

**KAJIAN NUTRIGENOMIK: PENGHAMBATAN IGF-1 PADA
ADIPOGENESIS JARINGAN LEMAK VISERAL TIKUS
DENGAN EKSTRAK KULIT RAMBUTAN**

SKRIPSI

Oleh:
RIZKY NURDIANSYAH
0910910015



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**KAJIAN NUTRIGENOMIK: PENGHAMBATAN IGF-1 PADA
ADIPOGENESIS JARINGAN LEMAK VISERAL TIKUS
DENGAN EKSTRAK KULIT RAMBUTAN**

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi**

Oleh:

RIZKY NURDIANSYAH

0910910015



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2013**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**KAJIAN NUTRIGENOMIK: PENGHAMBATAN IGF-1 PADA
ADIPOGENESIS JARINGAN LEMAK VISERAL DENGAN
EKSTRAK KULIT RAMBUTAN**

**RIZKY NURDIANSYAH
0910910015**

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 26 Juli
2013 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Fatchivah, M.Kes., Ph.D
NIP. 19631127-198903-2-001

Dra. Sri Rahayu Lestari M.Si.
NIP. 19670612-199203-2-001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Jurusan Biologi

Rodliyati Azrianingsih, S.Si., Magr.Sc., Ph.D
NIP.19700128-199412-2-001

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rizky Nurdiansyah

NIM : 0910910015

Jurusan : Biologi

Penulis Tugas Akhir Berjudul: Kajian Nutrigenomik: Penghambatan Igf-1 pada Adipogenesis Jaringan Lemak Viseral dengan Ekstrak Kulit Rambut

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini, semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Agustus 2013

Yang menyatakan,

Rizky Nurdiansyah

NIM. 0910910015

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis dan pemilik proyek penelitian. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah unruk menyebutkannya.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KAJIAN NUTRIGENOMIK: PENGHAMBATAN IGF-1 PADA ADIPOGENESIS JARINGAN LEMAK VISERAL TIKUS DENGAN EKSTRAK KULIT RAMBUTAN

Rizky Nurdiansyah¹, Fatchiyah¹, Sri Rahayu Lestari²

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, ²Jurusan Biologi, Universitas Negeri Malang

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menjelaskan efek ekstrak kulit buah rambutan terhadap berat badan dan ekspresi igf-1 pada jaringan lemak viseral. Tahapan penelitian yang dilakukan adalah ekstraksi kulit buah rambutan, perlakuan pada tikus, isolasi protein lemak viseral, separasi protein dan *western blot*. Tikus strain wistar jantan dibagi menjadi tikus berat badan normal dan obesitas. Perlakuan yang dilakukan antara lain kontrol, asam elagat, *placebo*, dan perlakuan ekstrak dengan dosis 5, 10, 15, dan 20 mg/kg berat badan. Terjadi penurunan berat badan pada grup tikus obesitas dengan asupan pakan yang tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Dosis efektif terlihat pada perlakuan 10 mg/kg dan pada dosis 20mg/kg justru terjadi kenaikan berat badan untuk kedua jenis grup tikus. Profil protein antara tikus normal dan obesitas menunjukkan jumlah pita yang berbeda dengan intensitas yang berbeda. Ekspresi igf-1 terpaut dengan ekspresi igfbp-1 pada 36,7 kDa dan terjadi pada seluruh perlakuan dengan perbedaan nyata pada kedua grup. Ekstrak kulit buah rambutan dengan dosis efektif 10mg/kg memiliki efek anti-obesitas pada tikus obesitas. Menariknya, ekspresi igf-1 menurun pada perlakuan 20mg/kg berat badan dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini diduga penghambatan obesitas tidak melewati jalur *tyrosin kinase* pada *IR family*.

Kata Kunci: Adipogenesis, ekstrak kulit buah rambutan, IGF-1, obesitas,

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



NUTRIGENOMIC STUDY: IGF-1 INHIBITION IN ADIPOGENESIS OF VISCERAL ADIPOSE TISSUE OF RAT USING RAMBUTAN PEEL EXTRACT

Rizky Nurdiansyah¹, Fatchiyah¹, Sri Rahayu Lestari²

¹Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, ²Jurusan Biologi, Universitas Negeri Malang

Abstract

The goal of the study is to observe and explain the effect of rambutan peel extract at body weight and igf-1 expression at visceral adipose tissue. Experiment stages consist of extraction of rambutan peel, rat treatment, visceral adipose tissue protein isolation, protein separation, and *western blot*. Male wistar rats were used and divided into normal weight rats and obesity rats. The treatments consist of control, ellagic acid, placebo, and dosis at 5, 10, 15, and 20 mg/kg body weight. Decreasing body weight gain observed in obese rats with similar food intake in each treatment ($P > 0,05$). Effective dose observed at 10mg/kg, whilst at 20 mg/kg showed increasing body weight in both groups. Protein profile of normal and obese rats show similar intensity with difference in band number among groups and treatments. IGF-1 protein bound into Igfbp-1 protein at 36,7 kDa. Interestingly, IGF-1 expression of 20 mg/kg of obese rats group are closely with control group and lower than other treatment group. Anti-obesity effect observed at 10 mg/kg dose of rambutan peel extract in obese rats. Interestingly, igf-1 expression is lower at 20mg/kg group. This result suggest that obesity inhibition does not go through IR family tyrosin kinase.

Keywords: Adipogenesis, rambutan peel extract, IGF-1, obesity.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karunia yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam Bidang Biologi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang. Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Prof. Dra. Fatchiyah, M. Kes, Ph.D dan Dra. Sri Rahayu Lestari M.Si. sebagai pembimbing yang telah membagikan ilmunya, membimbing dan memberikan banyak saran, kritik membangun.
2. Bapak Widodo S.Si Ph.D.Med.Sc. sebagai penguji yang telah memberikan saran dan kritik dalam perbaikan skripsi
3. Bapak, ibu dan seluruh keluarga yang selalu memberikan dukungan pada penulis
4. Kelompok *Working Group Bioengineering III* yang senantiasa memberikan saran dan membantu dalam pengerjaan skripsi
5. Laboran Institut Biosains UB dan teman-teman dari Universitas Negeri Malang yang membantu dalam pengerjaan skripsi
6. Sahabat-sahabat dari angkatan 2009 Jurusan Biologi UB yang selalu memberikan dukungan dan semangat
7. Seluruh civitas Jurusan Biologi UB yang telah membagikan ilmunya selama penulis melakukan studi.

Penulis berharap penulisan skripsi ini dapat bermanfaat untuk semua pihak. Penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Saran dan kritik yang membangun sangat diperlukan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, Agustus 2013

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	xi
KATA PENGANTAR	xiii
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xx
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xxi
DAFTAR RUMUS	xxii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.4. Manfaat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Rambutan	4
2.2. <i>Insulin-like growth factor 1 (igf-1)</i>	8
2.3. Obesitas	11
2.4. Adipogenesis	12
2.5. SDS-PAGE	13
2.6. <i>Western blot</i>	14
BAB III METODOLOGI	15
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2. Kelaikan Etik	15
3.3. Pembuatan Simplisia Kulit Buah Rambutan	15
3.4. Maserasi dan Ekstraksi Kulit Buah Rambutan	15
3.5. Perlakuan pada Tikus	16
3.6. Isolasi Protein Lemak Viseral	16
3.7. Uji Profil Protein dengan SDS-PAGE dan <i>Western blot</i> ..	17
3.8. Analisis Statistik	18

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1 Respon Fisiologis Tikus terhadap Perlakuan.....	19
4.2 Profil Protein dan Ekspresi Protein igf-1	24
BAB V PENUTUP	30
5.1 Kesimpulan	30
5.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN.....	34



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
LT1. Daftar Bahan Kimia yang Digunakan	35
LT2. Uji Normalitas: Data Metabolik	37
LT3. Uji <i>Split plot two way</i> Anova: asupan pakan	38
LT4. Uji BNT Asupan pakan	39
LT5. Hasil perhitungan berat molekul protein tikus normal.....	41
LT6. Hasil perhitungan berat molekul protein tikus obesitas	42



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1.	Buah Rambutan..... 4
2.	Struktur Fenol pada Kulit Buah Rambutan..... 7
3.	Senyawa hasil ekstraksi methanol dari kulit buah rambutan ... 8
4.	Insulin dan IGF <i>signalling cascade</i> 9
5.	Igf-1 <i>Signalling Pathway</i> pada adiposit..... 10
6.	<i>Overview</i> berbagai tahapan dari pembentukan adiposit dari <i>multipotent stem cell</i> 12
7.	Grafik perbandingan persentase perubahan berat badan dari berat badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus normal 19
8.	Grafik perbandingan persentase perubahan berat badan dari berat badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus obesitas..... 20
9.	Grafik perbandingan persentase perubahan lingkaran badan dari lingkaran badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus normal 21
10.	Grafik perbandingan persentase perubahan lingkaran badan dari lingkaran badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus normal. 21
11.	Grafik perbandingan asupan pakan selama waktu penelitian antar perlakuan pada kedua jenis tikus. 22
12.	Profil protein lemak visceral dari tikus normal 25
13.	Profil protein lemak visceral dari tikus obesitas 25
14.	Grafik perbandingan densitas protein hasil western blot antar perlakuan..... 28
LG1.	Kerangka operasional penelitian..... 34
LG2.	Kurva standar protein tikus normal 40
LG3.	Kurva standar protein tikus obesitas..... 40
LG4.	Grafik respon fisiologis; perubahan persentase berat badan untuk tikus normal..... 49

LG5. Grafik respon fisiologis; perubahan persentase berat badan untuk tikus obesitas. 51

LG6. Grafik respon fisiologis; perubahan persentase lingkar badan untuk tikus normal. 53

LG7. Grafik respon fisiologis; perubahan persentase lingkar badan untuk tikus normal. 55

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1.	Kerangka Operasional Penelitian 34
2.	Bahan Kimia yang digunakan dalam penelitian 35
3.	Uji Statistik 37
4.	Kurva standar berat molekul protein 40
5.	Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein 41
6.	Analisis <i>quantity one</i> WB Igf-1..... 45
7.	Sertifikat Laik Etik..... 47
8.	Grafik Respon Fisiologis..... 48



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan

APS

BB

Igf-1

Igfbp-1

Kal

kDa

NBT-BCIP

PBS

PMSF

Rf

RSB

S.D.

SDS

SDS-PAGE

TBS

TEMED

UGB

w:v

Lambang

α

β

μL

mM

Keterangan

amonium persulphate

berat badan

insulin-like growth factor -1

insulin-like growth factor binding protein-1

kalori

kiloDalton

nitro-blue tetrazolium chloride, 5-bromo-4-chloro-3'-indolylphosphate p-toluidine salt

phosphate buffer saline

phenylmethyl sulfonyl fluoride

retention factor

reducing sample buffer

standard deviation

sodium dodecyl sulphate

sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis

tris buffer saline

N,N,N,N-tetramethylethylenediamine

upper gel buffer

weight:volume

Keterangan

alpha; nilai signifikansi

beta

mikroliter

mikromolar

DAFTAR RUMUS

Nomor	Halaman
1.	$Rf = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan tracking dye dari tempat awal}}$17

Rf = jarak pergerakan dari molekul protein pada proses separasi protein

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Obesitas saat ini telah menjadi masalah global dan merupakan penyakit nomor 5 yang dapat menyebabkan kematian terbanyak di dunia. Setidaknya 2,8 juta orang dewasa meninggal setiap tahunnya karena obesitas, dan 44% dari kasus diabetes, 23% dari penyakit kardiovaskular, dan sekitar 7% hingga 41% dari kasus kanker diduga berasal dari obesitas. Prevalensi meningkatnya orang yang mengalami obesitas tidak hanya meningkat di negara-negara maju, tetapi juga di negara-negara berkembang (WHO, 2003).

Tingginya asupan makanan yang mengandung kalori atau lemak yang tinggi akan menstimulasi penyimpanan kalori yang berlebih dalam bentuk lemak dan secara konsisten akan meningkatkan berat badan dan kadar lemak dalam tubuh (Moreno *et al.*, 2003). Menurut Schutz (2004), obesitas juga dapat terbentuk karena adanya akumulasi laju yang tidak seimbang antara jumlah lemak yang dikonsumsi tubuh dengan oksidasi lemak dalam waktu yang panjang. Kemampuan seseorang untuk menyimpan lemak pada jumlah yang tinggi dapat diturunkan kepada keturunannya (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009).

Adiposit merupakan sel yang akan membawa titik-titik lemak yang terbentuk karena kelebihan kalori tersebut. Prekursor dari adiposit adalah *pluripotent mesenchymal stem cells* (MSCs). Sel-sel tersebut akan menunjukkan adanya aktivitas adipogenesis bila ada asupan kalori atau lemak tinggi. Secara seluler, MSCs akan membentuk adiposit dengan adanya sinyal ekstraseluler, beberapa diantaranya adalah hormon insulin, tiroid, *growth hormone* (GH), dan *Insulin-like growth factor 1* (igf-1) (Lowe *et al.*, 2011).

Igf-1 merupakan *growth factor* yang telah dibuktikan akan menstimulasi proliferasi sel preadiposit menjadi adiposit, baik secara *in vitro* maupun *in vivo* (Holly *et al.*, 2006). Diet yang tinggi lemak maupun kalori akan menyebabkan peningkatan *growth factor* ini pada jaringan lemak hingga 80% bila dibandingkan dengan diet rendah lemak. Menurut Marques *et al* (2000), perlakuan dengan antibodi anti igf-1 pada kultur adiposit 3T3-L1 dapat menyebabkan proliferasinya terhambat. (Marques *et al.*, 2000).

Beberapa penelitian telah menunjukkan adanya proses penghambatan pada proses adipogenesis dengan menggunakan senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan yang banyak dijumpai dalam bentuk polifenol. Firdausi dkk (2012) menyatakan bahwa jumlah sel adiposa baik sel adiposa biasa dan yang mengekspresikan igf-1 pada tikus menurun secara signifikan bila diberi perlakuan sari seduh teh hitam pada konsentrasi 0,03 g/hari dan 0,045 g/hari bila dibandingkan dengan kontrol. *Catechin* yang banyak terdapat pada teh hijau (*Camellia sinensis*) dapat menghambat proliferasi adiposit 3T3-L1 dengan mengurangi level dari ERK1/2 terfosfolirasi, cdk2, dan protein *cyclin D1* dan *cell growth arrest* pada Go/G1 (Meydani dan Hasan, 2010). Senyawa *ellagitannin* yang ada pada daun *Lagestromia speciosa* terbukti dapat menghambat diferensiasi sel preadiposit (Yun, 2010). Penelitian lain yang dilakukan oleh Lei *et al* (2007), menunjukkan bahwa ekstrak daun *pomegranate* yang mengandung asam elagat tinggi memiliki efek anti obesitas pada tikus yang obesitas.

Menurut Thitilertdech *et al.* (2010), kulit buah rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) memiliki banyak kandungan fenol. Senyawa-senyawa utama yang dimilikinya adalah asam elagat, koraligin dan geraniin dalam jumlah yang besar (53,5 mg asam elagat, 71,9 mg koraligin, dan 568,0 mg geraniin didapatkan dari 1g ekstrak methanol kulit buah rambutan). Asam elagat merupakan senyawa metabolit sekunder tumbuhan yang sering ditemukan pada vakuola sel dalam bentuk ellagitanin yang larut dalam air daripada dalam bentuk asam bebas. Bila ellagitanin tersebut dipecah secara hidrolitik, maka akan menghasilkan asam elagat. Senyawa ini dikenal memiliki efek antioksidan, antiproliferatif, kemopreventif, and antiaterogenik (Atkinson *et al.*, 2005; Papoutsis *et al.*, 2005).

Diet nutrigenomik adalah suatu konsep yang mempelajari interaksi nutrisi-gen dan pengaruh interaksi tersebut terhadap kesehatan, termasuk didalamnya bagaimana diet mempengaruhi ekspresi gen, pengaruh gen pada bagaimana tubuh merespon nutrisi serta dampak nutrisi pada proses tingkat molekuler di tubuh. Nutrigenomik bertujuan untuk memahami peran genetik dalam mengkoordinasi respon terhadap diet (Irawan dan Putri, 2012).

Berdasarkan uraian di atas, dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder seperti polifenol dapat dijadikan sebuah agen terapi dalam masalah obesitas. Dalam rangka memberikan

solusi baru dalam penyelesaian masalah obesitas di dunia, diperlukan adanya sebuah penelitian yang mengkaji potensi kulit buah rambutan sebagai salah satu bahan terapi yang potensial. Penggunaan senyawa metabolit sekunder yang ada pada kulit buah rambutan diharapkan dapat memberikan efek penghambat pada *growth factor* igf-1 yang berperan dalam adipogenesis dan menghambat obesitas.

1.2. Perumusan Masalah

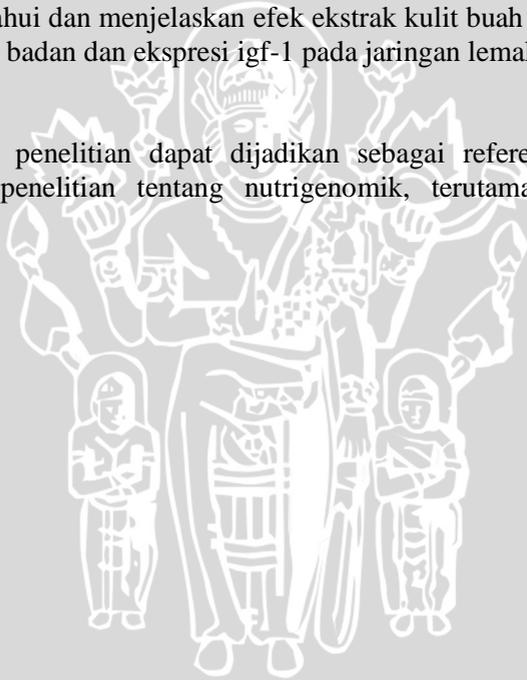
Bagaimanakah efek ekstrak kulit buah rambutan terhadap berat badan dan ekspresi igf-1 pada jaringan lemak viseral?

1.3. Tujuan

Mengetahui dan menjelaskan efek ekstrak kulit buah rambutan terhadap berat badan dan ekspresi igf-1 pada jaringan lemak viseral

1.4. Manfaat

Manfaat penelitian dapat dijadikan sebagai referensi lebih lanjut untuk penelitian tentang nutrigenomik, terutama tentang obesitas.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Rambutan

2.1.1. Morfologi dan klasifikasi

Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) merupakan tanaman buah hortikultural yang termasuk dalam family Sapindaceae. Rambutan termasuk tanaman buah tropis yang banyak ditemukan di Indonesia, Filipina, dan negara-negara Amerika Latin (Prihatman, 2000). Tumbuhan ini memerlukan iklim lembap dengan curah hujan tahunan sekitar 1500-2500 mm. Rambutan merupakan tanaman dataran rendah, dan dapat tumbuh pada ketinggian 30-500m dpl. Saat berbunga, rambutan membutuhkan bulan yang kering hingga 3 bulan, bila lebih dari itu, maka bunga akan rontok dan tidak menjadi buah (Nazaruddin dan Muchlisah, 1993).



Gambar 1. Buah Rambutan (Prihatman, 2000)

Habitus dari buah ini berupa pohon dengan tinggi 15-25m dengan tipe percabangan simpodial. Batangnya tegak, berkayu, bulat, berwarna putih. Daun tunggal, tersebar, berbentuk lonjong, tepi rata, ujung dan pangkal runcing, pertulangan menyirip, tangkai silindris, berwarna hijau. Ukuran daun memiliki panjang 10-20 cm dan lebar 5-10 cm. Bunga tersusun pada tandan di ujung ranting, harum, berukuran kecil, berwarna hijau muda. Bunga jantan dan bunga betina tumbuh terpisah dalam satu pohon. Buah bentuknya bulat lonjong, panjang 4-5 cm, termasuk kategori buah buni. Kulit buahnya berwarna hijau, dan menjadi kuning atau merah bila matang. Dinding buah tebal. Biji bentuk elips, terbungkus salut biji berwarna putih transparan yang dapat dimakan dan banyak mengandung air, dengan rasa bervariasi dari asam hingga manis. Kulit biji tipis

berkayu. Rambutan berbunga pada akhir musim kemarau dan membentuk buah pada musim hujan, sekitar November sampai Februari. (Ristek, 2003, Nazaruddin dan Muchlisah, 1993). Berdasarkan Ristek (2003), klasifikasi buah rambutan adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Famili	: Sapindaceae
Genus	: Nephelium
Spesies	: <i>Nephelium lappaceum</i> L.

(Ristek, 2003)

2.1.2. Nama-nama dan varian

Rambutan dikenal dengan banyak nama di Indonesia, seperti rambutan, rambot, rambut, rambuteun, rambuta, jailan, folui, bairabit, puru, biancak, p. Biawak, hahujam, kakapas, likes, takujung alu (Sumatra), rambutan, corogol, tundun, bunglon, buwa, buluwan (Jawa), buluan, rambuta (Nusa Tenggara), rambutan, siban, banamon, beriti, sanggalaong, sagalong, beliti, maliti, kayokan, bengayau, puson (Kalimantan), rambutan, rambuta, rambusa, barangkasa, bolangat, balatu, balatung, walatu, wayatu, wilatu, wulangas, lelamu, lelamun, toleang (Sulawesi), rambutan, rambuta (Maluku). Sedangkan di luar Indonesia, rambutan dikenal dengan nama *Shao tzu* (Cina), *ramboutan* (Perancis), *ramustan* (Spanyol) (Ristek, 2003).

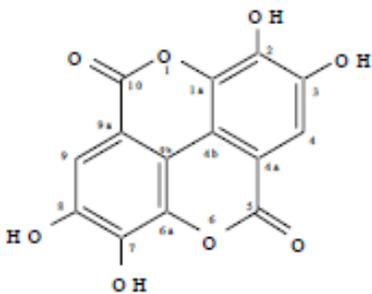
Rambutan di Indonesia memiliki 22 varian baik yang berasal dari galur murni maupun hasil okulasi atau penggabungan dua jenis dengan galur yang berbeda. Ciri-ciri yang membedakan adalah pada buah (daging buah, kandungan air, bentuk, warna kulit, panjang rambut). Beberapa varian yang sering dibudidayakan karena memiliki nilai relatif tinggi diantaranya (Prihatman, 2000):

1. Rambutan Rapih buah tidak terlalu lebat tetapi mutu buahnya tinggi, kulit berwarna hijau-kuning-merah tidak merata dengan beramut agak jarang, daging buah manis dan agak kering, kenyal, dan daging buah tebal, dengan daya tahan dapat mencapai 6 hari setelah dipetik.

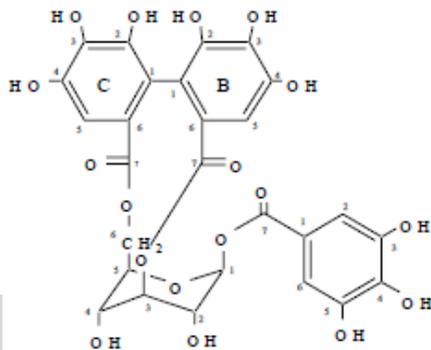
2. Rambutan Aceh Lebak bulus pohonnya tinggi dan lebat buahnya dengan hasil rata-rata 160-170 ikat per pohon, kulit buah berwarna merah kuning, halus, rasanya segar manis-asam banyak air, daya simpan 4 hari setelah dipetik, buah ini tahan dalam pengangkutan.
3. Rambutan Cimacan, kurang lebat buahnya dengan rata-rata hasil 90-170 ikat perpohon, kulit berwarna merah kekuningan sampai merah tua, rambut kasar dan agak jarang, rasa manis, sedikit berair tetapi kurang tahan dalam pengangkutan.
4. Rambutan Binjai yang memiliki buah cukup besar, dengan kulit berwarna merah darah sampai merah tua rambut buah agak kasar dan jarang, rasanya manis dengan asam sedikit, hasil buah tidak sekuat aceh lebak bulus.

2.1.3. Kandungan kimiawi

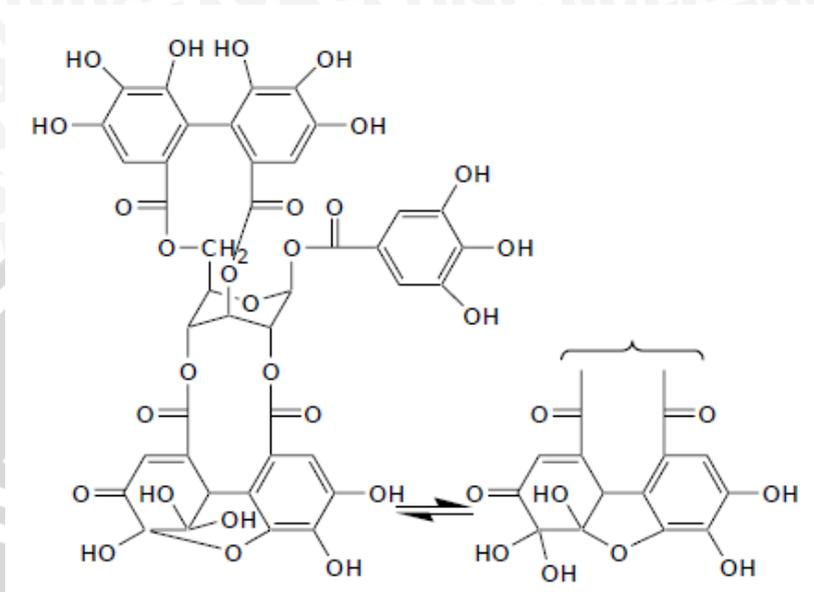
Buah rambutan mengandung karbohidrat, protein, kalsium, vitamin C, zat besi, fosfor, zat mineral makro dan mikro, dan lemak (Prihatman, 2000). Kulit buahnya mengandung flavonoid, tanin dan saponin. Biji rambutan mengandung lemak dan polifenol Daunnya mengandung tanin dan saponin. Kulit batang mengandung tanin, saponin, flavonoida, *pectic substances* dan zat besi (Ristek, 2003). Hasil dari penelitian oleh Thitilertdecha *et al.* (2010) menunjukkan bahwa kulit buah rambutan memiliki 3 kandungan polifenol yang utama, yaitu asam elagat, coraligin dan geraniin bila dilakukan ekstraksi dengan metanol.



(a)



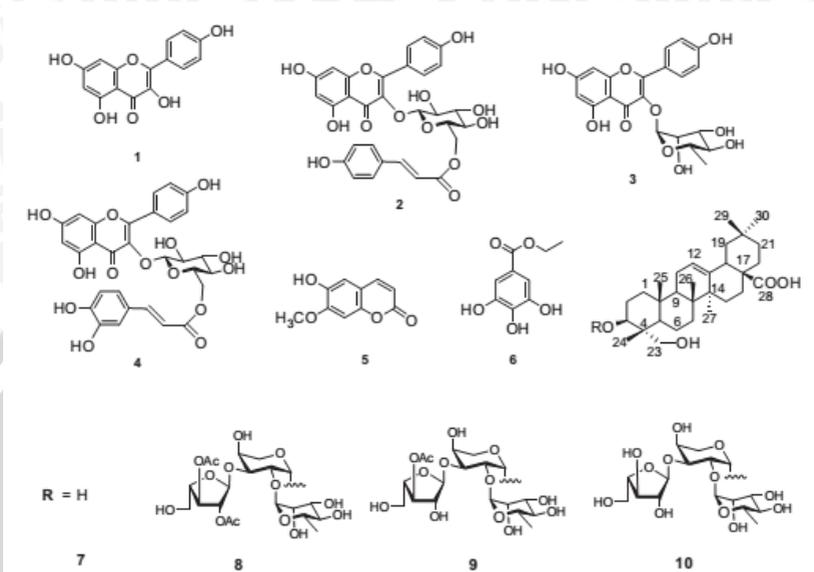
(b)



(c)

Gambar 2. Struktur Fenol pada Kulit Buah Rambutan: (a) Asam Elagat; (b) Coraligin; (c) Geraniin (Thitilertdecha *et al.* 2010)

Zhao *et al* (2011) melaporkan bahwa terdapat 2 jenis oligoglikosida triterpene yang baru dan 8 senyawa fenol teridentifikasi dari ekstrak kulit buah rambutan dengan ekstraksi metanol. Struktur senyawa yang diketahui antara lain: *kaempferol* (1), *kaempferol-3-b-D-(6-O-trans-p-coumaroyl)-glucopyranoside* (2), *kaempferol-3-a-L-rhamnopyranoside* (3), *kaempferol 3-O-(6-O-caffeoyl)-b-D-glucopyranoside* (4), *isocopoletin* (5), *ethyl gallate* (6), *hederagenin* (7), *hederagenin 3-O-(2,3-di-O-acetyl-a-L-arabinofuranosyl)-(1-3)-[a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)]-b-L-arabinopyranoside* (8), *hederagenin 3-O-(3-Oacetyl-a-L-arabinofuranosyl) - (1-3) - [a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)]-b-L-arabinopyran-oside* (9), and *hederagenin 3-O-a-L-arabinofuranosyl-(1?3)-[a-L-rhamnopyranosyl-(1-2)]-b-L-arabinopyranoside* (10). (Gambar 3). Kesepuluh senyawa tersebut menghambat *Fatty Acid Synthetase* dengan nilai IC_{50} berkisar antara 5,59 hingga 204,40 μ M.

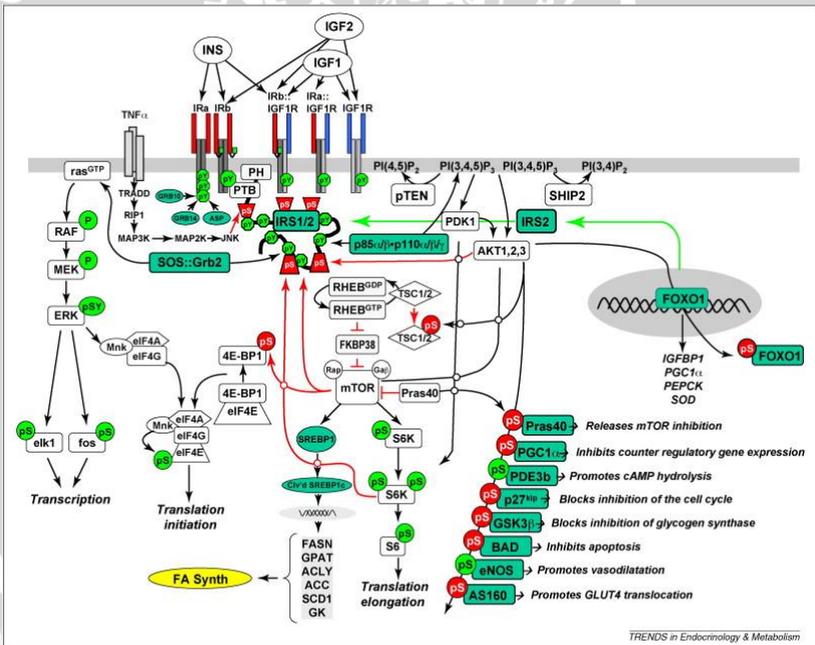


Gambar 3. Senyawa hasil ekstraksi metanol dari kulit buah rambutan (Zhao, *et al.*, 2011)

2.2. *Insulin-like growth factor 1 (igf-1)*

Insulin-like growth factor 1 (igf-1) merupakan suatu rantai tunggal polipeptida yang berukuran 7-8 kD dan memiliki kemiripan dengan insulin (Foulstone dkk, 2005 dalam Firdausi dkk, 2009). Kebanyakan igf-1 disintesis di dalam liver sebagai respon dari adanya *growth hormone* (GH) dan akhirnya akan memediasi efek dari GH pada sel-sel somatik (Holly, *et al.*, 2006). Protein kecil ini memiliki fungsi anabolik yang sangat penting di dalam tubuh dan merupakan protein yang esensial di dalam tubuh. Igf-1 memiliki kontribusi yang signifikan pada sistem otot, kekuatan otot, *metabolic rate* (Vale *et al.*, 2009) proses adipogenesis (Hausmann *et al.*, 2001; Holly, *et al.*, 2006) dan dapat disintesis pada sel yang sama tempat protein ini berfungsi (*autocrine*) atau sel di sebelahnya (*paracrine*) (Marques *et al.*, 2000). Sekresi dari protein ini dapat berkurang dengan adanya malnutrisi dan tahapan katabolisme dalam tubuh. Holly *et al.* (2006), menyebutkan bahwa igf-1 disintesis di jaringan lemak visceral dengan jumlah yang hampir sama dengan jumlah yang disintesis di liver.

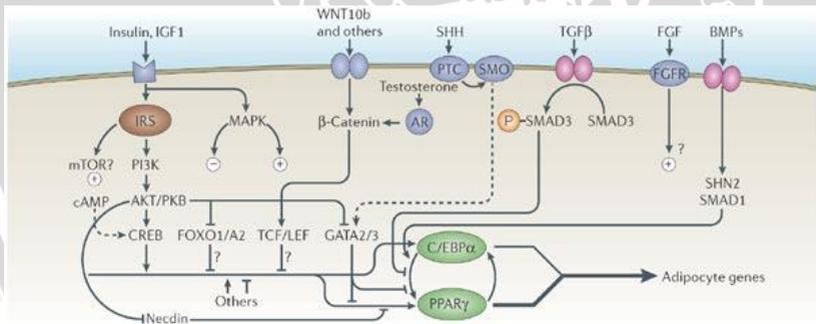
Igf-1 merupakan protein yang termasuk dalam *Insulin-family* yang memiliki anggota insulin, *insulin-like growth factor 1 (igf-1)*, *insulin-like growth factor II (igf-II)*, *insulin-like peptides (insl) 3,4,5*, dan 6; dan relaksin. Terdapat 3 reseptor yang dapat berikatan pada protein-protein tersebut, yaitu *insulin-receptor (ir)*, *igf1r*, dan *igf2r*. Anggota reseptor yang lain adalah *insulin receptor-related receptor* yang ligannya belum diketahui. Ketiga (*ir*, *igf1r*, dan *irr*) dari keempat reseptor merupakan keluarga dari *ligand-activated receptor kinases*. Interaksi antara ligan dan reseptor dalam keluarga protein ini berbeda-beda dari tiap anggotanya. Insulin dan *igf-1* sangat mudah berikatan (afinitas tinggi) dengan reseptornys sendiri, namun tidak mudah berikatan (afinitas rendah) bila bertukar reseptor. *Igf-2* memiliki afinitas yang sama antara kedua reseptor tersebut (*insr* dan *igf1r*). Ligan dari *Irr* belum diketahui, namun *igf1*, *igf2*, dan insulin tidak berikatan pada *Irr* (Cheng *et al.*, 2010)



Gambar 4. Insulin dan IGF signalling cascade (Cheng *et al.*, 2010)

Igf-1 dalam darah beredar dengan cara membentuk ikatan dengan suatu protein khusus yang disebut dengan *insulin-like growth factor binding protein* (igfbp). Terdapat 6 jenis igfbp yang telah diketahui dan kebanyakan igf-1 berikatan pada igfbp-3. Igf-1 dan igfbp-3 membentuk kompleks protein dengan adanya bantuan protein ketiga yang disebut dengan *acid-labile subunit*. (Kostecka dan Blahovesc, 1999).

Igf-1 dapat memberikan efek pada sel bila sudah berikatan dengan reseptornya, yaitu igf-1r (*Insulin-like growth factor 1 receptor*) yang terdapat pada banyak sel-sel di dalam tubuh, seperti sel adipose (Holly *et al.*, 2006) dan sel otot (Vale *et al.*, 2009). Ikatan tersebut dapat menghasilkan *signaling* intraseluler seperti P13K/Akt pathway dan Ras/MAPK pathway yang berfungsi pada pengaktifan gen, sintesis DNA dan proliferasi sel (Firdausi dkk, 2012). Menurut Rosen dan MacDougald (2006), melekatnya igf-1 dengan reseptornya akan menyebabkan suatu transduksi sinyal yang melalui jalur IRS (*insulin receptor substrate*). Jalur selanjutnya yang ditempuh bergantung pada jenis sel yang diberi stimulan. Bila pada adiposit, transduksi sinyal tersebut berakhir pada stimulasi C/EBP dan PPAR γ (gambar 5).



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Gambar 5. Igf-1 Signalling Pathway pada adiposit (Rosen dan MacDougald, 2006)

2.3. Obesitas

Obesitas dapat didefinisikan sebagai kondisi kelebihan lemak, baik di seluruh tubuh atau terlokalisasi pada bagian bagian tertentu. Obesitas merupakan peningkatan total lemak tubuh, yaitu apabila ditemukan kelebihan berat badan >20% pada pria dan >25% pada wanita karena lemak (Flier dan Flier, 2010, dalam Longo dan Fauci, 2010). Menurut Kawada *et al.*, (2009) dalam Mine *et al.*, (2009), obesitas dapat dibagi menjadi 2 aspek besar, (1) obesitas merupakan kondisi klinis yang dapat distabilkan dengan adanya pengurangan berat badan, dan (2) obesitas dengan akumulasi berlebihan pada lemak visceral, yaitu luas lemak visceral 100cm² atau lebih pada bagian umbilical. Obesitas disebabkan oleh adanya ketidakseimbangan antara energi yang dimasukkan ke tubuh dengan yang keluar. Asupan tinggi kalori dan lemak dan tidak diimbangi dengan olahraga dan gerak tubuh dapat meningkatkan resiko terjangkit obesitas (Moreno *et al.*, 2003; Ning *et al.*, 2011). Menurut Schutz (2004), obesitas juga dapat terbentuk karena adanya akumulasi laju yang tidak seimbang antara jumlah lemak yang dikonsumsi tubuh dengan oksidasi lemak dalam waktu yang panjang.

Prevelansi terjadinya obesitas meningkat secara signifikan di seluruh dunia. Di Jerman, prevelansi terjangkitnya obesitas sebesar 19% untuk pria dan 22% untuk wanita, di Amerika Serikat, prevelansinya 33,8%, di Denmark prevelansinya 15% untuk pria dan 10-11% untuk wanita. Prevalensi kelebihan berat badan di berbagai negara di Asia, sekitar 20,5% dan 1,5% penduduknya mengalami obesitas. Di seluruh dunia, lebih dari 200 juta pria dan 300 juta wanita diperkirakan mengalami obesitas. (WHO, 2003).

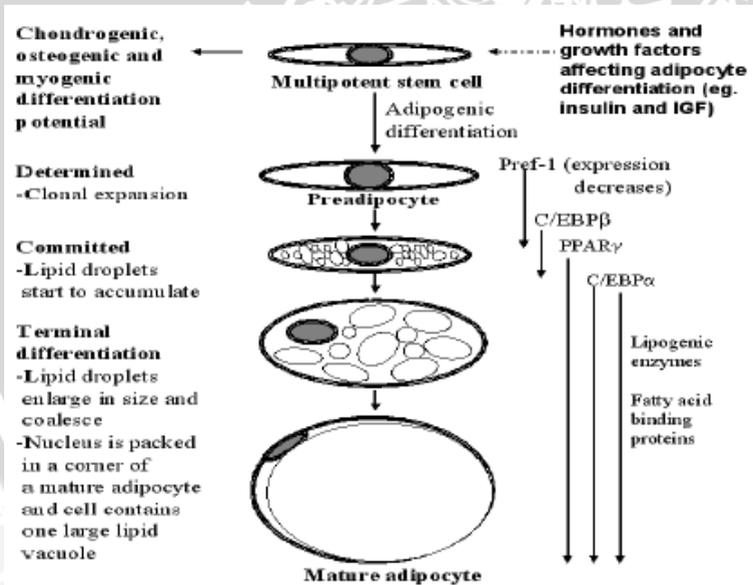
Menurut Kawada *et al.*, (2009) dalam Mine *et al.*, (2009) obesitas dapat terpengaruh faktor hereditas atau faktor genetik keturunan. Meskipun sebenarnya bukan pada karakteristiknya yang memiliki badan obesitas yang diturunkan, namun kemampuan tubuh untuk menyimpan lemak yang dapat diturunkan. Bila seseorang memiliki kemampuan untuk menjadi gemuk yang tinggi, kemungkinannya akan lebih besar bagi orang tersebut menjadi obesitas bila terlalu banyak asupan kalori dan tidak diimbangi dengan kegiatan fisik yang cukup.

Adanya mutasi gen-gen tertentu ternyata memberikan kontribusi yang signifikan pada prevelansi terjadinya obesitas. Salah satu gen yang menjadi sorotan adalah $\beta 3$ -adrenoreceptor. Satu dari

tiga orang Mongoloid di Asia mengalami mutasi pada gen ini. Mutasi pada gen tersebut akan memberikan efek obesitas dan diabetes pada kariernya bila kariernya tersebut memiliki pola hidup yang tidak baik. Hingga tahun 2005, telah ditemukan 120 mutasi gen yang berhubungan erat dengan terjadinya obesitas pada seseorang. (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009).

2.4. Adipogenesis

Pembentukan adiposit merupakan sebuah proses yang kompleks yang melibatkan gen dan protein. Prekursor dari adiposit adalah *pluripotent mesenchymal stem cells* (MSCs). Sel-sel tersebut akan menunjukkan adanya aktivitas adipogenesis bila ada asupan kalori atau lemak tinggi. Secara seluler, MSCs akan membentuk adiposit dengan adanya sinyal ekstraseluler, seperti IGF-1 (*Insulin-like growth factor 1*), *transforming growth factor β* (TGF β), interleukin 7 (IL-7), *fibroblast growth factor 1* (FGF-1), FGF-2 dan *activin* (Lowe *et al.*, 2011).



Gambar 6. Overview berbagai tahapan dari pembentukan adiposit dari *multipotent stem cell* (Niemela *et al.*, 2008).

Menurut Kawada *et al.*, (2009) dalam Mine *et al.*, (2009), perkembangan adiposit secara kasar dibagi menjadi 6 tahapan. (1) determinasi dari *stem cell* untuk menjadi lipoblast yang berfungsi sebagai prekursor dari sel preadiposit dan memiliki karakteristik dasar dari adiposit, (2) proliferasi dari sel lipoblast, (3) penghentian proliferasi sel, (4) diferensiasi terminal dari sel-sel preadiposit menjadi adiposit, (5) maturasi dari adiposit yang belum dewasa sejalan dengan akumulasi lemak, dan (6) pembelahan dan proliferasi dari adiposit dewasa. Gen-gen yang spesifik pada tiap proses perkembangan adiposit diekspresikan sejalan dengan perkembangan sel (gambar 6).

Beberapa faktor transkripsi telah ditemukan memiliki peran sentral dalam kontrol adipogenesis. CCAAT/*enhancer binding protein* (C/EBP) *family gene* dan *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) merupakan gen-gen yang mengkoordinasi dari ekspresi gen yang membentuk dan menjaga bentuk adiposit (Niemela *et al.*, 2008). C/EBP akan mempengaruhi aktivasi PPAR γ . PPAR γ dapat mengawali diferensiasi dari sel-sel preadiposit menjadi adiposit. Peranan dari PPAR γ adalah meregeluasi berbagai gen yang berhubungan dengan *lipogenic enzymes* dan *fatty acid binding protein* sekaligus juga meregulasi ekspresi dari gen C/EBP α . Dengan adanya ekspresi gen yang sesuai dengan dan promoter-promotor yang sesuai akan meningkatkan *clonal expansion* dan diferensiasi terminal dari adiposit. Adiposit akan membesar dan menyimpan titik-titik lemak pada vakuolanya. (Niemela, *et al.*, 2008). Adanya asam lemak dalam tubuh akan memberikan regulasi pada ekspresi gen-gen tersebut, karena ligand dari PPAR merupakan asam lemak yang panjang dan metabolit-metabolit dari asam lemak. (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009).

2.5. SDS-PAGE

Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) merupakan metode analisa protein dengan menggunakan prinsip pemisahan molekul protein dengan arus listrik (elektroforesis). Elektroforesis protein dilakukan dengan bantuan gel yang terbuat dari poliakrilamid sebagai media pemisah dan *sodium dodecyl sulfate* (SDS) untuk mendenaturasi protein. Berbeda dengan pemisahan DNA, metode ini menggunakan posisi gel vertikal dengan bagian bawah bermuatan positif dan bagian atas bermuatan negatif.

Protein yang bermuatan negatif akan bergerak menuju bagian positif dengan bantuan arus listrik. Jarak perpindahan molekul protein sangat bergantung pada ukuran protein tersebut dan pori dari media pemisahan. Gel dapat menahan laju protein yang besar saat elektroforesis, sehingga molekul protein yang besar akan ada berada di atas. Setelah dilakukan elektroforesis, gel dapat diwarnai dengan pewarna *coomasie brilliant blue* atau perak nitrat untuk memperlihatkan pita-pita protein. (Lehninger, 2004).

Setiap komponen dari SDS-PAGE memiliki kegunaan sendiri. SDS merupakan deterjen anionik yang dapat mendenaturasi dan mengubah muatan protein menjadi negatif karena dapat mengikat gugus protein sesuai dengan berat molekul protein. Gel poliakrilamid yang digunakan tersusun atas monomer monoakrilamid yang membentuk ikatan dengan *amonium persulfat* (APS) dan *N,N,N,N-tetramethylethylenediamine* (TEMED). Gel poliakrilamid dapat diubah konsentrasinya untuk mendapatkan protein dengan berat molekul tertentu dengan mengubah konsentrasi akrilamid yang digunakan. (Lehninger, 2004).

2.6. *Western blot*

Konfirmasi protein tertentu secara spesifik dapat dilakukan dengan menggunakan metode *western blot*. Prinsip dasar yang digunakan pada metode ini adalah ikatan yang spesifik antara antibodi dengan antigennya. Proses ini menggunakan antibodi primer yang dapat mengenali protein yang menjadi target dan antibodi sekunder yang dapat mengenali antibodi primer. Antibodi sekunder diberi label suatu enzim yang bilamana diberikan substratnya, dapat memunculkan suatu reaksi warna yang dapat dengan mudah divisualisasikan dengan mata. Immunodeteksi tidak dilakukan secara langsung pada gel karena sifat gel yang cukup rapuh. Protein di dalam gel sebelumnya ditransfer terlebih dahulu pada sebuah membran yang lebih kuat. Membran yang dapat digunakan berupa membran *nitrocellulose* (NC), membran *polyvinylidene difluoride* (PVDF) atau membran nilon. Hasil yang baik dalam proses *western blot* membutuhkan tahapan proses *blocking*. Proses ini menutupi *background* dengan protein lain agar terjadi ikatan yang spesifik. Larutan untuk *blocking* dapat berupa skim milk atau *bovine serum albumin* (BSA). (Fatchiyah dkk, 2011).

BAB III METODOLOGI

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian Kajian Nutrigenomik: Penghambatan Igf-1 pada Adipogenesis Jaringan Lemak Viseral Dengan Ekstrak Kulit Rambutan dilaksanakan mulai pada bulan Desember 2012 hingga Juli 2013. Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya.

3.2. Kelaikan Etik

Penelitian ini sudah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya. Nomor sertifikat laik etik yang didapatkan adalah 82-KEP-UB dan disetujui pada tanggal 1 Juni 2012.

3.3. Pembuatan Simplisia Kulit Buah Rambutan

Kulit buah rambutan varian Binjay didapatkan dari Kabupaten Blitar. Pembuatan simplisia didasarkan pada penelitian oleh Nugraha dan Pudjadi (2008). Kulit buah rambutan dikupas dari daging buah rambutan lalu dibersihkan. Setelah itu keringkan secara kering angin hingga berwarna kecoklatan dan benar-benar kering. Kulit buah rambutan yang sudah kering tersebut digiling dengan alat penggilingan hingga berbentuk serbuk.

3.4. Maserasi dan Ekstraksi Kulit Buah Rambutan

Simplisia yang didapatkan kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi yang dijelaskan oleh Indraswari (2008). Simplisia dimasukkan dalam tabung untuk maserasi secara perlahan-lahan sambil dimasukkan etanol 70% hingga seluruh bubuk simplisia terendam dengan etanol 70%. Hasil maserasi diambil setelah 4-5 hari (Indraswari, 2008). Hasilnya kemudian diletakkan dalam labu kaca dan dilakukan evaporasi etanol dengan menggunakan *rotary evaporator*. Hasil ekstraksi kemudian diletakkan dalam tabung yang telah disterilkan sebelumnya. Perlakuan ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, FMIPA, UB.

3.5. Perlakuan pada Tikus

Hasil ekstrak yang didapatkan sebelumnya dipergunakan untuk perlakuan pada tikus normal dan tikus yang obesitas. Tikus yang digunakan adalah tikus jantan *strain* wistar jantan umur ± 3 bulan dengan berat badan normal (± 200 gr) dan obesitas (± 350 gr) yang didapatkan dari D'Wistar Bandung. Total sampel yang digunakan adalah sebanyak 25 ekor tikus normal dan 25 ekor tikus obesitas. Sampel dibagi menjadi 7 kelompok yang diberi perlakuan antara lain (1) tanpa perlakuan (kontrol), (2) *placebo* (diberi perlakuan pelarut), (3) perlakuan dengan asam elagat murni, (4) perlakuan dengan ekstrak kulit buah rambutan dosis 5 mg/kg berat badan, (5) perlakuan dengan ekstrak kulit buah rambutan dosis 10 mg/kg berat badan, (6) perlakuan dengan ekstrak kulit buah rambutan dosis 15 mg/kg berat badan, (7) perlakuan dengan ekstrak kulit buah rambutan dosis 20 mg/kg berat badan. Perlakuan dilakukan dengan cara sonde lambung setiap 2 hari sekali selama 14 minggu pada pagi hari. Tikus diberi perlakuan makan dan minum secara *ad libitum* dan berada pada 12:12 siklus terang dan gelap. Pakan yang diberikan pada tikus normal adalah pakan dengan kalori yang lebih rendah daripada tikus obesitas.

Selama perlakuan, data yang diperoleh berupa jumlah asupan makanan dan minuman per hari, berat badan dan lingkaran badan dari tikus. Pengukuran dilakukan dengan bantuan kandang metabolit. Tikus dimasukkan dalam kandang metabolit pada minggu ke-1, 4, 7, 10, dan 12 perlakuan selama 5 hari. Pada minggu selain minggu ke-1, 4, 7, 10, dan 12, tikus dimasukkan dalam kandang biasa dan yang diukur hanya berat badan dan lingkaran badan. Pengukuran berat badan dan lingkaran perut dilakukan sekali dalam seminggu. Tikus yang telah diberi perlakuan selama 14 minggu kemudian didislokasi leher dan dibedah untuk mendapatkan jaringan lemak visceral.

3.6. Isolasi Protein Lemak Visceral

Setiap sampel lemak visceral dari seluruh perlakuan ditimbang dan diambil sebanyak 1 gram untuk isolasi protein. Lemak visceral untuk isolasi protein ditambahkan *buffer ekstrak* dengan perbandingan 2:1 (v/w) lalu digerus dengan mortar dingin. Homogenat dimasukkan ke dalam tabung eppendorf lalu disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit, pada suhu 4°C. Lapisan kedua yang terbentuk dari sentrifugasi adalah yang

digunakan (Robyt dan White, 1987). Konsentrasi protein tiap sampel diukur dengan menggunakan *Nanodrop* Spektrofotometer. Setelah itu disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan untuk uji selanjutnya

3.7. Uji Profil Protein dengan SDS-PAGE dan *Western blot*

Hasil isolasi protein kemudian dianalisis dengan menggunakan metode SDS-PAGE lalu dilanjutkan dengan metode *Western blot*. SDS-PAGE dilakukan dengan menggunakan gel poliakrilamid 12,5%. Konsentrasi protein sampel untuk SDS-PAGE disamakan menjadi 1ng/ml tiap sampel dan dilarutkan dalam *buffer* Tris HCL pH 6,8 dan *reducing sample buffer* (RSB) sebelum dimasukkan ke dalam sumuran. *Running* dilakukan pada voltase konstan 200V hingga *tracking dye* mencapai 0,5 cm dari dasar gel. Sebagian dari hasil SDS-PAGE dilakukan pewarnaan dengan menggunakan CBB-250 untuk melihat distribusi pita protein, dan sebagian lagi dilanjutkan ke metode *Western blot*. Gel yang diberi pewarnaan CBB-250 difoto.

Hasil foto distribusi pita protein kemudian digunakan untuk perhitungan berat molekul protein yang terseparasi. Berat molekul tiap pita protein yang terbentuk ditentukan dengan mengukur mobilitas (*Retention factor*) molekul protein dalam gel poliakrilamid dan diplot berdasarkan kurva standar berat molekul dari protein standar (*Marker*) yang telah diketahui berat molekulnya. Mobilitas protein dalam gel poliakrilamid dapat diukur dengan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan pita protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan tracking dye dari tempat awal}}$$

Kurva standar untuk penentuan berat molekul protein dibuat dengan R_f protein standar. Sumbu X pada kurva adalah nilai R_f protein standar dan sumbu Y adalah logaritma berat molekul dari tiap protein standar. Kurva yang terbentuk berupa *scatterplot* dengan persamaan regresi $y = ax + b$. Berat molekul dari setiap pita protein lemak viseral dapat diperoleh dengan menggunakan persamaan tersebut.

Protokol yang digunakan untuk *Western blot* mengacu pada Fatchiyah dkk (2011) dengan menggunakan metode *wet western blot*. Protein pada gel hasil SDS-PAGE dilakukan transfer pada membran

Nitrocellulose (NC). Membran direndam dalam *buffer blot* dingin. Gel dicuci dengan aquades lalu direndam dalam *buffer blot* dingin. Kertas saring yang digunakan direndam dalam *buffer blot* dingin. Selanjutnya dibentuk *sandwich* dengan urutan (1) kertas saring 6 lembar, (2) gel SDS-PAGE, (3) membran NC, (4) kertas saring 9 lembar pada *cassette* alat *western blot*. Transfer dilakukan dalam keadaan terendam *buffer blot* yang distirrer dengan kondisi transfer konstan 90mA, 30V, pada suhu 4°C selama 15 jam. Hasil transfer pada membran NC kemudian diblokir dengan menggunakan larutan PBS-susu skim 5% dan dishaker selama 1 jam. Selanjutnya, membran dicuci dengan PBS-Tween sebanyak 3 kali masing-masing 10 menit sambil dishaker. Membran kemudian diinkubasi dengan antibodi *rabbit*-anti igf-1 (H-70: sc-9013 Santa Cruz) yang dilarutkan dalam PBS-susu skim dengan konsentrasi 1:1500 selama semalam. Antibodi primer didapatkan dari Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Membran kemudian dicuci dengan PBS-Tween sebanyak 3 kali masing-masing 10 menit sambil dishaker. Selanjutnya ditambahkan antibodi sekunder *goat-anti-rabbit IgG AP-conjugated* yang dilarutkan dalam TBS dengan konsentrasi 1:2500 selama 1 jam pada suhu ruang sambil dishaker. Selanjutnya, membran dicuci dengan TBS sebanyak 4 kali masing-masing 10 menit sambil dishaker. Substrat NBT-BCIP sebanyak 3 ml ditambahkan ke tiap membran pada ruangan yang gelap lalu ditunggu hingga pita protein spesifik muncul. Setelah pita protein muncul, dilakukan stop reaksi dengan merendam membran dalam aquades. Pita protein yang terlihat kemudian difoto dan diukur densitasnya dengan menggunakan *software Quantity one*.

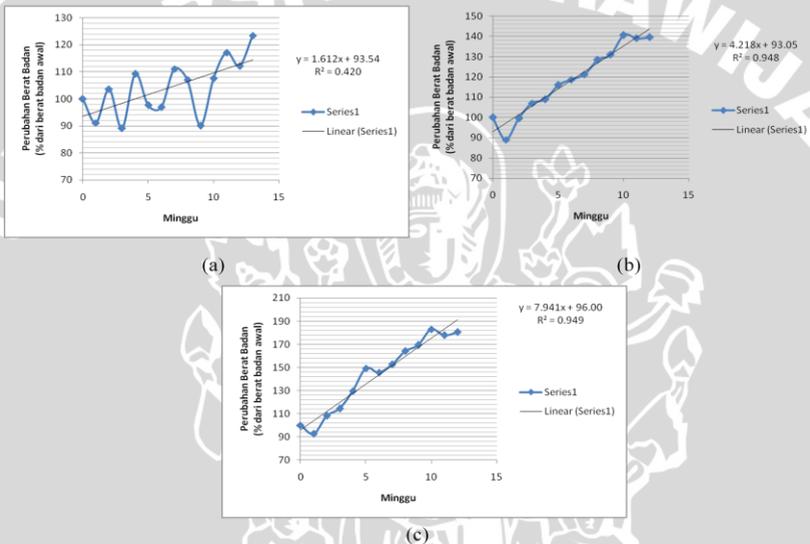
3.8. Analisis Statistik

Penelitian dibagi menjadi 2 grup besar yaitu tikus normal dan tikus obesitas. Tiap grup dibagi lagi menjadi 7 kelompok berdasarkan perlakuan yang dilakukan. Ulangan yang digunakan tiap perlakuan sebanyak 3 kali. Rancangan yang digunakan adalah rancangan petak terbagi (RPT). Hasil perlakuan dianalisis dengan menggunakan uji *split plot* ANOVA dua arah pada $\alpha=0,05$ dengan menggunakan *software* SPSS 16.0.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

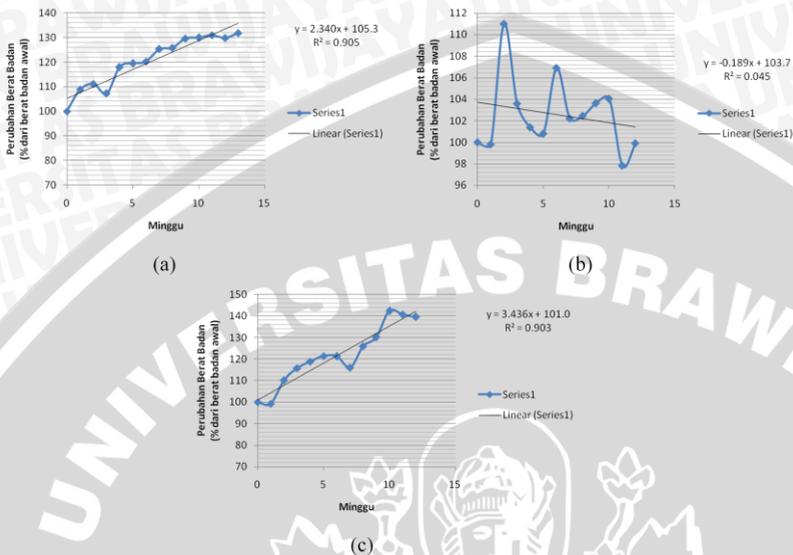
4.1 Respon Fisiologis Tikus terhadap Perlakuan

Tikus yang diberi perlakuan pada penelitian ini diukur berat badan dan lingkar badannya secara berkala setiap minggu hingga 14 minggu. Berikut adalah hasil pengukuran berat badan dan lingkar badan serta pertumbuhan dari masing-masing faktor yang diukur.



Gambar 7. Grafik perbandingan persentase perubahan berat badan dari berat badan awal tiap minggu pada perlakuan kelompok tikus normal. (a) kontrol; (b) perlakuan 10mg/kg berat badan (c) perlakuan 20mg/kg berat badan.

Hasil pengukuran terhadap perubahan berat badan pada tikus normal yang diberi pakan normal menunjukkan bahwa setiap perlakuan menunjukkan kecenderungan untuk meningkat bila dibandingkan dengan kontrol (lampiran 8, gambar L4). Peningkatan yang signifikan terlihat pada perlakuan dengan ekstrak dosis 20mg/kg perubahan dari berat badan awal ada minggu terakhir perlakuan terlihat dari persamaan yang memiliki angka jauh lebih besar daripada kontrol (Gambar 7).

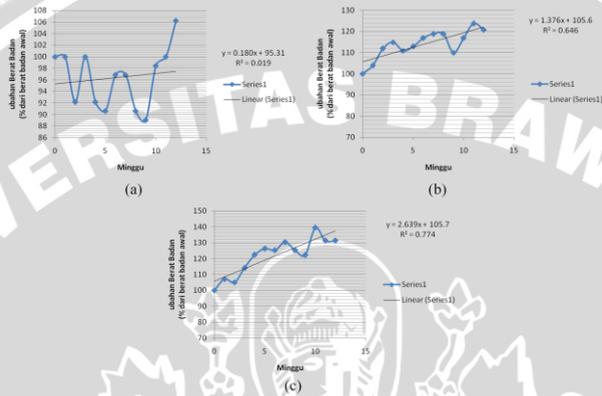


Gambar 8 Grafik perbandingan persentase perubahan berat badan dari berat badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus obesitas. (a) kontrol; (b) perlakuan 10 mg/kg berat badan; (c) perlakuan 20 mg/kg berat badan.

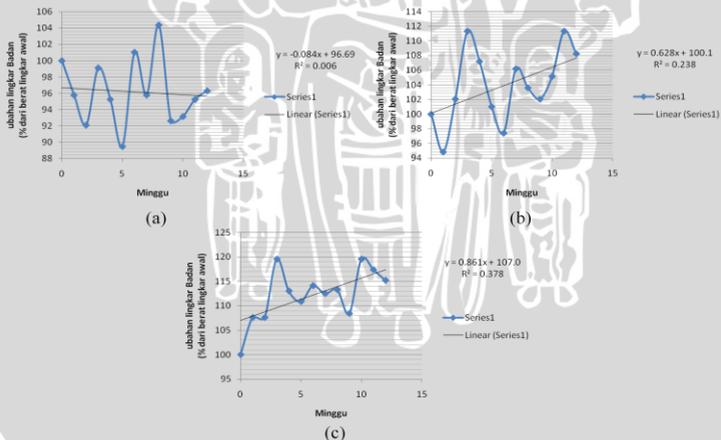
Hasil pengukuran untuk perubahan berat badan pada tikus obesitas menunjukkan bahwa adanya terjadi penurunan berat badan pada hampir seluruh perlakuan bila dibandingkan dengan kontrol (lampiran 8, gambar L5). Pemberian perlakuan pada tikus obesitas menunjukkan adanya kecenderungan penurunan berat badan kecuali pada perlakuan 20mg/kg yang mengalami kenaikan berat badan bila dibandingkan dengan kontrol bila dilihat dari nilai persamaan yang diperoleh. Penurunan berat badan yang signifikan terjadi pada perlakuan 10mg/kg berat badan (gambar 8).

Pengukuran selanjutnya ada pada lingkar badan yang diukur pada bagian abdomen tikus. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa terjadi peningkatan ukuran lingkar badan bila diberi perlakuan ekstrak 5, 10, dan 20 mg/kg berat badan untuk tikus normal; dan perlakuan 10 dan 20 mg/kg berat badan pada tikus obesitas. Terjadi penurunan terjadi pada perlakuan dengan dosis 15mg/kg berat badan untuk kedua jenis tikus yang digunakan. Pertumbuhan lingkar badan pada dosis 10mg/kg grup obesitas masih di bawah dosis 20mg/kg.

(gambar 9 dan 10). Lingkaran badan yang diukur dapat menunjukkan seberapa besar lemak visceral yang dimiliki oleh tikus. Menurut Kawada *et al.*, (2009) dalam Mine *et al* (2009), akumulasi lemak visceral yang tinggi dapat menjadikan seseorang menjadi obesitas.

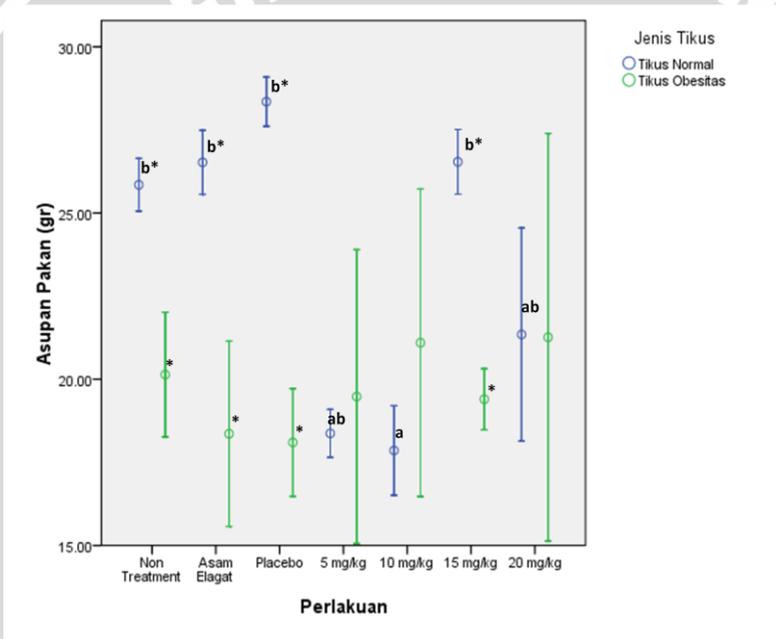


Gambar 9. Grafik perbandingan persentase perubahan lingkaran badan dari lingkaran badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus normal. (a) kontrol; (b) perlakuan 10 mg/kg berat badan; (c) perlakuan 20 mg/kg berat badan.



Gambar 10. Grafik perbandingan persentase perubahan lingkaran badan dari lingkaran badan awal tiap minggu pada tiap perlakuan kelompok tikus normal. (a) kontrol; (b) perlakuan 10 mg/kg berat badan; (c) perlakuan 20 mg/kg berat badan.

Obesitas berkaitan dengan asupan makanan yang masuk ke dalam tubuh (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009). Beberapa peneliti menggunakan diet tinggi kalori untuk melakukan penelitian yang berkaitan dengan senyawa anti obesitas, seperti Lei *et al* (2007), Yun (2010), dan Moreno *et al* (2003). Ketidakseimbangan antara energi yang masuk dengan energi yang dikeluarkan dapat memberikan terakumulasinya sel-adiposit sehingga akan menjadi obesitas (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009)



Gambar 11. Grafik perbandingan asupan pakan selama waktu penelitian antar perlakuan pada kedua jenis tikus. Data berupa mean±S.D. Notasi huruf menunjukkan perbedaan antar perlakuan dalam 1 jenis tikus pada $\alpha=5\%$; Tanda * menunjukkan signifikasi dengan perlakuan tikus lain pada $\alpha=5\%$.

Berdasarkan rata-rata asupan makanan yang masuk ke dalam tubuh didapatkan bahwa beberapa perlakuan berefek pada jumlah makanan yang dimakan oleh tikus. Grup tikus obesitas tidak terdapat

adanya perbedaan nyata pada seluruh perlakuan. Sedangkan untuk tikus normal, rata-rata asupan makanan pada perlakuan 5mg/kg, 10mg/kg dan 20mg/kg lebih rendah berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang lain, termasuk kontrol. Ketiga perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan asupan makanan tikus obesitas pada perlakuan yang sama. Perlakuan lainnya tidak berbeda nyata dengan kontrol serta berbeda nyata dengan asupan tikus obesitas (gambar 11). Nilai kalori yang masuk ke dalam tubuh tikus normal masih lebih rendah dengan tikus obesitas dikarenakan perbedaan jenis pakan yang diberikan. Rata-rata nilai kalori yang dikonsumsi oleh tikus normal adalah 65.396,4 kal, sedangkan untuk tikus obesitas 75.063,73 kal.

Dosis 20mg/kg BB menunjukkan efek menaikkan berat badan dan lingkaran badan pada kedua jenis tikus dengan rata-rata asupan pakan yang sama dari kedua jenis tikus. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *crude extract* dari kulit buah rambutan memiliki efek yang saling bertolak belakang yang berhubungan dengan dosis (*dose-dependent*). Bila digunakan untuk terapi anti obesitas, dosis yang diberikan sebaiknya tidak melebihi batas 20 mg/kg berat badan. *Retinoic acid* juga dilaporkan memiliki efek yang *dose-dependent* yang bertolak belakang terhadap diferensiasi adiposit (Niemela *et al.*, 2008).

Berdasarkan data yang telah dihipung untuk efek perlakuan kepada kondisi tubuh tikus, diketahui bahwa efek penghambatan dari ekstrak kulit buah rambutan memiliki pengaruh efektif bila diberikan kepada tikus yang sudah obesitas dan diberi pakan tinggi kalori. Hal ini dapat dilihat dari terjadi penurunan berat badan yang terjadi dan dihubungkan dengan jumlah asupan pakan yang diambil oleh tikus tidak berbeda nyata antar perlakuan. Penurunan tertinggi ada pada perlakuan dengan dosis 10mg/kg berat badan. Data tersebut menunjukkan adanya suatu mekanisme anti-obesitas yang terjadi pada tikus obesitas saat diberikan perlakuan ekstrak kulit buah rambutan.

Tikus normal yang diberikan ekstrak kulit buah rambutan menunjukkan adanya terjadi kenaikan berat badan pada seluruh perlakuan, dengan peningkatan yang signifikan pada perlakuan 20mg/kg. Lingkaran badan yang dihitung mengalami peningkatan pada perlakuan 5, 10 dan 20 mg/kg berat badan. Bila dilihat dari asupan makanan yang diambil, perlakuan 5, 10 dan 20 mg/kg menunjukkan

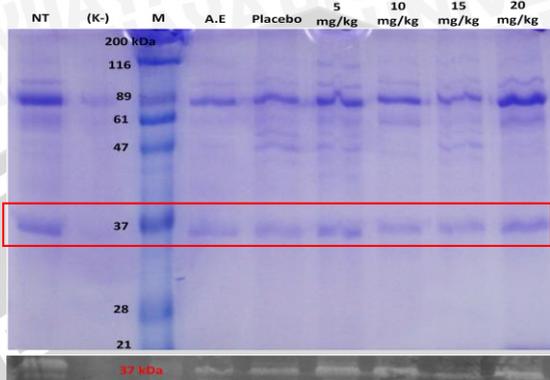
penurunan dibandingkan dengan kontrol. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya kandungan di dalam ekstrak kulit yang menghambat nafsu makan dari tikus. Efek anti obesitas yang diinginkan hanya berlaku pada tikus obesitas, namun tidak menunjukkan adanya efek anti-obesitas pada tikus normal.

Perbedaan terjadi dari respon fisiologis yang cukup jelas antara tikus normal dengan tikus obesitas dapat disebabkan oleh adanya perbedaan fisiologi yang terjadi di dalam tubuh tikus. Tikus yang obesitas memiliki resiko yang jauh lebih tinggi untuk menimbulkan kondisi metabolik lain, seperti hiperlipidemia, hiperglikemia, dan hipertensi. Abnormalitas metabolisme juga terjadi pada kondisi tubuh mengalami obesitas, seperti *insulin resistance*, induksi inflamasi ke dalam jaringan lemak yang akhirnya menimbulkan komplikasi seperti diabetes tipe 2 dan atherosklerosis (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009; Kotsis *et al.*, 2010; Schutz, 2004). Data tersebut memunculkan dugaan bahwa ekstrak kulit buah rambutan bekerja dengan mengoreksi *metabolic syndrome* yang terjadi di dalam tikus obesitas.

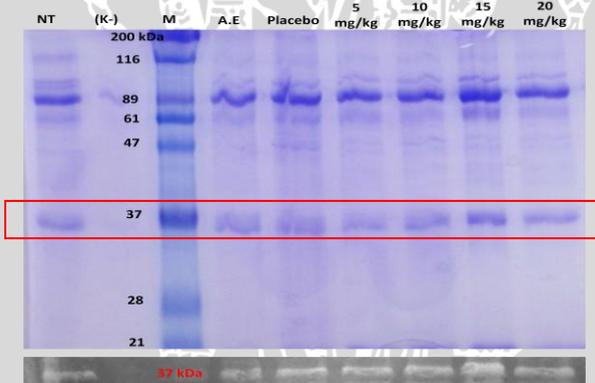
4.2 Profil Protein dan Ekspresi Protein igf-1

Data berat badan menggambarkan dari respon fisiologis tikus terhadap perlakuan ekstrak kulit buah rambutan. Peninjauan dari segi molekuler dibutuhkan untuk menggambarkan pengaruh dari ekstrak kulit buah rambutan pada proses adipogenesis. Konfirmasi mekanisme dilakukan analisis profil protein pada jaringan lemak visceral.

Profil protein yang didapatkan dari jaringan lemak visceral tikus normal menunjukkan adanya beberapa pita protein. Terdapat 4 pita protein pada perlakuan kontrol, asam elagat, ekstrak 10 dan 20 mg/kg berat badan. Pita tersebut muncul pada berat molekul 117,5 kDa, 99,12 kDa, 89kDa, 60kDa, dan 36,7kDa. Perlakuan *placebo*, 5, dan 15 mg/kg berat badan memiliki tambahan pita pada berat molekul 57kDa dan 48kDa selain dari 4 pita yang disebutkan sebelumnya. Ekspresi protein yang paling terlihat ada pada protein dengan berat molekul 87kDa dan 36,7kDa untuk semua jenis perlakuan. Berdasarkan ketebalan pita yang terlihat, pita pada 89 kDa dan 36,7kDa untuk tikus kontrol dan perlakuan 20mg/kg berat badan memiliki pita yang jauh lebih tebal bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya.



Gambar 12 Profil protein lemak visceral dari tikus normal. Atas: profil protein hasil SDS-PAGE 12,5% yang diwarnai dengan CBB-250; bawah: hasil *Western blot* untuk protein Igf-1. Keterangan: NT: *non treatment*; K-: kontrol negatif; M: penanda; A.E: asam elagat; *placebo*: perlakuan pelarut; 5, 10, 15, 20 mg/kg: perlakuan ekstrak dosis 5,10,15, dan 20 mg/kg berat badan.



Gambar 13. Profil protein lemak visceral dari tikus obesitas. Atas: profil protein hasil SDS-PAGE 12,5% yang diwarnai dengan CBB-250; bawah: hasil *Western blot* untuk protein Igf-1. Keterangan: NT: *non treatment*; K-: kontrol negatif; M: penanda; A.E: asam elagat; *placebo*: perlakuan pelarut; 5, 10, 15, 20 mg/kg: perlakuan ekstrak dengan dosis 5,10,15, dan 20 mg/kg berat badan.

Profil protein yang diisolasi dari jaringan lemak visceral tikus obesitas menunjukkan profil yang berbeda dengan tikus normal baik dari jumlah pita dan ketebalan pita yang dihasilkan. Kontrol atau *non treatment*, asam elagat, 15 dan 20 mg/kg berat badan memiliki 5 pita pada berat molekul yang sama, yaitu 117,5kDa, 99kDa, 87kDa, 78kDa dan 36,7kDa. Sedangkan perlakuan lain memiliki tambahan pita protein pada berat molekul 47kDa yang terlihat jelas. Setiap perlakuan mengekspresikan protein pada berat molekul 87 kDa dan 36,7kDa dengan cukup tinggi bila dibandingkan dengan pita protein lainnya. Ekspresi dari protein dengan berat molekul 87 kDa lebih tebal pada perlakuan ekstrak bila dibandingkan dengan kontrol dan asam elagat, dengan ekspresi yang paling tebal ada pada perlakuan 15 mg/kg berat badan. Pita protein pada berat molekul 36,7kDa juga lebih tebal pada perlakuan 15 mg/kg berat badan.

Pita protein yang memiliki berat molekul 87kDa diduga adalah protein PPAR γ . Protein tersebut merupakan regulator utama dari adipogenesis jaringan lemak. Protein ini bekerja sama dengan protein C/EBP α untuk melakukan *growth arrest* pada sel preadiposit agar dapat terjadi diferensiasi menjadi adiposit yang matang. PPAR γ yang teraktivasi dapat menstimulasi adanya ekspresi gen yang spesifik terhadap adiposit sehingga energi akan ditransfer lebih banyak ke dalam sel dalam bentuk titik-titik lemak (Niemela *et al.*, 2008).

Target dari penelitian ini adalah protein igf-1. Pembentukan adiposit yang baru membutuhkan sinyal-sinyal kimiawi yang berupa ligan untuk menstimulasi proses tersebut. Salah satu ligan yang dapat menstimulasi proliferasi tersebut adalah igf-1 (Lowe *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Firdausi dkk (2012) menunjukkan bahwa ekspresi Igf-1 menurun pada tikus yang mengalami penurunan berat badan dikarenakan perlakuan larutan teh hitam.

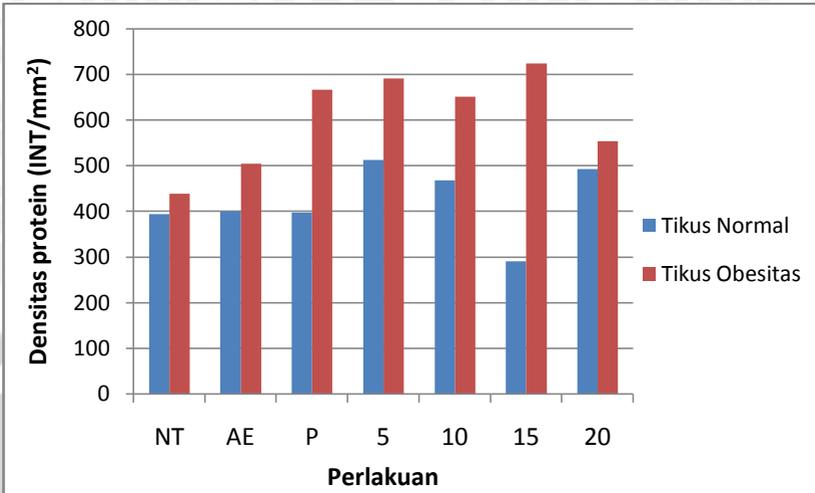
Asupan pakan yang tinggi kalori bila tidak diimbangi dengan kegiatan fisik yang cukup akan menyebabkan perubahan dari kalori yang tidak terbuang menjadi lemak. Lemak tersebut akan disimpan di dalam jaringan adiposa. Adiposit dewasa dapat menyimpan lemak hingga batas tertentu, sehingga bila batas tersebut telah dicapai, maka diperlukan adiposit baru untuk menampung lebih banyak lemak. Adiposit dewasa akan memproduksi *growth factor* yang akan memfasilitasi pembentukan adiposit baru. Beberapa *growth factor* yang bekerja secara parakrin untuk jaringan adiposa dapat berupa igf-1, TNF α , dan lain sebagainya (Holly *et al.*, 2006; Niemela *et al.*,

2008; Lowe *et al.*, 2008). Hipotesa yang dapat diambil, bahwa asupan pakan kalori tinggi akan meningkatkan kadar igf-1 dari normal sebagai respon dari asupan tersebut. Terjadi penurunan berat badan yang terjadi pada perlakuan tikus obesitas akibat dari perlakuan ekstrak diduga berasal dari penghambatan igf-1 yang menstimulasi diferensiasi sel preadiposit.

Berdasarkan hasil analisa *western blot*, pita yang muncul setelah diberi substrat terlihat dekat dengan marker 37kDa. Protein yang ditandai diduga adalah *binding protein* yang dapat mengikat dari igf-1. Beberapa protein yang dapat berikatan langsung dengan igf-1 adalah igfbp (*insulin-like growth factor binding protein*). Igfbp yang memiliki berat molekul mendekati 37 kDa adalah igfbp-1 dengan berat molekul antara 30-40kDa saat berikatan dengan igf-1 (Kostecka dan Blahovesc, 1999).

Antibodi yang digunakan untuk analisa *western blot* pada penelitian ini dapat mengenali protein igf-1 pada sekuens asam amino nomor 49 hingga 118 (H-70: sc-9013 Santa Cruz). Munculnya pita pada berat 36,7kDa yang diduga merupakan igf-1 yang berkaitan dengan igfbp-1 dikarenakan menurut Kostecka dan Blahovesc (1999), bahwa saat adanya ikatan antara igf-1 dengan igfbp-1 akan membentuk kompleks protein dengan berat molekul 30-40kDa.

Igf-1 tidak ditandai dengan baik setelah dilakukan separasi protein dan *western blot*. Hal ini dikarenakan adanya technical error yang terjadi saat proses separasi protein dilakukan. Berat molekul dari igf-1 bebas adalah 7-8kDa (Foulstone dkk. 2005 dalam Firdausi dkk. 2009) sehingga proses separasi protein tersebut seharusnya mencapai level marker 9kDa. Penggunaan konsentrasi akrilamid yang disarankan adalah 15%. Menurut Hames dan Rickwood (1990), penggunaan gel akrilamid pada konsentrasi tersebut dapat memisahkan protein pada berat molekul di bawah 50kDa dengan baik.



Gambar 14. Grafik perbandingan densitas protein hasil *western blot* antar perlakuan.

Pengukuran densitas protein memperlihatkan bahwa semua perlakuan mengekspresikan protein *igf-1* lebih tinggi dari kontrol. Densitas protein lebih tinggi pada tikus obesitas bila dibandingkan dengan normal. Untuk tikus normal, densitas untuk perlakuan asam elagat dan *placebo* mendekati kontrol, sedangkan untuk tikus yang diberi perlakuan mengalami fluktuatif. Ekspresi *igf-1* meningkat pada perlakuan 5, 10 dan 20. Sedangkan pada perlakuan 15 mg/kg berat badan mengalami penurunan bila dibandingkan dengan kontrol. Tikus yang obesitas mengalami peningkatan ekspresi pada semua jenis perlakuan dosis.

Bila data ekspresi *igf-1* dikorelasikan dengan data pertumbuhan berat badan, penurunan berat badan yang terlihat ada pada perlakuan 10mg/kg BB grup obesitas tidak didukung oleh ekspresi *igf-1* pada kelompok tersebut yang lebih tinggi dari kontrol namun lebih rendah dari ekspresi 20mg/kg BB. Sedangkan untuk perlakuan 20mg/kg BB yang mengalami kenaikan berat badan, ekspresi *igf-1* yang terlihat lebih rendah daripada perlakuan ekstrak lainnya baik untuk grup tikus normal dan obesitas. Data ini memberikan dugaan bahwa efek anti-obesitas dari ekstrak kulit buah rambutan tidak melalui jalur transduksi sinyal *igf-1*.

Mekanisme adipogenesis yang terkait dengan stimulasi dari igf-1 dijelaskan oleh Rosen dan MacDougald (2006) dan Holly *et al* (2006). Igf-1 akan berikatan dengan reseptornya (igf-1r) yang berupa reseptor tipe *tyrosin kinase* yang memiliki kemiripan dengan *insulin receptor* (Cheng *et al.*, 2010). Sel pre-adiposit dan adiposit matang juga memiliki reseptor untuk insulin, dengan rasio antara igf-1r dan reseptor insulin yang berubah-ubah berdasarkan perkembangan yang terjadi pada adiposit. Saat diferensiasi preadiposit menjadi adiposit jumlah igf-1r berkurang sedangkan reseptor insulin bertambah, dan bahkan dapat terjadi *hybrid* antara keduanya. Meskipun begitu, kedua ligannya memiliki fungsi yang sama yaitu menghambat apoptosis pada sel tersebut. Saat terjadi pengikatan, transduksi sinyal berlanjut ke IRS (*insulin receptor substrate*) yang berhubungan dengan *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI-3-K) *pathway*. Dari PI-3-K berlanjut ke aktivasi *pathway* AKT/PKB, lalu CREB dan akhirnya akan meningkatkan ekspresi dari regulator utama adiposit, yaitu C/EBP dan PPAR γ . Teraktivasinya kedua regulator tersebut akan menyebabkan diferensiasi sel preadiposit menjadi adiposit yang matang. Holly *et al* (2006) mengemukakan bahwa igf-1 juga dapat mengatasi penghambatan diferensiasi yang dimediasi oleh pref-1. Penambahan jumlah adiposit dewasa yang mengandung lemak berkontribusi pada penambahan berat badan.

Menurut Rosen dan MacDougald (2006), jalur mekanisme untuk proliferasi dan diferensiasi adiposit tidak hanya melalui jalur igf-1, beberapa *chemical messenger* lain yang berpengaruh ada *bone morphogenetic protein* (BMP) yang menstimulasi sel pre-adiposit melalui *Smad signalling pathway*. *Tumor Growth Factor β* (TGF β) serta *Tumor Necrosis Factor* (TNF α) juga diketahui menstimulasi proses adipogenesis. Penghambatan pada reseptor ligan yang menstimulasi adipogenesis juga terbukti memberikan efek anti obesitas yang ditandai dengan penurunan jumlah sel adiposa (Firdausi dkk. 2012). Penghambatan pada protein yang meregulasi adiposit juga dilaporkan menghambat pembentukan sel adiposa yang baru (Kawada *et al.*, 2009 dalam Mine *et al.*, 2009.).

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Ekstrak kulit buah rambutan dengan dosis efektif 10mg/kgBB memiliki efek anti-obesitas pada tikus obesitas. Menariknya, ekspresi igf-1 menurun pada perlakuan 20mg/kg berat badan dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini diduga penghambatan obesitas tidak melewati jalur *tyrosin kinase* pada *IR family*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disarankan untuk dilakukan uji lanjutan berupa konfirmasi level igf-1 dengan metode lain serta level protein lain yang berhubungan dengan adipogenesis sehingga dapat lebih menjelaskan efek anti-obesitas yang dimiliki ekstrak kulit buah rambutan. Selain itu juga dilakukan uji toksisitas maupun uji keamanan pangan agar dapat menjadi salah satu alternatif agen terapi obesitas.



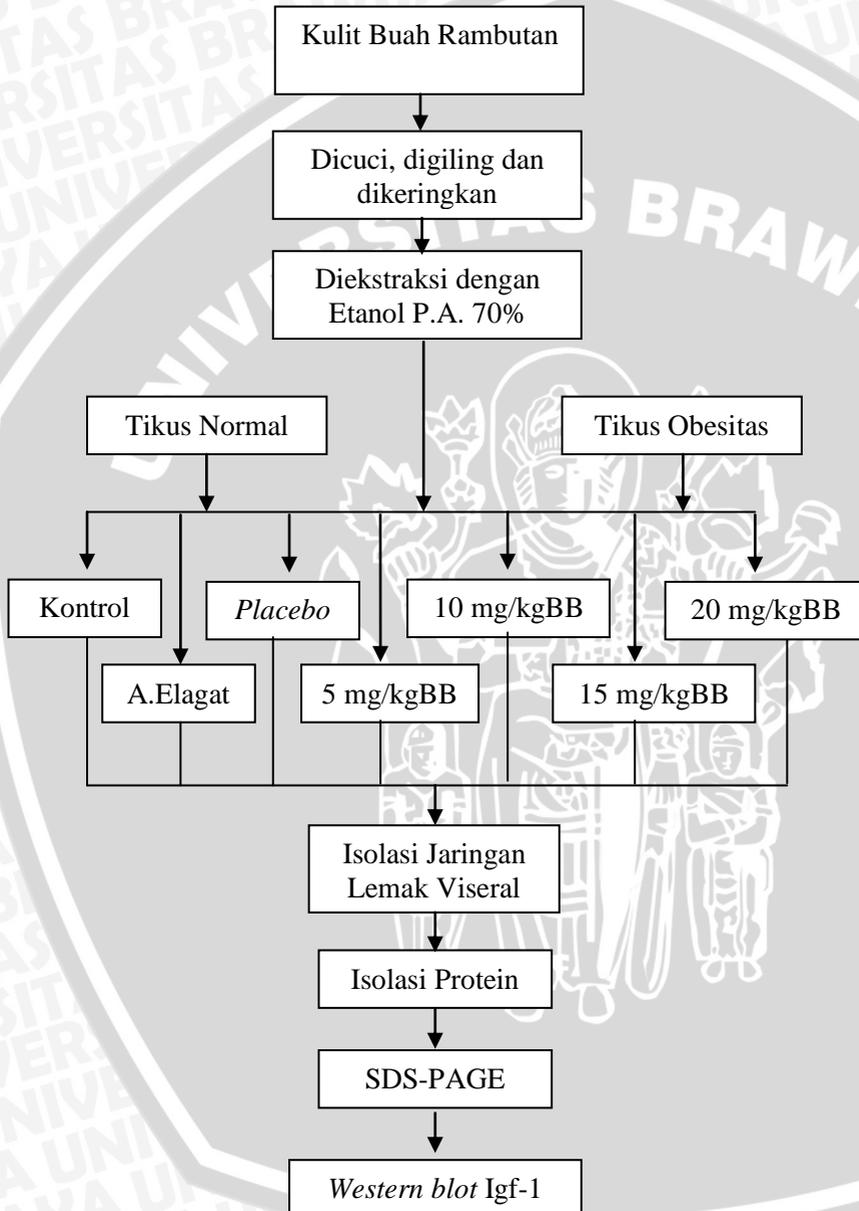
DAFTAR PUSTAKA

- Atkinson, C.J., P.A.A. Dodds, Y.Y. Ford, J. Le Miere, J.M. Taylor, P.S. Blake dan N. Paul. 2006. Effects of Cultivar, Fruit Number and Reflected Photosynthetic Radiation on *Fragaria x ananassa* Productivity and Fruit Ellagic Acid and Ascorbic Acid Concentration. *Annals of Botany* 97: 429-441.
- Cheng, Z., Y. Tseng, dan M.F. White. 2010. Insulin Signaling Meets Mitochondria in Metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 21(10): 589-598.
- Fatchiyah, E.L. Arumingtyas, S. Widyarti dan S. Rahayu. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga
- Firdausi, L., Fatchiyah, dan Widodo. 2009. Analisis *in silico*: Penghambatan *Catechin* pada *Insulin-like Growth Factor 1 Receptor* (Igf-1r) terhadap Igf-1. Universitas Brawijaya: Malang.
- Firdausi, L., M.R. Indra dan Fatchiyah. 2012. Binding Inhibition Between Igf-1r and Igf-1 by Catechin of Black Tea. *The Journal of Tropical Life Science* Vol 2. No. 3: 132-135.
- Hames, B. D. & Rickwood D. 1990. *Gel Electrophoresis of Proteins A Practical Approach Third Edition*. New York: Oxford University Press.
- Holly, J., M. Sabin, M.D. Claire Perks, dan J. Shield. 2006. Review: Adipogenesis and IGF-1. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 4(1): 43-50.
- Indraswari, A. 2008. Optimasi Pembuatan Ekstrak Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) menggunakan Metode Maserasi dengan Parameter Kadar Total Senyawa Fenolik dan Flavonoid. Universitas Surakarta: Surakarta.
- Irawan, R., dan D.A. Putri. 2012. Diet Nutrigenomik pada Obesitas. Universitas Airlangga: Surabaya.
- Kawada, T., T. Goto, S. Hirai, R. Yu dan N. Takahashi. 2009. Obesity and Nuclear Receptors: Effective Genomic Strategies in Functional Foods, in *Nutrigenomics and Proteomics in Health and Disease*. Editor: Mine, Y., K. Miyashita, dan F. Shahidi. Wiley-Blackwell: Iowa, 47-58.
- Kostecka, Z., dan J. Blahovec. 1999. Insulin-like Growth Factor Binding Proteins and Their Functions (Minireview). *Endocrine Regulations* 33: 90-94.

- Kotsis, V., S. Staboulli, S. Papakatsika, Z. Rizos, dan G.Parati. 2010. Mechanisms of Obesity-induced Hypertension. *Hypertension Research* 33,386–393.
- Lehninger, A.L. 2004. *Biochemistry*. 4th Edition. Worth Publisher Inc.: USA.
- Lei, F., X.N. Zhang, W. Wang, D.M. Xing, W. D. Xie, H. Su, dan L.J. Du. 2007. Evidence of Anti-Obesity Effects of The Pomegranate Leaf Extract In High-fat Diet Induced Obese Mice. *International Journal of Obesity* 31: 1023-1029.
- Longo, D., dan A. Fauci. 2010. *Harrison's Gastroenterology and Hepatology*. McGrawHill: New York.
- Lowe, C.E., S. O'Rahily, dan J.J. Rochford. 2011. Adipogenesis at A Glance. *Journal of Cell Science* 124: 2681-2689.
- Marques, B.G., D.B. Hausman, A.M. Latimer, K.M. Kras, B.M. Grossman dan R.J. Martin. 2000. Insulin-like Growth Factor 1 Mediates High-Fat Diet-induced Adipogenesis in Osborne-Mendel Rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 278: R654-R662.
- Meydani, M., dan S.T. Hasan. 2010. Dietary Polyphenols and Obesity. *Nutrients* 2:737-751.
- Moreno, D., N. Ilic, A. Poulev, D.L. Brasaemle, S.K. Fried, dan I. Raskin. 2003. Inhibitory Effects of Grape Seed Extract on Lipases. *Nutrition* 19:876-879.
- Niemela, S., S. Miettinen, J.R. Sarkanen dan N. Ashammakhi. 2008. Adipose Tissue and Adipocyte Differentiation: Molecular and Cellular Aspects and Tissue Engineering Applications. *Topics in Tissue Engineering* 4: 1:26.
- Ning, J., T. Hong, X. Yang, S. Mei, Z. Liu, H. Liu, dan W. Cao. 2011. Insulin and Insulin signaling Plays a Critical Role in Fat Induction of Insulin Resistance in mouse. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 301: E391-E401.
- Nugraha, A., dan Pudjadi. 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) Terhadap Kadar Kolesterol Total Serum pada Tikus Wistar. Universitas Diponegoro: Semarang.
- Papoutsi, Z., E. Kassi, A. Tsiapara, N. Fokialakis, G.P. Chrousos, dan P. Moutsatsou. 2005. Evaluation of Estrogenic/Antiestrogenic Activity of Ellagic Acid via the

- Estrogen Receptor Subtypes ER α and ER β . *J. Agric. Food Chem.* 53:7715-7720.
- Prihatman, K. 2000. *Rambutan (Nephelium sp.)*. Sistem Informasi Manajemen Pembangunan Pedesaan: Jakarta.
- Rhodes, C.J., dan M.F. White. 2002. Molecular Insights into Insulin Action And Secretion. *European Journal of Clinical Investigation* 32: 3–13.
- Ristek. 2003. *Rambutan*. dalam. Seri Mencerdaskan Bangsa. Warintek Indonesia: Bogor.
- Robyt, J.F., dan White B.J. 1987. *Biochemical Techniques Theory and Practice*. Brooks/Cole Publ. Co. P234.
- Rousen, E.D., dan O.A. MacDougald. 2006. Adipocyte Differentiation from The Inside Out. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 7: 885-896
- Schutz, Y. 2004. Dietary Fat, Lipogenesis and Energy Balance. *Physiology and Behaviour* 83: 557-564.
- Thithilertdech, N., A. Teerawatgulrag, J.D. Kilburn dan N. Rakariyatham. 2010. Identification of Major Phenolic Compounds from *Nephelium lappaceum* L. and Their Antioxidant Activities. *Molecules* 15: 1453-1465.
- Vale, R.G.S., R.Dp. de Oliveira, C.S. Pernambuco, Y.P.S.F de Meneses, J.S. Novaes, dan A.F.D. de Andrade. 2008. Correlation between Basal Serum IGF-1 Levels and Functional Autonomy inelderly Women. *Revista internacional de Ciencias del Deporte* 14(5):11-18.
- WHO. 2003. *Obesity and Overweight*. World Health Organization: Jenewa.
- Yun, J.W. 2010. Possible Anti-obesity Therapeutics from Nature. *Phytochemistry* 71:1625-1641.
- Zhao, Y.X, W.J, Liang, H.J. Fan, Q.Y. Ma, W.X. Tian, H.F. Dai, H.Z. Jiang, N. Li., dan X.F. Ma. 2011. Fatty acid synthase inhibitors from the hulls of *Nephelium lappaceum* L. *Carbohydrate Research* 346: 1302-1306.

Lampiran 1. Kerangka Operasional Penelitian



Gambar L 1. Kerangka Operasional Penelitian

Lampiran 2. Bahan Kimia yang digunakan dalam penelitian

Tabel L1. Daftar Bahan Kimia yang Digunakan

No.	Nama Larutan	Konsentrasi
1.	Etanol P.A	70%
2.	Buffer ekstrak <i>Phenymetyl sulfonyl fluoride</i> (PMSF) KH_2PO_4 pH 7,4 Nonidet p40	1mM 50mM 0,5%
3.	Akrilamid total	30%
4.	Tris-HCl pH 8,8	1M
5.	Tris-HCL pH 6,8	1M
6.	SDS	10%
7.	APS	10%
8.	1x Running Buffer Tris Base Glisin SDS	125 mM 960 mM 0,5 %
9.	10x PBS KCl KH_2PO_4 NaCl $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	27 mM 14 mM 1,37 M 43 mM
10.	Tween	20%
11.	RSB UGB Gliserol 10% SDS 10% β -mercapthoethanol Bromophenol Blue Aquadec	12,5% 20% 20% 5% 2,5% 40%
12.	Transfer Buffer Tris Base Glisin Methanol absolut	3% 14,4% 20%
13.	Staining solution CBB R-250	0,25%

	Metanol absolut Asam Asetat Glasial	40% 7%
14.	Destaining solution Metanol absolut Asam Asetat Glasial	7% 7%
15.	Skim milk	5%
16.	TBS NaCl Tris Base	0,87% 0,121%
17.	Antibodi Primer (Rabbit IgG anti Igf-1)	1:1500
18.	Antibodi Sekunder (Goat IgG anti Rabbit IgG-AP conjugated)	1:2500



Lampiran 3. Uji Statistik

Tabel L2. Uji Normalitas: Data Metabolik

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Asupan_Pakan	Asupan_Minum
N		67	68
Normal Parameters ^a	Mean	21.3833	34.1176
	Std. Deviation	4.26324	9.18610
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.142
	Positive	.156	.142
	Negative	-.107	-.093
Kolmogorov-Smirnov Z		1.276	1.167
Asymp. Sig. (2-tailed)		.077	.131
a. Test distribution is Normal.			

Hasil pengujian normalitas menunjukkan bahwa ketiga variabel respon (asupan pakan, asupan minum, dan jumlah urin) memiliki sebaran normal (Asymp. Sig (2-tailed) > 0,05).

Tabel L3. Uji Split plot two way Anova: asupan pakan

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Asupan_Pakan

Source		Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	Hypothesis	29115.737	1	29115.737	1.160E3	.000
	Error	102.266	4.073	25.108 ^a		
Minggu	Hypothesis	101.926	4	25.481	5.813	.002
	Error	114.490	26.117	4.384 ^b		
Perlakuan	Hypothesis	158.604	6	26.434	5.934	.000
	Error	122.990	27.611	4.454 ^c		
Perlakuan * Minggu	Hypothesis	102.742	24	4.281	.445	.974
	Error	240.379	25	9.615 ^d		
Jenis_tikus	Hypothesis	197.617	1	197.617	20.553	.000
	Error	240.379	25	9.615 ^d		
Perlakuan * Jenis_tikus	Hypothesis	337.229	6	56.205	5.845	.001
	Error	240.379	25	9.615 ^d		

Terdapat perbedaan nyata pada variabel perlakuan; terdapat perbedaan nyata pada jenis tikus; terdapat interaksi yang berpengaruh nyata terhadap respon (sig. < 0,05)

Tabel L4. Uji BNT Asupan pakan

$$BNT1 = \left(\frac{(b-1)(KT\ galat\ b)(t_b) + (KT\ galat\ a)(t_a)}{(b-1)(KT\ galat\ b) + (KT\ galat\ a)} \right) \times \sqrt{\frac{2[(b-1)(KT\ galat\ b) + KT\ galat\ a]}{rb}}$$

$$BNT1 = \left(\frac{(2-1)(9,615)(2,060) + (4,454)(2,048)}{(2-1)(9,615) + (4,454)} \right) \times \sqrt{\frac{2[(2-1)(9,615) + 4,454]}{5 \times 2}}$$

$$BNT1 = 2,480 \times 3,077$$

$$= 7,634$$

	<i>Non treatment</i>	A.Elagat	<i>Placebo</i>	5mg/kg	10mg/kg	15mg/kg	20mg/kg
Normal	25.85b	26.525b	28.35b	18.372ab	17.858a	26.54b	21.346ab
Obesitas	20.14a	18.36a	18.1a	19.478a	21.098a	19.4a	21.264a
Selisih	5.71	8.165	10.25	1.106	3.24	7.14	0.082

$$BNT2 = t_{abg} \times \sqrt{\frac{2KT\ Galat\ b}{r}}$$

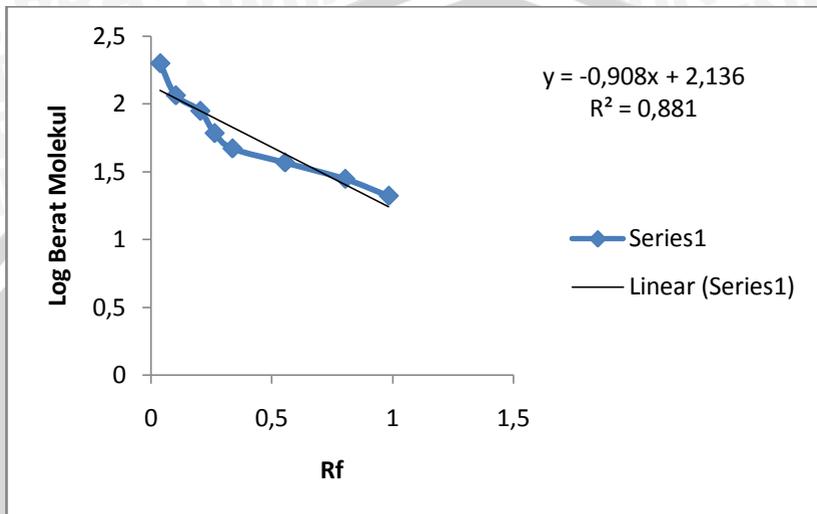
$$BNT2 = 2,060 \times \sqrt{\frac{2(9,615)}{5}}$$

$$BNT2 = 4,039$$

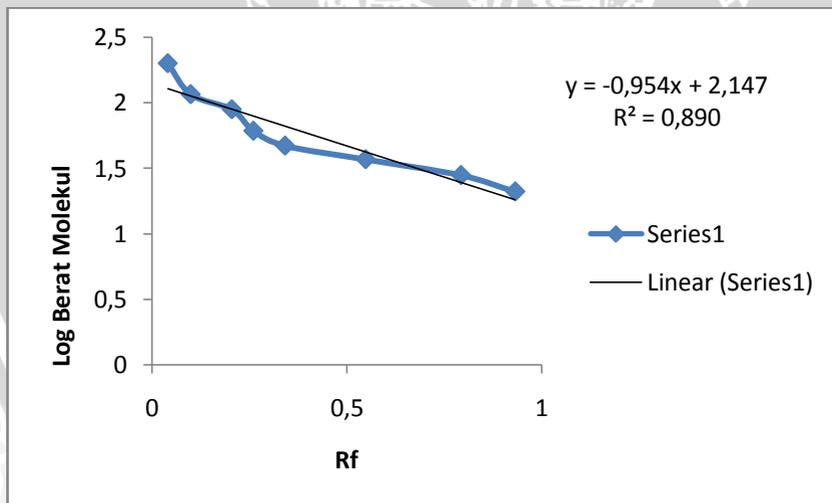
A.Elagat	26.525b (b)	18.36a (a)
<i>Placebo</i>	28.35b (b)	18.1a (a)
5mg/kg	18.372ab (a)	19.478a (a)
10mg/kg	17.858a (a)	21.098a (a)
15mg/kg	26.54b (b)	19.4a (a)
20mg/kg	21.346ab (a)	21.264a (a)

Interaksi	Normal	Obesitas
<i>Non treatment</i>	25.85b (b)	20.14a (a)

Lampiran 4. Kurva standar berat molekul protein



Gambar L 2 Kurva Standar Protein Tikus Normal



Gambar L 3 Kurva Standar Protein Tikus Obesitas

Lampiran 5. Hasil Perhitungan Berat Molekul Protein

Tabel L5. Perhitungan berat molekul Protein tikus normal

	Pita	a	b	Rf	log bm	bm
NT	1	1.26	12.32	0.102273	2.043136	110.44
	2	1.87	12.32	0.151786	1.923205	83.79
	3	2.42	12.32	0.196429	1.872089	74.49
	4	3.21	12.32	0.260552	1.798668	62.90
	5	6.89	12.32	0.559253	1.456655	28.62
M	1	0.47	12.32	0.038149	2.30103	200
	2	1.26	12.32	0.102273	2.064458	116
	3	2.51	12.32	0.203734	1.94939	89
	4	3.24	12.32	0.262987	1.78533	61
	5	4.15	12.32	0.336851	1.672098	47
	6	6.83	12.32	0.554383	1.568202	37
	7	9.9	12.32	0.803571	1.447158	28
	8	12.12	12.32	0.983766	1.322219	21
a.e	1	2.01	12.32	0.163149	1.910194	81.32
	2	2.57	12.32	0.208604	1.858149	72.14
	3	3.24	12.32	0.262987	1.79588	62.50
	4	7.09	12.32	0.575487	1.438067	27.42
P	1	1.23	12.32	0.099838	1.982686	96.09
	2	1.9	12.32	0.154221	1.920417	83.26
	3	2.4	12.32	0.194805	1.873948	74.81
	4	3.3	12.32	0.267857	1.790304	61.70
	5	3.62	12.32	0.293831	1.760563	57.62
	6	4.12	12.32	0.334416	1.714094	51.77
	7	7.04	12.32	0.571429	1.442714	27.71
5	1	1.31	12.32	0.106331	1.975251	94.46
	2	1.9	12.32	0.154221	1.920417	83.26
	3	2.57	12.32	0.208604	1.858149	72.14
	4	3.3	12.32	0.267857	1.790304	61.70

	5	3.77	12.32	0.306006	1.746623	55.80
	6	4.18	12.32	0.339286	1.708518	51.11
	7	7.04	12.32	0.571429	1.442714	27.71
10	1	1.23	12.32	0.099838	1.982686	96.09
	2	1.9	12.32	0.154221	1.920417	83.26
	3	2.57	12.32	0.208604	1.858149	72.14
	4	3.24	12.32	0.262987	1.79588	62.50
	5	7.04	12.32	0.571429	1.442714	27.71
15	1	1.23	12.32	0.099838	1.982686	96.09
	2	1.96	12.32	0.159091	1.914841	82.19
	3	2.54	12.32	0.206169	1.860937	72.60
	4	3.3	12.32	0.267857	1.790304	61.70
	5	3.77	12.32	0.306006	1.746623	55.80
	6	4.23	12.32	0.343344	1.703871	50.57
	7	7.04	12.32	0.571429	1.442714	27.71
20	1	1.31	12.32	0.106331	1.975251	94.46
	2	1.96	12.32	0.159091	1.914841	82.19
	3	2.57	12.32	0.208604	1.858149	72.14
	4	3.3	12.32	0.267857	1.790304	61.70
	5	7.04	12.32	0.571429	1.442714	27.71

Tabel L6. Hasil perhitungan berat molekul protein tikus obesitas

	Pita	a	b	Rf	log bm	bm
NT	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.24
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.80
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.61
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.32
	5	6.45	11.57	0.557476	1.615168	41.23
	6	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54
M	1	0.47	11.57	0.040622	2.30103	200
	2	1.15	11.57	0.099395	2.064458	116
	3	2.37	11.57	0.20484	1.94939	89

	4	3.01	11.57	0.260156	1.78533	61
	5	3.95	11.57	0.3414	1.672098	47
	6	6.34	11.57	0.547969	1.568202	37
	7	9.17	11.57	0.792567	1.447158	28
	8	10.78	11.57	0.93172	1.322219	21
a.e	1	1.17	11.57	0.101124	2.050528	112.3384
	2	1.75	11.57	0.151253	2.002704	100.6247
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3	11.57	0.259291	1.899636	79.3663
	5	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615
	6	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373
P	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.2438
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.79941
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.31849
	5	3.88	11.57	0.33535	1.827076	67.15465
	6	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615
	7	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373
5	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.2438
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.79941
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.31849
	5	3.88	11.57	0.33535	1.827076	67.15465
	6	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615
	7	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373
10	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.2438
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.79941
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.31849
	5	3.88	11.57	0.33535	1.827076	67.15465
	6	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615

	7	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373
15	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.2438
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.79941
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.31849
	5	3.88	11.57	0.33535	1.827076	67.15465
	6	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615
	7	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373
20	1	0.99	11.57	0.085566	2.06537	116.2438
	2	1.9	11.57	0.164218	1.990336	97.79941
	3	2.42	11.57	0.209162	1.94746	88.60532
	4	3.07	11.57	0.265341	1.893864	78.31849
	5	3.88	11.57	0.33535	1.827076	67.15465
	6	6.31	11.57	0.545376	1.626711	42.33615
	7	10.95	11.57	0.946413	1.244122	17.54373



Lampiran 6. Analisis *quantity one* WB Igf-1

Gel name : WB IGF1 tikus normal (Raw 1-D Image)

Index	Name	Type	Volume (INT*r Adj. Vol. (INT* % Adj. Vol.			Concentration	Area (mm2)
1	Non Treatment	Standard	6113.837399	1788.480484	13.50475048	1	50.65203398
2	A. Elagat	Standard	5325.308437	1584.459214	11.96419335	1	43.80716452
3	Placebo	Standard	4681.019543	1535.305424	11.59303489	1	36.83784289
4	5 mg/kg	Standard	6294.4175	2362.274851	17.83745067	1	46.04730362
5	10 mg/kg	Standard	6314.4543	2222.900462	16.78503978	1	47.9140862
6	15 mg/kg	Standard	4705.163265	985.5688663	7.441994326	1	43.55826018
7	20 mg/kg	Standard	7674.218731	2764.354125	20.87353651	1	57.49690344
8	K-	Background	3294.497896	0	N/A	N/A	38.5801733
Mean Value (I Std. Deviation	Min. Value (I	Max. Value (I	Density (INT/n	Mean Background (I	# of pixels	X location (mn	
120.7027027	13.57235837	74	149	969.8722073	85.39354839	407	6.702777803
121.5625	11.44311834	102	147	976.7808637	85.39354839	352	54.68055576
127.0709459	6.590203144	107	143	1021.042413	85.39354839	296	70.55555582
136.6945946	10.70116048	100	154	1098.370502	85.39354839	370	87.841667
131.787013	13.47634147	92	156	1058.937027	85.39354839	385	104.0694448
108.02	9.299287223	88	129	867.9639601	85.39354839	350	121.0027782
133.4718615	16.17284442	88	157	1072.475148	85.39354839	462	136.8777783
85.39354839	5.166888094	73	97	686.1555492	85.39354839	310	24.34166676

Gel name : WB IGF1 tikus obesitas (Raw 1-D Image)

Index	Name	Type	Volume (INT*r	Adj. Vol. (INT* % Adj. Vol.	Concentration	Area (mm2)	
1	Non Treatment	Standard	7601.041496	2027.482325	8.137646705	1 53.51443846	
2	A. Elagat	Standard	7768.180777	2376.086323	9.536828411	1 51.7721079	
3	Placebo	Standard	10950.42308	4417.693263	17.73116667	1 62.72389996	
4	5 mg/kg	Standard	9890.961653	4045.205406	16.23612302	1 56.12793429	
5	10 mg/kg	Standard	11006.30211	4097.681093	16.44674316	1 66.33301325	
6	15 mg/kg	Standard	10041.7977	4312.697341	17.3097476	1 55.00786465	
7	20 mg/kg	Standard	12063.15005	3638.002461	14.60174443	1 80.8939186	
8	K-	Background	4562.541461	0	N/A	N/A 43.80716822	
Mean Value (I	Std. Deviation	Min. Value (I	Max. Value (I	Density (INT/n	Mean Background (I	# of pixels	X location (mn
142.0372093	19.86813533	99	187	1141.299465	104.1505682	430	7.761111796
150.0456731	13.27248928	113	181	1205.649191	104.1505682	416	57.85556066
174.5813492	16.46476907	130	221	1402.798615	104.1505682	504	73.37778425
176.2217295	14.70672856	141	214	1415.979423	104.1505682	451	92.07500812
165.9249531	17.75151597	116	207	1333.242614	104.1505682	533	109.3611208
182.5520362	16.53470936	119	210	1466.844796	104.1505682	442	125.5889
149.1230769	16.10562032	111	184	1198.235933	104.1505682	650	140.0527901
104.1505682	2.902301147	96	113	836.8721715	104.1505682	352	31.39722499

Lampiran 7. Sertifikat Laik Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK "ETHICAL CLEARANCE"

No: 82-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 : CONTROL GEN CASCADE TERHADAP OBESITAS
DENGAN TERAPI HERBAL EKSTRAK KULIT BUAH
RAMBUTAN (*Nephellium lappaceum*): KAJIAN
NUTRIGENOMIK

PENELITI : SRI RAHAYU LESTARI

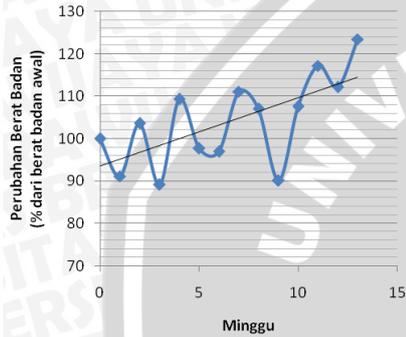
UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : S3/BIOLOGI/F-MIPA/UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

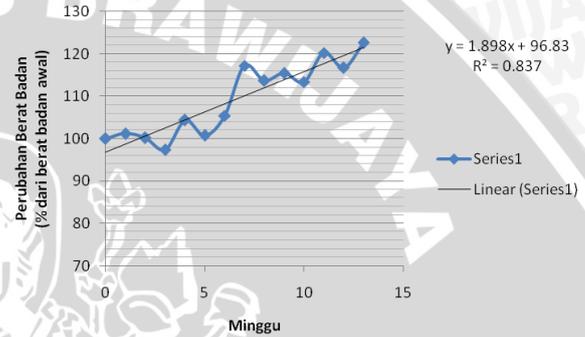
Malang, 1 Juni 2012
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

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

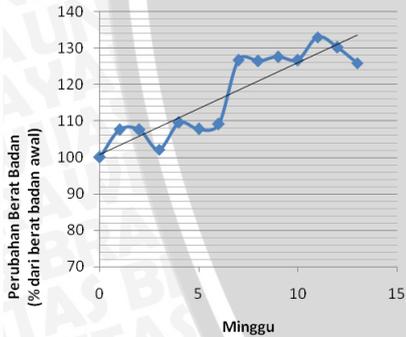
Lampiran 8. Grafik Respon Fisiologis



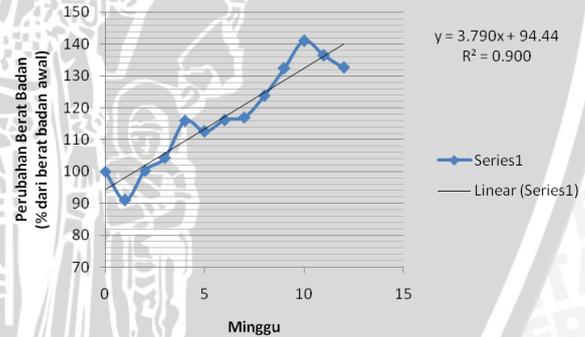
a.



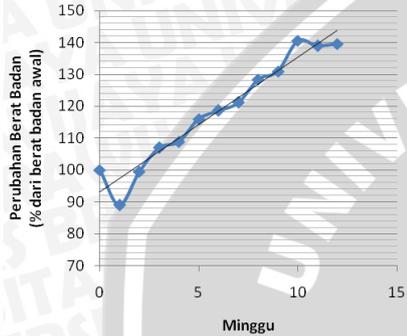
b.



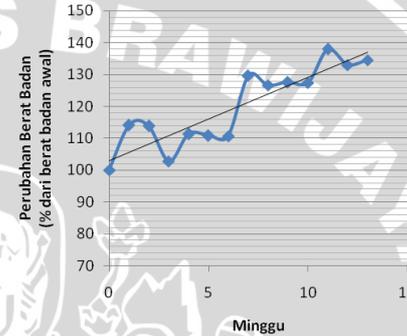
c.



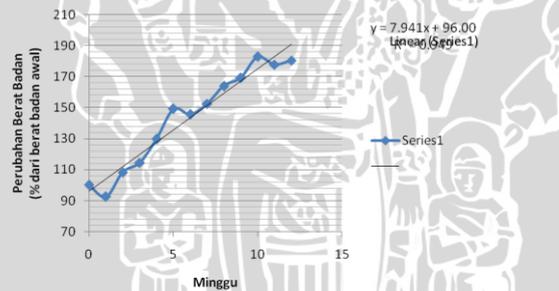
d.



e.

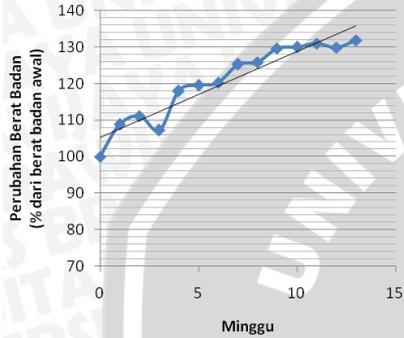


f.

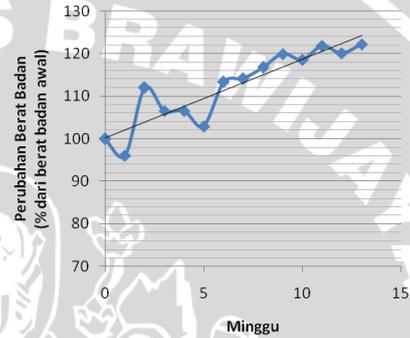


g.

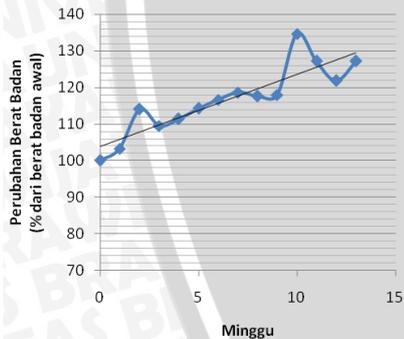
Gambar L 4. Grafik Respon fisiologis; perubahan persentase berat badan untuk tikus normal; a. Non-treatment; b. perlakuan asam elagat; c. *placebo*; d. perlakuan dosis 5 mg/kg berat badan; e. perlakuan dosis 10 mg/kg berat badan; f. perlakuan dosis 15 mg/kg berat badan; g. perlakuan dosis 20 mg/kg berat badan.



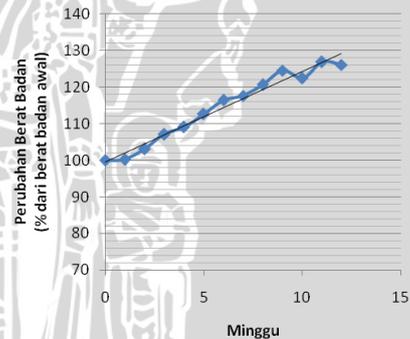
a.



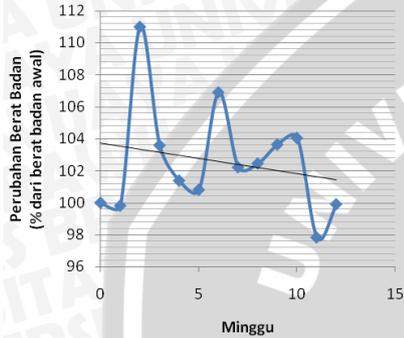
b.



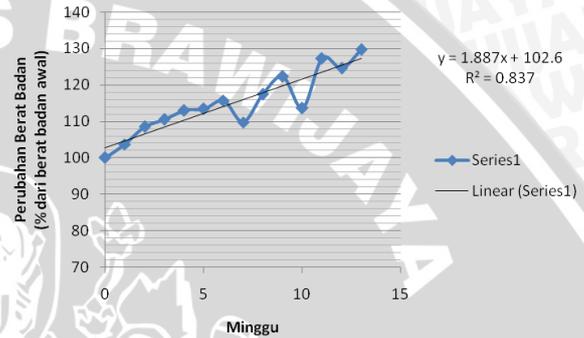
c.



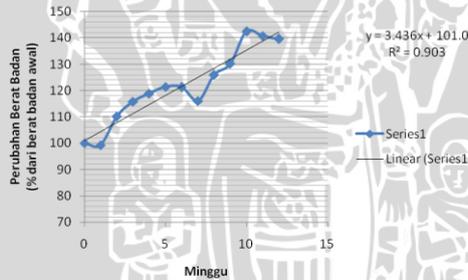
d.



e.

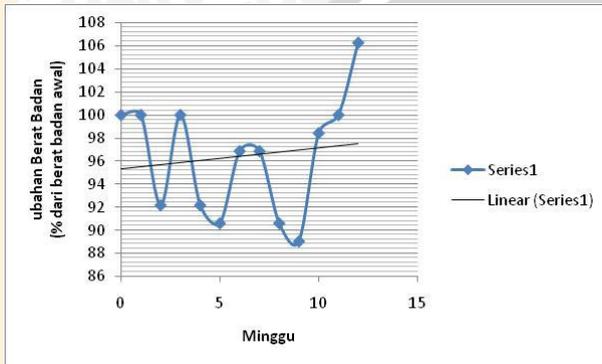


f.

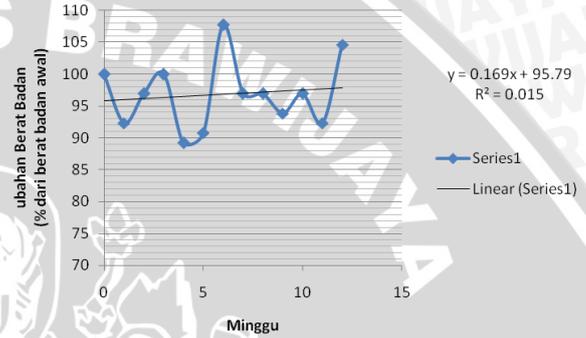


g.

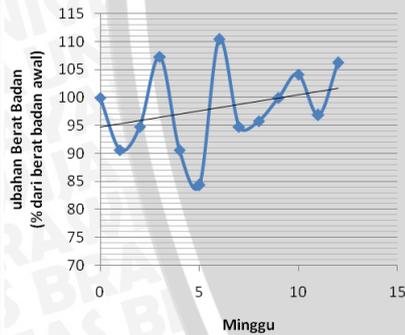
Gambar L 5. Grafik Respon fisiologis; perubahan persentase berat badan untuk tikus obesitas; a. Non-treatment; b. perlakuan asam elagat; c. *placebo*; d. perlakuan dosis 5 mg/kg berat badan; e. perlakuan dosis 10 mg/kg berat badan; f. perlakuan dosis 15 mg/kg berat badan; g. perlakuan dosis 20 mg/kg berat badan.



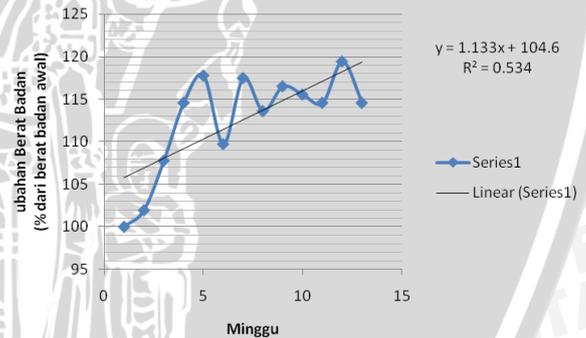
a.



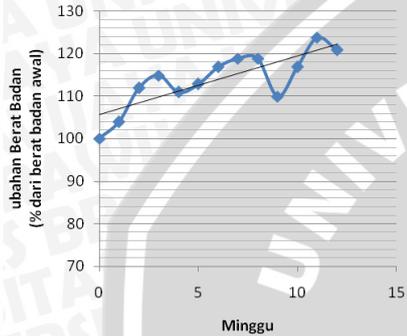
b.



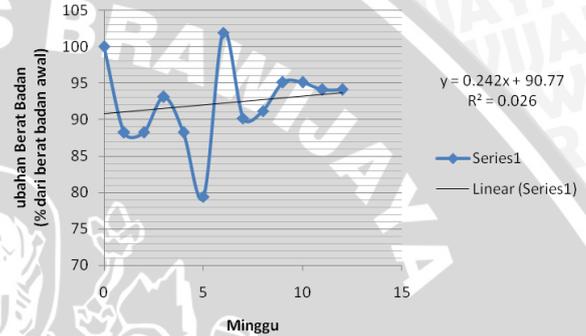
c.



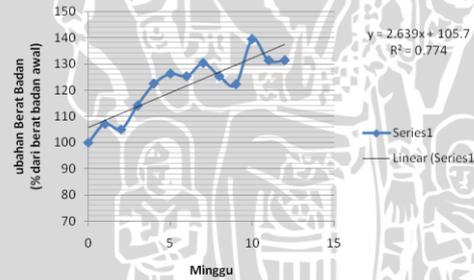
d.



e.

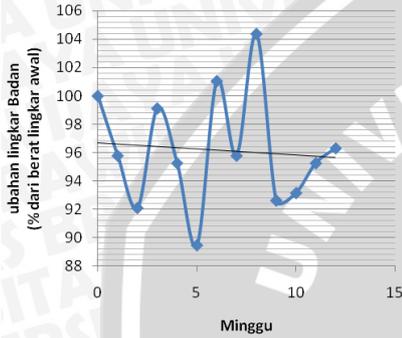


f.

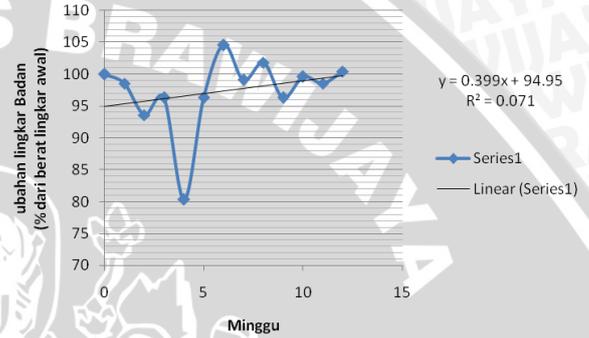


g.

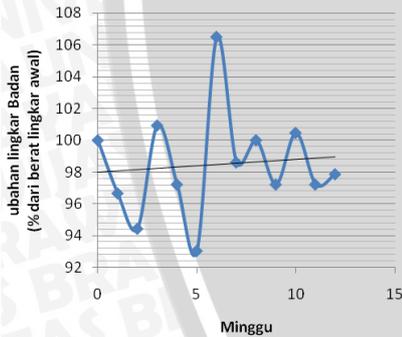
Gambar L 6. Grafik Respon fisiologis; perubahan persentase lingkaran badan untuk tikus normal; a. Non-treatment; b. perlakuan asam elagat; c. placebo; d. perlakuan dosis 5 mg/kg berat badan; e. perlakuan dosis 10 mg/kg berat badan; f. perlakuan dosis 15 mg/kg berat badan; g. perlakuan dosis 20 mg/kg berat badan.



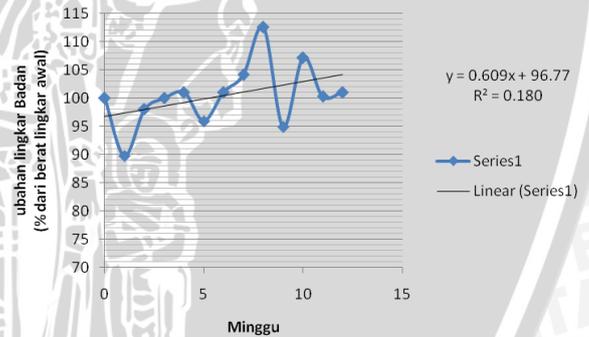
a.



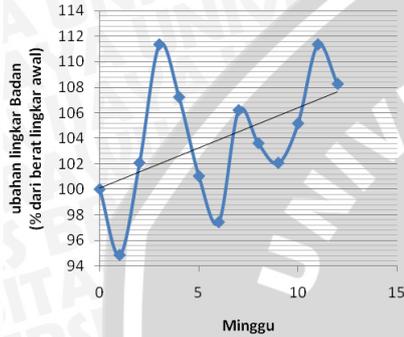
b.



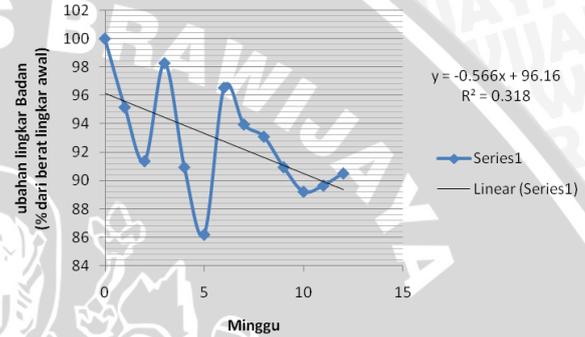
c.



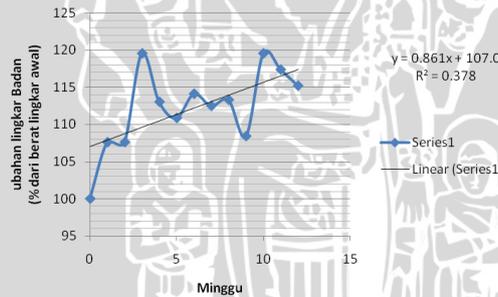
d.



e.



f.



g.

Gambar L 7. Grafik Respon fisiologis; perubahan persentase lingkakr badan untuk tikus normal; a. Non-treatment; b. perlakuan asam elagat; c. *placebo*; d. perlakuan dosis 5 mg/kg berat badan; e. perlakuan dosis 10 mg/kg berat badan; f. perlakuan dosis 15 mg/kg berat badan; g. perlakuan dosis 20 mg/kg berat badan.