Corn Syrup in Beverages May Play A Role in the Epidemic of Obesity. *Am J Clin Nutr.* 79: 537-543
- Buchman, A.L. 2006. *Clinical Nutrition in Gastrointestinal Disease*. SLACK Incorporated. USA
- Burghardt, P. R., L. J. Fulk, G. A. Hand and M. A. Wilson. 2004. The Effect of chronic treadmill and wheel running on behavior in rat. *Brain research* 1019 (2004) 84-96.
- Cooper, C.B. and T.W. Storer. 2001. *Exercise Testing and Interpretation*. Cambridge University Press. UK
- Dian, H. 2002. *Karakterisasi Enzim Lipoprotein Lipase (LPL) Sebagai Alternatif Pemeriksaan Gangguan Metabolisme Lemak Pada Penderita DM Tipe 2 In Vivo*. [TESIS]. Program Pasca Sarjana Biomedik. Universitas Brawijaya. Malang
- Diez, M. and P. Nguyen. 2006. The Epidemiology of Canine and Feline Obesity. *WALTHAM Focus.* 16(1): 2-8
- Diez, M and P. Nguyen. 2007. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Management of the Obese Dogs. *Encyclopedia of Canine Clinical Nutrition.* 3-26
- Enggermont, J.J. 2012. *The Neuroscience of Tinnitus*. Oxford University Press. UK
- Ever. 2012 *National Pet Obesity Survey Results*. <  
<http://www.petobesityprevention.org/2012-national-pet-obesity-survey-results/>> [Diakses tanggal 11 Januari 2015]

- Firmansyah, R., A. Mawardi, dan M.U. Riandi. 2007. *Mudah dan Aktif Belajar Biologi*. PT Setia Putra Inves. Bandung
- German, A.J. 2006. The Growing Problem of Obesity in Dogs and Cats. *J Nutr.* 136: 1940s-1946s
- Guyton & Hall, 2008. Buku ajar fisiologi kedokteran. edisi 11 ed. Jakarta: EGC;
- Robbins, 2007. Buku ajar patologi edisi 7: Jakarta: EGC;
- Hermawan, R., T.D. Sitorus, dan H.S. Sastramihardja. 2011. Efek Pemberian Niasin Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Wistar dengan Obesitas. *MKB*. 43(1)
- Hotamisligil, G.S., D.L. Murray, L.N. Choy, and B.M. Spiegelman. 1994. Tumor Necrosis Factor alpha Inhibits Signaling from the Insulin Receptor. *Proc Natl Acad Sci USA*. 91: 4854-4858
- Institut Clinique de la Souris [ICS]. 2015. Exercise Test. *Metabolic Exploration*. <<http://www.ics-mci.fr/en/departments/phenotyping/metabolic-exploration/challenges-models/>> [Diakses tanggal 22 Januari 2015]
- Isnaeni, W. 2006. *Fisiologi Hewan*. Kaninus. Yogyakarta
- James, J., C. Baker and H. Swain. 2002. *Principles of Science For Nurses*. Blackwell Science Ltd
- Junqueira, L.C. and J. Carneiro. 2005. *Basic Histology: Text and Atlas*. McGraw-Hill
- Kanarek, R.B. and N. Orthen-Gambill. 2014. Differential Effects of Sucrose, Fructose and Glucose on Carbohydrate-Induced Obesity in Rats. *The Journal of Nutrition*. 112: 1546-1554.
- Kopelman, P.G. Obesity as A Medical Problem. *Nature*. 404: 635-643
- Kregel, K.C. 2006. *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocols*. American Physiological Society. USA
- Kuehnel, W. 2003. *Color of Atlas Cytology, Hystology, and microscopic Anatomy*, 4<sup>th</sup> Ed. Thieme. Germany
- Kusriningrum, R.S. 2008. *Perancangan Percobaan: Untuk Penelitian Bidang Biologi, Pertanian, Peternakan, Perikanan, Kedokteran, Kedokteran Hewan, Farmasi*. Airlangga University Press. Surabaya
- Kusunoki, M., K. Tsutsumi, D. Sato, and T. Nakamura. 2012. Lipoprotein Lipase and Obesity. *Health*. 4(12A): 1405-1412

- Lee, C.Y. 2013. The Effect of High-Fat Diet-Induced Pathophysiological Changes in the Gut on Obesity: What Should be the Ideal Treatment. *Clinical and Translational Gastroenterology*. 1-8
- Matsuda, M. and I. Shimomura. 2013. Increased Oxidative Stress In Obesity: Implications for Metabolic Syndrome, Diabetes, Hypertension, Dyslipidemia, Atherosclerosis, and Cancer. *Obes Rec Clin Pract*. 7(5): 330-341
- Mayoral, W., J.A. Salcedo, and E. Montgomery. 2000. Biliary Obstruction and Pancreatitis Caused by Brunner's Gland Hypereplasia of the Ampulla of Vater: a Case Report and Review of the Literature. *Endoscopy*. 32(2): 998-1001
- Mukhtar, D. 2012. Makrofag pada Jaringan Adiposa Obes Sebagai Penanda Terjadinya Resistensi Insulin. *Artikel Kedokteran*. 29-34
- Mushref, M.A. and S. Srinivasan. 2013. Effect of High Fat Diet and Obesity on Gastrointestinal Motility. *Ann Trans Med*. 1(2)
- Navaneethan, U., X. Liu, A.E. Bennett, R.M. Walsh, P.G.K. Venkatesh, and B. Shen. 2011. IgG4-associated Ampullitis and Cholangiopathy in Chronic Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*
- Pascatello, L.S. and J.L.V. Heest. 2000. *Physical Activity Mediates A Healthier Body Weight in Presence of Obesity*. Br J Sports Med
- Pet Obesity Prevention [POP]. 2012. Pet Obesity Rates Rises, Cats Heavier Than Phincas, Y. 2006. *The Complete Holistic Guide to Working Out in the Gym*. University of Calgary Press. Canada
- Prahastuti, S. 2011. Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia. *JKM*. 10(2)
- Repetto, M., J. Semprine, and A. Boveris. 2012. *Lipid Peroxidation: Chemical Mechanism, Biological Implications and Analytical Determination*. Intech
- Rippe, J.M. 2014. *Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose, and Health*. Humana Press. USA
- Rosa, Ervianti Dela, 2014. Pengaruh diet tinggi fruktosa rendah magnesium terhadap histopatologis hepar tikus galur wistar. [Skripsi], Widya Mandala Catholic University Surabaya.

- Schunke, M., E. Schulte, U. Schumacher, L.M. Ross, E.O. Lamperti, and M. Voll. 2006. *Thiemes Atlas and Anatomy: Neck and Internal Organs*. Georg Thieme Verlag. Germany
- Serre, C.B.D.L., C.L. Ellis, J. Lee, A.L. Hartman, J.C. Rutledge, and H.E. Raybould. 2010. Propensity to High-Fat Diet-Induced Obesity in Rats Is Associated with Changes in Gut Microbiota and Gut Inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 299: 440-448
- Suckow, M.A., S.H. Weisbroth, and C.L. Franklin. *The Laboratory Rat, 2<sup>nd</sup> Ed.* Elsevier Inc
- Sudoyo SB, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, 2009. Buku ajar ilmu penyakit dalam jilid 1 edisi V: Jakarta: interna publishing;
- Sulaiman HA, LA Lesmana, HMS Noer, 2007. Buku ajar ilmu penyakit hati edisi pertama. Jakarta: Jayaabadi;
- Sylvia A. Price LMW, 2006. Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. edisi 6 ed. Jakarta: EGC;
- Tandra, H. 2007. *Segala Sesuatu yang Harus Anda Ketahui Tentang Diabetes*. PT Gramedia Pustaka. Jakarta
- Triakoso, N dan F. Isnaini. 2012. Hubungan antara Bangsa Anjing dengan Obesitas pada Anjing di Surabaya. *VetMedika J Klin Vet*. 1(1): 1-4
- Utamingrum, F. 2011. Pengaruh Pemberian Yoghurt Kedelai Hitam (*Black soyghurt*) terhadap Kadar Kolesterol LDL Serum pada Tikus Dislipidemia [Skripsi]. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang
- Van Pelt, D.W., S.A. Newsom, S. Schenk, and J.F. Horowitz. 2015. Relatively Low Endogenous Fatty Acid Mobilization and Uptake Helps Preserve Insulin Sensitivity in Obese Women. *International Journal of Obesity*. 39: 149-155
- Vasselli, J. R., P. J. Scarpace, R. B. S. Harris and W. A. Banks. 2013. Dietary Components in the Development of Leptin Resistance. *American Society for Nutrition Adv Nutr*. 4:164-175
- Wahyu, Sukarno 2010. Abstrak Pengaruh Pemberian Yoghurt Susu Kambing Sebagai Pencegahan Hiperkolesterolemia Pada Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Berdasar Ekspresi Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) dan Gambaran Histopatologi Hati. Program Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, Malang
- Wadden, T.A. and A.J. Stunkard. 2002. *Handbook of Obesity Treatment*. The Guildford Press. New York

- Weisberg, S.P., D. McCann, M. Desai, M. Rosenbaum, R.L. Leibel, and A.W.Jr. Ferrante. 2003. Obesity is Associated with Macrophage Accumulation in Adiposa Tissue. *J Clin Invest.* 112: 1796-1808
- Widjaja, H. 2007. *Anatomi Abdomen*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- World Health Organization [WHO]. 2015. *Obesity and Overweight*. Update January 2015
- Yudkin, J.S., M. Kumari, S.E. Humphries, and V. M. Ali. 2000. Inflammation, Obesity, Stress and Coronary Heart Disease: Interleukin-6 the Link?. *Atherosclerosis.* 148: 209-214
- Yuliarti, N. 2010. *Hidup Sehat Bersama kucing Kesayangan*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Yuwono, T. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta
- Zarfeshani, A., M.S.A. Mutalib, and H. Khaza'ai. 2012. Evaluating of High Fructose Diet to Induce Hyperglycemia and its Inflammatory Complications in Rats. *Pakistan Journal of Nutrition.* 11(1): 21-26



LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat Laik Etik Penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARENCE"**

No: 276-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG  
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

**PENELITIAN BERJUDUL** : EFEK AKTIFITAS FISIK MENGGUNAKAN TREADMILL  
TERHADAP KADAR MDA DAN GAMBARAN  
HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS OBESITAS  
INDUKSI HFD ( HIGH – FRUCTOSE DIET)

**PENELITI** : GEDE EKO DARMONO

**UNIT/LEMBAGA/TEMPAT** : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**DINYATAKAN** : LAIK ETIK

Malang, 5 November 2014

Ketua Komisi Etik Penelitian

Universitas Brawijaya

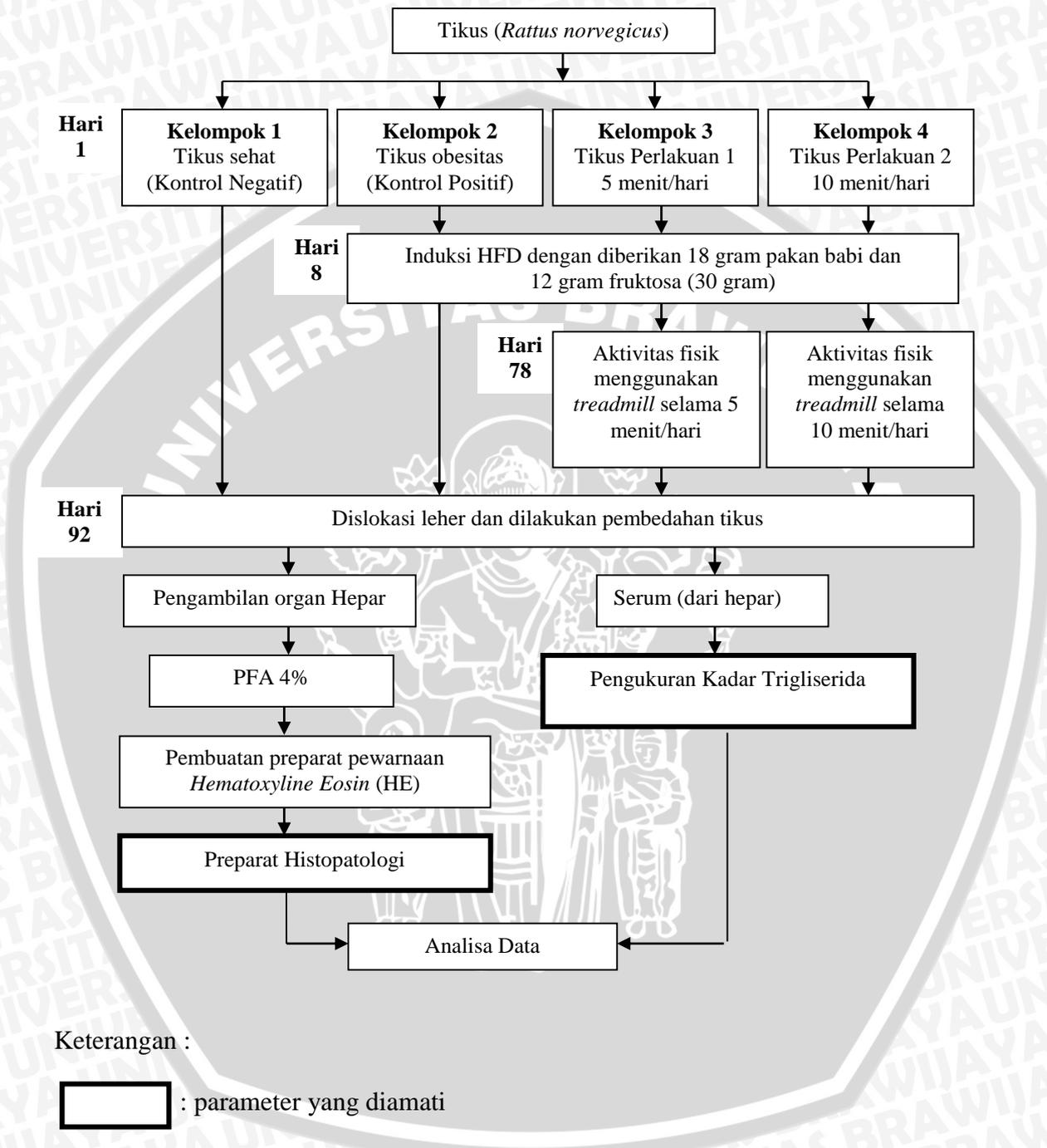


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.

NIP. 19600903 198802 2 001



**Lampiran 2. Skema Kerja Penelitian**



Keterangan :

: parameter yang diamati

### Lampiran 3. Perhitungan dan Pembuatan HFD (*High-Fructose Diet*)

HFD (*High-Fructose Diet*) yang digunakan untuk menginduksi kondisi obesitas yaitu 40%, yang artinya di dalam pakan harian yang diberikan pada tikus yaitu 30 gram/ekor/hari mengandung 40% fruktosa. Adapun perhitungan kebutuhan HFD (*High-Fructose Diet*) sebagai berikut :

1) Kebutuhan fruktosa =  $40\% \times 30 \text{ gram/ekor/hari} = 12 \text{ gram/ekor/hari}$

Kebutuhan pakan babi *starter* pokphand 551<sup>®</sup> =  $60\% \times 30 \text{ gram/ekor/hari} = 18 \text{ gram/ekor/hari}$

2) Jadi untuk pemberian 20 ekor tikus, fruktosa yang diperlukan sebanyak :

=  $20 \text{ ekor} \times 12 \text{ gram/ekor/hari}$

= 240 gram/hari

Jadi untuk pemberian 20 ekor tikus, pakan babi yang diperlukan sebanyak :

=  $20 \text{ ekor} \times 18 \text{ gram/ekor/hari}$

= 360 gram/hari

3) Fruktosa 240 gram dan pakan babi 360 gram dilarutkan dalam air dan di campur hingga tercampur.

4) Pakan timbang seberat 30 gram keudian di bentuk bulat dan diberikan setiap hari (per tikus)

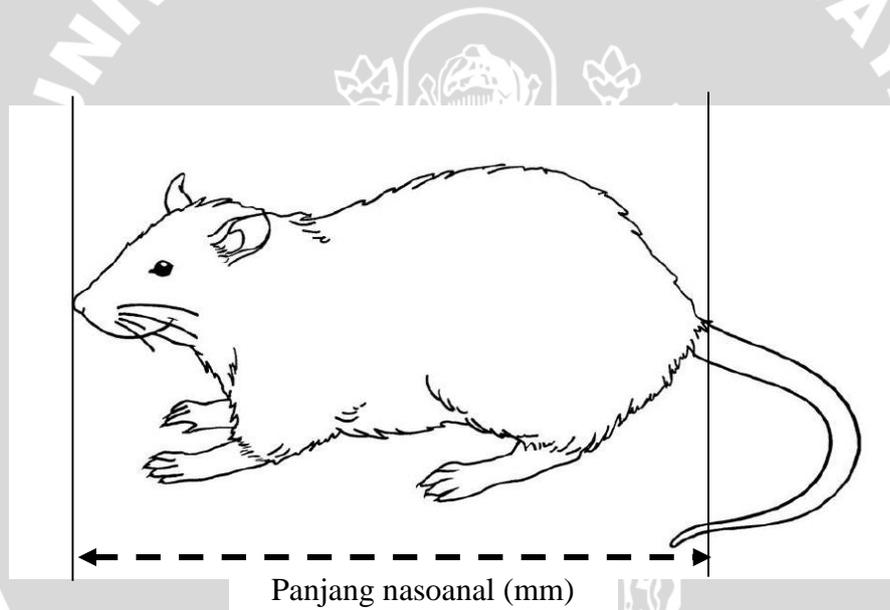
5) Pakan dibuat sehari sebelum induksi dan disimpan dalam *freezer* agar tidak tengik dan berjamur.

#### Lampiran 4. Perhitungan Indeks Obesitas Lee

Indeks obesitas Lee banyak dipergunakan untuk mengetahui kondisi obesitas pada hewan model, terutama tikus. Perhitungan indeks obesitas Lee dapat dilihat pada rumus :

$$\text{Indeks Obesitas Lee} = \frac{\sqrt{\text{berat badan (gram)} \times 10}}{\text{panjang nasoanal (mm)}}$$

Pengukuran indeks obesitas Lee dapat dilakukan dengan melihat gambar berikut :



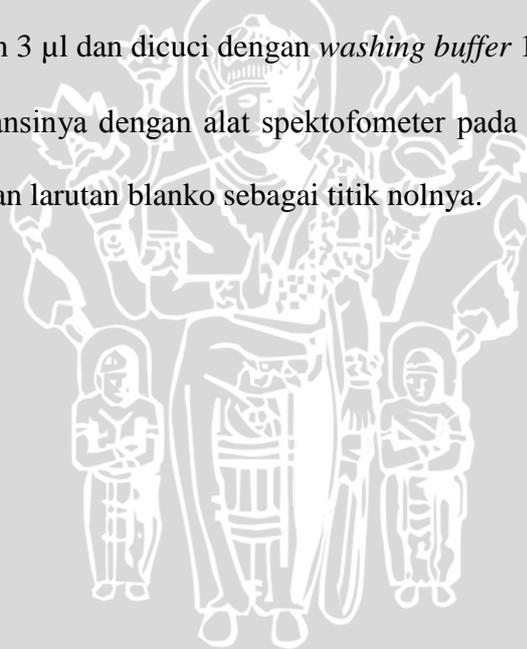
### Lampiran 5. Reagen untuk GPO-PAP

Bahan untuk pembuatan regensia

- *Pipes buffer* 45 mmol/L, *magnesium chlorid* 5 mmol/L, 4 *chlorophenol* 6 mmol/L, *lipase* >100 U/ml, *glycerol kinase* > 1,5 U/ml, *glycerol-3-phosphate oxidase* > 4 U/ml, *peroxidase* > 0,8 U/ml, 4 *aminoantipyrineI* 0,75 mmol/L, ATP 0,9 mmol/L

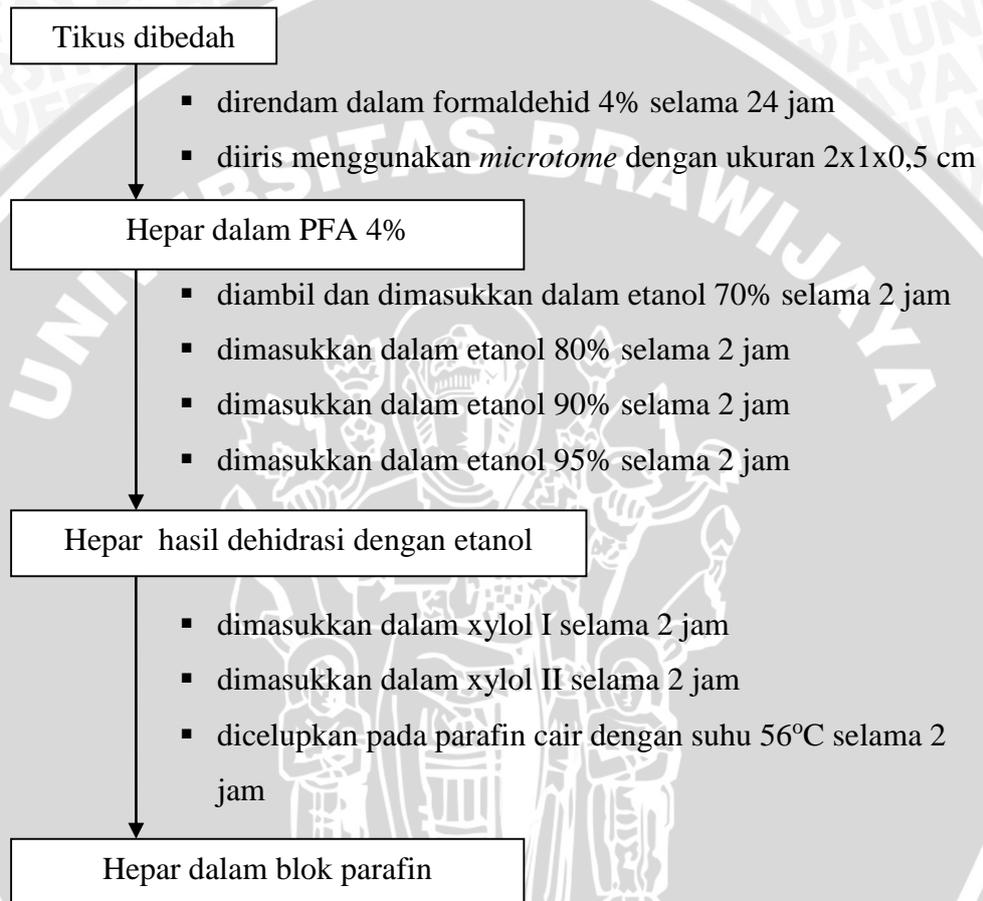
Penentuan absorbansi

- Blanko dapat dihitung dengan cara mengukur absorbansi 300  $\mu$ l regensia menggunakan spektrofotometer pada  $\lambda$  505 nm selama 312 detik.
- Pengukuran nilai absorbansi dapat dilakukan dengan mencampurkan 300  $\mu$ l regensia dengan 3  $\mu$ l dan dicuci dengan *washing buffer* 12 $\mu$ l,
- Diukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer pada  $\lambda$  505 nm selama 312 detik dengan larutan blanko sebagai titik nolnya.

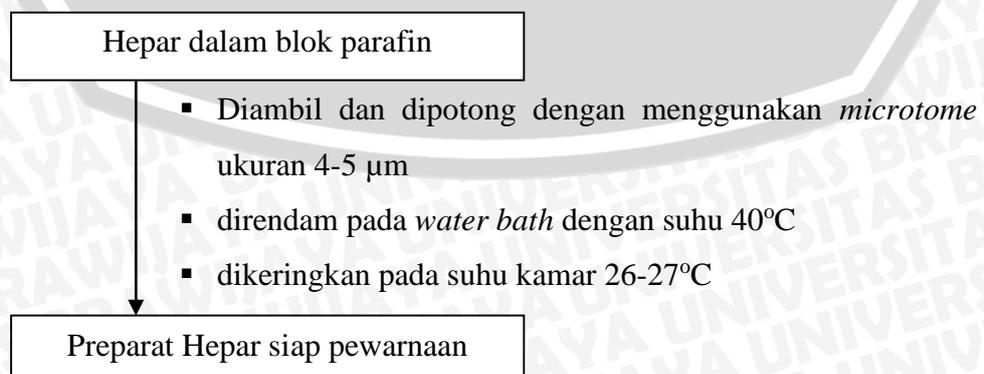


## Lampiran 6. Pembuatan Preparat Histopatologi Organ Hepar

### Pengambilan Sampel sampai Embedding Organ Hepar



### Pembuatan Preparat Organ



**Lampiran 7.** Prosedur Pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE)

Preparat hepar siap pewarnaan

- dideparafinasi dengan dimasukkan pada xylol bertingkat I-III masing-masing selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol absolut I-III selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 menit
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 menit
- direndam dalam aquades selama lima menit

Preparat hepar

- diwarnai dengan hematoxyline selama 10 menit
- dicuci dengan air mengalir selama 30 menit
- dibilas dengan aquades
- dimasukkan dalam pewarna eosin selama 5 menit
- direndam dalam aquades
- dimasukkan dalam etanol 70% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 80% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 90% selama 5 detik
- dimasukkan dalam etanol 95% selama 5 detik
- dimasukkan ke dalam etanol absolut I-III masing-masing selama 2 menit
- diclearing dalam xylol I-II masing-masing 3 menit
- dikering anginkan dan ditutup dengan *cover glass*
- dimounting dengan menggunakan entellan

Preparat Hepar Pewarnaan HE

**Lampiran 8.** Perhitungan Statistika Berat Badan dan Indeks Obesitas Lee

**8.1 Berat Badan Tikus (*Rattus norvegicus*)**

	1	2	3	4	5	Rata-rata
Kontrol Negatif	247	227	237	256	209,5	235,3±18,05
Kontrol Positif	361,5	341	370	319	331	344,5±21,12
Aktivitas Fisik 5 menit	340	359	297	335	333,5	332,9±22,50
Aktivitas Fisik 10 menit	255	287	272	283	203	260,0±34,19

• **Perhitungan Peningkatan atau Penurunan Berat Badan**

Perlakuan	Berat Badan (g)	Berat Badan (%)	
		Peningkatan dari kontrol negatif	Penurunan dari kontrol positif
Kontrol Negatif (K-)	235,3±18,05 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Positif (K+)	344,5±21,12 <sup>b</sup>	46,41	-
Aktivitas Fisik selama 5 menit (T1)	332,9±22,50 <sup>b</sup>	-	3,37
Aktivitas Fisik selama 10 menit (T2)	260,0±34,19 <sup>a</sup>	-	24,53

• **Perhitungan Peningkatan atau Penurunan Berat Badan**

a. Peningkatan Rata-rata Berat Badan Kontrol Positif (K+)

$$\begin{aligned} \% \text{ Peningkatan berat badan} &= \frac{(\text{Berat Badan K+} - \text{Berat Badan K-})}{\text{Berat Badan K-}} \times 100\% \\ &= \frac{(344,5 - 235,3)}{235,3} \times 100\% = 46,41\% \end{aligned}$$

b. Penurunan Rata-rata Berat Badan Aktivitas Fisik 5 menit/hari (T1)

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan Berat Badan T1} &= \frac{(\text{Berat Badan K+} - \text{Berat Badan T1})}{\text{Berat Badan K+}} \times 100\% \\ &= \frac{(344,5 - 332,9)}{344,5} \times 100\% = 3,37\% \end{aligned}$$

c. Penurunan Rata-rata Berat Badan Aktivitas Fisik 10 menit/hari (T2)

$$\begin{aligned} \% \text{ Penurunan Berat Badan T2} &= \frac{(\text{Berat Badan K+} - \text{Berat Badan T2})}{\text{Berat Badan K+}} \times 100\% \\ &= \frac{(344,5 - 260,0)}{344,5} \times 100\% = 24,53\% \end{aligned}$$

• **Perhitungan Statistika :**

a. **Uji Normalitas**

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Perlakuan	.169	20	.139	.863	20	.009
BeratBadan	.163	20	.173	.940	20	.245
a. Lilliefors Significance Correction						

b. **Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
BeratBadan			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.631	3	16	.605

c. Uji *One-Way ANOVA*

ANOVA					
BeratBadan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43312.137	3	14437.379	23.600	.000
Within Groups	9788.000	16	611.750		
Total	53100.137	19			

d. Uji Lanjutan *BNJ/Tukey's*

BeratBadan			
Tukey HSD			
		Subset for alpha = 0.05	
Perlakuan	N	1	2
Kontrol Negatif	5	2.35300E2	
Aktivitas Fisik 10 menit	5	2.60000E2	
Aktivitas Fisik 5 menit	5		3.32900E2
Kontrol Positif	5		3.44500E2
Sig.		.417	.879
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

## 8.2 Indeks Obesitas Lee sebelum Induksi *High-Fructose Diet* (HFD) 40%

Perlakuan	Tikus	Berat Badan (g)	Panjang Nasoanal (cm)	Indeks Obesitas Lee
Kontrol negatif	1	145,5	17	0,224
	2	141,5	16	0,235
	3	136	16	0,230
	4	121,5	16	0,218
	5	146,5	17	0,225
Rata-rata		<b>138,2</b>	<b>16,4</b>	<b>0,226</b>
Kontrol positif	1	140,5	16	0,234
	2	154,5	16	0,246
	3	112	16	0,209
	4	157,5	17	0,233
	5	150	17	0,228
Rata-rata		<b>142,9</b>	<b>16,4</b>	<b>0,230</b>
Aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari	1	97,5	16	0,195
	2	146	16	0,239
	3	157,5	17	0,233
	4	154,5	17	0,231
	5	148	17	0,226
Rata-rata		<b>140,7</b>	<b>16,6</b>	<b>0,225</b>
Aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 10 menit/hari	1	130,5	16	0,226
	2	118	16	0,215
	3	174	16	0,261
	4	137	16	0,231
	5	140	16	0,234
Rata-rata		<b>139,9</b>	<b>16</b>	<b>0,233</b>

Perlakuan	1	2	3	4	5	Rata-rata	Sd
kontrol negatif	0,224	0,235	0,230	0,218	0,225	0,226 <sup>a</sup>	0,01
kontrol positif	0,234	0,246	0,209	0,233	0,228	0,230 <sup>a</sup>	0,01
treadmill 5 menit	0,195	0,239	0,233	0,231	0,226	0,225 <sup>a</sup>	0,02
treadmill 10 menit	0,226	0,215	0,261	0,231	0,234	0,233 <sup>a</sup>	0,02

**Perhitungan Statistika:**

**1. Uji Normalitas**

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perlakuan	.169	20	.139	.863	20	.009
IOLAwal	.169	20	.136	.938	20	.222
a. Lilliefors Significance Correction						

**2. Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
IOLAwal			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.595	3	16	.628



**3. Uji One-Way ANOVA**

ANOVA					
IOLAwal					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	3	.000	.363	.780
Within Groups	.003	16	.000		
Total	.003	19			

**4. Uji Lanjutan (Tukey/BNJ)**

IOLAwal		
Tukey HSD		
		Subset for alpha = 0.05
perlakuan	N	1
aktivitasfisik5menit	5	.22480
kontrolnegatif	5	.22640
kontrolpositif	5	.23000
aktivitasfisik10menit	5	.23340
Sig.		.777

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

### 8.3 Indeks Obesitas Lee sebelum Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill*

Perlakuan	Tikus	Berat Badan (g)	Panjang Nasoanal (cm)	Indeks Obesitas Lee
Kontrol negatif	1	284	19	0,280
	2	287	19	0,282
	3	299	19	0,288
	4	233	18	0,268
	5	269	19	0,273
Rata-rata		<b>274,4</b>	<b>18,8</b>	<b>0,278</b>
Kontrol positif	1	357	19	0,314
	2	342	19	0,308
	3	361	19	0,316
	4	334	18	0,321
	5	368	19	0,319
Rata-rata		<b>352,4</b>	<b>18,8</b>	<b>0,316</b>
Aktivitas fisik menggunakan <i>treadmill</i> selama 5 menit/hari	1	345,5	19	0,309
	2	392	19	0,313
	3	312,5	18	0,311
	4	350	19	0,311
	5	352	19	0,312
Rata-rata		<b>350,4</b>	<b>18,8</b>	<b>0,311</b>
Aktivitas fisik menggunakan <i>treadmill</i> selama 10 menit/hari	1	362	19	0,317
	2	295	18	0,302
	3	308	18	0,308
	4	305	18	0,307
	5	303	18	0,306
Rata-rata		<b>314,6</b>	<b>18,2</b>	<b>0,308</b>

Perlakuan	1	2	3	4	5	Rata-rata	Sd
kontrol negatif	0,280	0,282	0,288	0,268	0,273	0,278 <sup>a</sup>	0,01
kontrol positif	0,314	0,308	0,316	0,321	0,319	0,316 <sup>b</sup>	0,01
treadmill 5 menit	0,309	0,313	0,311	0,311	0,312	0,311 <sup>b</sup>	0,00
treadmill 10 menit	0,317	0,302	0,308	0,307	0,306	0,308 <sup>b</sup>	0,01

**Perhitungan Statistika:**

**1. Uji Normalitas**

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perlakuan	.169	20	.139	.863	20	.009
IOLSebelumTreadmill	.269	20	.001	.834	20	.003
a. Lilliefors Significance Correction						

**2. Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
IOLSebelumTreadmill			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.344	3	16	.112

**3. Uji One-Way ANOVA**

ANOVA					
IOLSebelumTreadmill					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.004	3	.001	48.422	.000
Within Groups	.000	16	.000		
Total	.005	19			

**4. Uji Lanjutan (Tukey/BNJ)**

IOLSebelumTreadmill			
Tukey HSD			
		Subset for alpha = 0.05	
perlakuan	N	1	2
kontrolnegatif	5	.27820	
aktivitasfisik10menit	5		.30800
aktivitasfisik5menit	5		.31120
kontrolpositif	5		.31560
Sig.		1.000	.165
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			

#### 8.4 Indeks Obesitas Lee setelah Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill*

Perlakuan	Tikus	Berat Badan (g)	Panjang Nasoanal (cm)	Indeks Obesitas Lee
Kontrol negatif	1	247	19	0,262
	2	227	19	0,251
	3	237	19	0,256
	4	256	19	0,266
	5	209,5	19	0,241
Rata-rata		<b>235,3</b>	<b>19</b>	<b>0,255</b>
Kontrol positif	1	361,5	19	0,316
	2	341	19	0,307
	3	370	19	0,320
	4	319	18	0,314
	5	331	18	0,320
Rata-rata		<b>344,5</b>	<b>18,6</b>	<b>0,315</b>
Aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari	1	340	19	0,307
	2	359	19	0,316
	3	297	18	0,303
	4	335	19	0,305
	5	333,5	19	0,304
Rata-rata		<b>332,9</b>	<b>18,8</b>	<b>0,307</b>
Aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 10 menit/hari	1	255	20	0,252
	2	287	19	0,282
	3	272	19	0,274
	4	283	20	0,266
	5	203	18	0,250
Rata-rata		<b>260</b>	<b>19,2</b>	<b>0,265</b>

Perlakuan	1	2	3	4	5	Rata-rata	Sd
kontrol negatif	0,262	0,251	0,256	0,266	0,241	0,255 <sup>a</sup>	0,01
kontrol positif	0,316	0,307	0,320	0,314	0,320	0,315 <sup>b</sup>	0,01
treadmill 5 menit	0,307	0,316	0,303	0,305	0,304	0,307 <sup>b</sup>	0,01
treadmill 10 menit	0,252	0,282	0,274	0,266	0,250	0,265 <sup>a</sup>	0,01

**Perhitungan Statistika:**

**1. Uji Normalitas**

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perlakuan	.169	20	.139	.863	20	.009
IOLPascaTreadmill	.233	20	.006	.876	20	.015
a. Lilliefors Significance Correction						

**2. Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
IOLPascaTreadmill			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.767	3	16	.076

**3. Uji One-Way ANOVA**

ANOVA					
IOLPascaTreadmill					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.014	3	.005	52.502	.000
Within Groups	.001	16	.000		
Total	.015	19			



4. Uji Lanjutan (Tukey/BNJ)

IOLPascaTreadmill			
Tukey HSD			
		Subset for alpha = 0.05	
perlakuan	N	1	2
kontrolnegatif	5	.25520	
aktivitasfisik10menit	5	.26480	
aktivitasfisik5menit	5		.30700
kontrolpositif	5		.31540
Sig.		.386	.498
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.			



**Lampiran 9.** Perhitungan Energi dalam Pakan yang diberikan

**9.1** Pakan Standar untuk Tikus Kelompok Kontrol Negatif

Kandungan	Jumlah dalam 1 gram	Energi dalam 1 gram (kkal/gram)	Total Pakan (gram)	Total Energi dalam Pakan (kkal)
Protein	0,12	5,65	30	20,34
Lemak	0,03	9,45	30	8,505
Serat	0,08	4,1	30	9,84
<b>Total Keseluruhan Energi (kkal)</b>				<b>38,685</b>

**9.2** Pakan *High-Fructose Diet (HFD) 40%*

Kandungan	Jumlah dalam 1 gram	Energi dalam 1 gram (kkal/gram)	Total Pakan (gram)	Total Energi dalam Pakan (kkal)
Fruktosa	1	4,1	12	49,2
Protein	0,205	5,65	18	20,844
Lemak	0,04	9,45	18	6,804
Serat	0,06	4,1	18	4,428
<b>Total Keseluruhan Energi (kkal)</b>				<b>81,276</b>

**9.3** Kebutuhan Energi

Perlakuan	Energi dalam Pakan (kkal)/hari	Energi untuk Hidup (kkal)/hari	Kelebihan (kkal)/hari	Kekurangan (kkal)/hari
Kontrol negatif (K-)	38,685	50,158	-	11,473
Kontrol positif (K+)	81,276	50,158	31,118	-
Aktivitas Fisik selama 5 menit/hari (T1)	81,276	50,158 + 50,000	-	18,882
Aktivitas Fisik selama 10 menit/hari (T2)	81,276	50,158 + 100,000	-	68,882

**Lampiran 10.** Perhitungan Kadar trigliserida Tikus (*Rattus norvegicus*)

<b>Kelompok</b>	<b>Ulangan</b>	<b>Kadar Trigliserida</b>
A	1	43
A	2	42
A	3	47
A	4	45
A	5	46
B	1	152
B	2	157
B	3	150
B	4	149
B	5	153
C	1	107
C	2	100
C	3	98
C	4	99
C	5	97
D	1	48
D	2	50
D	3	49
D	4	49
D	5	48

Perlakuan	Rata-rata kadar trigliserida (µg/mL)	Kadar trigliserida (%)	
		Peningkatan dari kontrol negatif	Penurunan dari kontrol positif
Kontrol Negatif (K-)	44,6±2,073 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol Positif (K+)	152,2±3,114 <sup>c</sup>	241	-
Aktivitas Fisik selama 5 menit (T1)	100,2±3,962 <sup>b</sup>	-	34,16
Aktivitas Fisik selama 10 menit (T2)	48,8±0,836 <sup>a</sup>	-	67,93

**Perhitungan Peningkatan dan Penurunan Rata-rata Kadar Trigliserida :**

a. Peningkatan Rata-rata Kadar Trigliserida Kontrol Negatif (K-)

$$\begin{aligned} \text{Kelompok Negatif} &= \frac{(\text{Rata-rata positif}) - (\text{rata-rata negatif})}{(\text{Rata-rata negatif})} \\ &= \frac{(152) - 44,6}{44,6} = 2,412 \end{aligned}$$

b. Penurunan Rata-rata Kadar Trigliserida Aktivitas Fisik 5 menit/hari (T1)

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar Trigliserida T1} &= \frac{(\text{rata-rata positif}) - (\text{rata-rata T1})}{\text{Rata-rata positif}} \\ &= \frac{(152,2) - (100,2)}{152,2} = 0,341 \end{aligned}$$

c. Penurunan Rata-rata Kadar Trigliserida Aktivitas Fisik 10 menit/hari (T2)

$$\begin{aligned} \text{Penurunan kadar Albumin T2} &= \frac{(\text{rata-rata positif}) - (\text{rata-rata T2})}{\text{Rata-rata positif}} \\ &= \frac{(152,2 - 0,836)}{152,2} = 0,679 \end{aligned}$$

**Perhitungan Statistika :**

**1. Uji Normalitas**

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Perlakuan	.169	20	.139	.863	20	.059
Kadar_Trigliserida	.291	20	.059	.799	20	.051
a. Lilliefors Significance Correction						

Test of Homogeneity of Variances			
Kadar_Trigliserida			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.475	3	16	.259

ANOVA					
Kadar_Trigliserida					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	38405.350	3	12801.783	1.684E3	.000
Within Groups	121.600	16	7.600		
Total	38526.950	19			



Kadar_Trigliserida				
Tukey HSD				
		Subset for alpha = 0.05		
Perlakuan	N	1	2	3
kontrol_negatif	5	44.6000		
treadmill_10menit/hari	5	48.8000		
treadmill_5menit/hari	5		1.0020E2	
kontrol_positif	5			1.5220E2
Sig.		.115	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

