



**PENGARUH PAPARAN SUBKRONIS INSEKTISIDA TRANSLUTHRIN
PER INHALASI SEBAGAI ZAT PENGACAU SISTEM ENDOKRIN
(ENDOCRINE DISRUPTOR) TERHADAP KADAR SERUM LEPTIN DAN
ADIPONEKTIN PADA TIKUS *Rattus novvergicus strain Wistar***

KARYA AKHIR

**Diajukan Guna Melengkapi Tugas-Tugas
dan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam**



Oleh :

dr. Nur Rusyda

108070200111005

Pembimbing :

Prof. Dr. Djoko Wahono S, SpPD-KEMD

DR. Dr. Sri Andarini, M Kes

Dr. Rulli Rosandi, SpPD

**LAB/SMF ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
RUMAH SAKIT UMUM DR. SAIFUL ANWAR
MALANG**

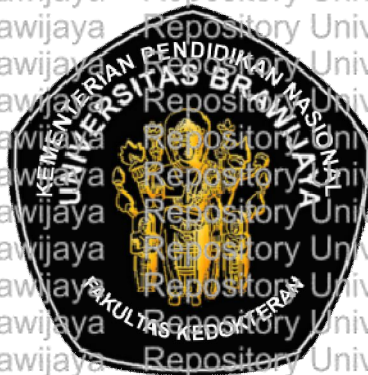
2014



**PENGARUH PAPARAN SUBKRONIS INSEKTISIDA TRANSLUTHRIN
PER INHALASI SEBAGAI ZAT PENGACAU SISTEM ENDOKRIN
(ENDOCRINE DISRUPTOR) TERHADAP KADAR SERUM LEPTIN DAN
ADIPONEKTIN PADA TIKUS *Rattus novvergicus strain Wistar***

KARYA AKHIR

**Diajukan Guna Melengkapi Tugas-Tugas
dan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh
Gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam**



Oleh :

**dr. Nur Rusyda
108070200111005**

Pembimbing :

**Prof. Dr. Djoko Wahono S, SpPD-KEMD
DR. Dr. Sri Andarini, M Kes
Dr. Rulli Rosandi, SpPD**

**LAB/SMP ILMU PENYAKIT DALAM
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA
RUMAH SAKIT UMUM DR. SAIFUL ANWAR
MALANG**

2014



LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR

**PENGARUH PAPARAN SUBKRONIS INSEKTISIDA TRANSLUTHRIN
PER INHALASI SEBAGAI ZAT PENGACAU SISTEM ENDOKRIN
(ENDOCRINE DISRUPTOR) TERHADAP KADAR SERUM LEPTIN DAN
ADIPONEKTIN PADA TIKUS *Rattus novergicus strain Wistar***

Diajukan guna melengkapi tugas dan untuk memenuhi
salah satu syarat memperoleh gelar Dokter Spesialis Penyakit Dalam

Oleh:
dr. Nur Rusyda
NIM. 108070200111005

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. dr. Djoko Wahono S, SpPD-KEMD
NIP. 19440923 197412 1 001

DR. dr. Sri Andarini, M. Kes
NIP. 19580414 198701 2 001

Pembimbing III

dr. Rulli Rosandi, SpPD
NIP. 19770912 200312 1 014

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Penyakit Dalam
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya-RSU dr. Saiful Anwar Malang

dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD
NIP. 1956 0503 1984 031 008



PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA AKHIR

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah karya akhir ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata didalam naskah karya akhir ini dapat dibuktikan terdapat unsur plagiasi, saya bersedia karya akhir ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (dokter spesialis penyakit dalam) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Malang, Agustus 2014

Penulis,

dr. Nur Rusyda

NIM: 108070200111005



KATA PENGANTAR

Assalamualaikum warahmatullahi wabarakatuh,

Puji dan syukur senantiasa penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanallahu

Wata'ala atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat

menyelesaikan Karya Akhir yang berjudul **“Pengaruh Paparan Subkronis**

Insektisida Transflutrin Per Inhalasi Sebagai Zat Pengacau Sistem Endokrin

(Endocrine Disruptor) Terhadap Kadar Serum Leptin Dan Adiponektin Pada

Tikus *Rattus novergicus strain wistar*” di bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang tepat pada

waktunya.

Karya akhir ini disusun sebagai satu syarat dalam menyelesaikan Program

Pendidikan Dokter Spesialis I (PPDS-I) Ilmu Penyakit Dalam di Fakultas

Kedokteran Universitas Brawijaya/RSUD Dr. Saiful Anwar Malang. Penulis

menyadari bahwa penelitian ini jauh dari kesempurnaan, untuk itu penulis terbuka

untuk kritik atau saran demi bekal penulis ke jenjang selanjutnya.

Ucapan terima kasih & penghargaan yang sedalamnya penulis sampaikan

kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan proses penulisan karya

akhir ini, terutama kepada.

1. Rektor Universitas Brawijaya Malang.

2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

3. Direktur RSUD dr. Saiful Anwar Malang.



4. Kepala Laboratorium/SMF Ilmu Penyakit Dalam RSUD Dr. Saiful Anwar

Malang, dr. Budi Darmawan Machsoos, SpPD-KHOM, FINASIM.

5. Ketua Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit

Dalam FKUB-RSSA, dr. Putu Moda Arsana, SpPD-KEMD.

6. Sekretaris Program Studi Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu

Penyakit Dalam FKUB-RSSA, dr. Djoko Heri Hermanto, SpPD-KHOM,

FINASIM.

7. Para dosen pembimbing penelitian Prof. Dr. Djoko Wahono Soeatmadji,

SpPD-KEMD, DR. Dr. Sri Andarini, M Kes dan dr. Rulli Rosandi, SpPD

yang selalu memberikan arahan dan motivasi demi terselesaikannya karya

akhir ini.

8. Prof. Dr. dr. Harijono Achmad, SpPD-KGEH, Prof. DR. Dr. Handono

Kalim, SpPD-KR, Prof. Dr. dr. Djanggan Sargowo, SpPD, SpJP(K),

Prof. DR. Dr. Achmad Rudijanto, SpPD-KEMD, dr. Gatoet Ismanoe, SpPD-

KPTI, dr. Atma Gunawan, SpPD-KGH, dr. BP. Putra Suryana, SpPD-KR, dr.

Nur Samsu, SpPD-KGH, dr. Niniiek Budiarti, SpPD-KPTI, dr. Bogi Pratomo,

SpPD-KGEH, dr. Supriono, SpPD-KGEH, dr. C. Singgih Wahono, SpPD-KR,

dr. Didi Chandradikusuma, SpPD, dr. Sinta Oktya Wardhani, SpPD, dr. Sri

Sunarti, SpPD, dr. Laksmi Sasiarini, SpPD, dr. Gadis Nurlaila, SpPD, dr. Syifa

Mustika, SpPD atas segala masukan dukungan dan saran dalam

menyelesaikan karya akhir ini, serta bimbingan selama masa pendidikan.



9. Segenap pegawai di lingkungan Laboratorium/SMF Ilmu Penyakit Dalam FKUB-RSSA yang telah membantu proses perizinan dan pelaporan karya akhir ini.

10. Keluarga tercinta khususnya Abi Achmad Salim Kuddah dan Mama Sundus serta saudara-saudara penulis Fathiyah, Bar'ah, Athiyah, Faris Achmad Kuddah, Sutanto Setyaji dan keponakan Ayman Rasyid yang selalu ada memberikan do'a, dukungan secara lahir dan batin serta semangat.

11. Teman-teman seperjuangan dr. Angela Merici, dr. Achmad Rifai, dr. Dyah Mayasari, dr. Marthin H, dr. Nicholas S, dan seluruh rekan-rekan PPDS IPD serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu yang senantiasa mendukung dan bekerjasama selama masa pendidikan.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat memberikan manfaat dan sumbangsih bagi kemajuan ilmu kedokteran di masa yang akan datang. Semoga

Allah Subhanalahu Wata'ala menganugerahkan segala rahmat dan kasih sayangNya kepada kita semua. Aamin.

Akhirul kalam, wassalamu alaikum warahmatullahi wabarakatuh.

Malang, Agustus 2014

Penulis



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Sistem Endokrin yang Menjadi Target EDC 9

Gambar 2.2 Rumus Struktur Transflutrin 15

Gambar 2.3 Ilustrasi Integrasi Antara Axis HPG Hewan Mamalia Dengan
Axis Endokrin 19

Gambar 2.4 Efek EDC Terhadap Sistem Metabolisme Lemak 21

Gambar 2.5 Grafik Perkembangan Berat Badan Berlebih, Obesitas dan
Obesitas Berat Selama 50 Tahun Terakhir di Amerika Serikat
Berdasarkan Data CDC 25

Gambar 2.6 Faktor-Faktor yang Meregulasi Nafsu Makan 27

Gambar 2.7 Peran Sistem Saraf Pusa Dalam Regulasi Rasa Lapar dan
Siklus Makan 29

Gambar 2.8 Faktor yang Dikeluarkan Adiposit dan Mempengaruhi
Jaringan Perifer 31

Gambar 2.9 Sistem Fisiologis yang Diregulasi Oleh Hormon Leptin 33

Gambar 2.10 Struktur Genomik Gen LepR 34

Gambar 2.11 Ilustrasi Peredaran Leptin Dalam Darah yang Mampu
Menembus Sawar Otak dan Memiliki Korelasi Dengan
Derajat Adipositi 36

Gambar 2.12 Peran Leptin, IL-6 dan Adiponektin Dalam Metabolisme
Lemak 39



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1. Hasil Pengolahan Statistik.....	74
Lampiran 2. Prosedur Tetap Pembedahan Hewan Coba.....	81
Lampiran 3. Surat Keterangan Kelainan Etik.....	84



DAFTAR SINGKATAN

AgRP	: <i>Agouti-Related Protein</i>
CART	: <i>Cocaine Associated Receptor Transcript</i>
CDC	: <i>Centre for Disease Control and prevention</i>
DDT	: <i>Dichloro Diphenyl Trichloroethane</i>
DES	: <i>Diethylstilbestrol</i>
EDC	: <i>Endocrine Disrupting Chemical</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPA	: <i>Environmental Protection Agency</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HPA	: <i>Hypothalamic Pituitary Adrenal</i>
HPG	: <i>Hypothalamic Pituitary Gonadal</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
IPCS	: <i>International Programme on Chemical Safety</i>
LD	: <i>Lethal Dose</i>
MC4R	: <i>Melanocortin 4 Receptor</i>
MSH	: <i>Melanocyte-Stimulating Hormone</i>
NFκB	: <i>Nuclear Factor κB</i>
NPY	: <i>Neuropeptide Y</i>
NR	: <i>Nuclear Receptor</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen Activator Inhibitor-1</i>



ABSTRAK

**Pengaruh Paparan Subkronis Insektisida Transflutrin Per Inhalasi Sebagai
Zat Pengacau Sistem Endokrin (*Endocrine Disruptor*) Terhadap Kadar
Serum Leptin Dan Adiponektin Pada Tikus *Rattus novvergicus strain wistar***

Nur Rusyda¹, Rulli Rosandi², Sri Andarini³, Djoko Wahono S²

¹Program Pendidikan Dokter Spesialis I, Departemen Ilmu Penyakit Dalam,
FK Universitas Brawijaya – RS Saiful Anwar, Malang ²Divisi Endokrin-
Metabolik-Diabetes, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, FK Universitas
Brawijaya – RS Saiful Anwar, Malang ³Departemen Ilmu Kesehatan
Masyarakat, FK Universitas Brawijaya, Malang

Latar Belakang. Transflutrin merupakan insektisida golongan *pyrethroid* yang bersifat lipofilik dan selama ini dianggap aman. Transflutrin dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen. Sejumlah EDC (*endocrine disrupting chemicals*) dapat mengakibatkan obesitas dengan membuat kekacauan target sensor metabolik, di antaranya melalui reseptor estrogen. Kondisi obesitas menyebabkan meningkatnya kadar serum leptin dan menurunnya kadar serum adiponektin.

Tujuan. Mengetahui pengaruh paparan sub-kronis senyawa insektisida transflutrin perinhalasi terhadap terjadinya obesitas pada tikus *Rattus novvergicus* melalui peningkatan kadar leptin dan penurunan kadar adiponektin.

Metode. Penelitian eksperimental *in vivo* pada 35 tikus jantan, terbagi dalam 5 kelompok. Kelompok I sebagai kontrol negatif, tanpa perlakuan. Kelompok II sebagai kontrol positif, mendapat paparan n-hexana sebagai pelarut. Kelompok III, IV, dan V secara berturut-turut mendapat paparan n-hexana plus transflutrin 0,5 mg, 1 mg dan 2 mg. Kadar serum leptin dan adiponektin dinilai menggunakan metode quantikine immunoassay ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) kit dengan nomer katalog E0561Ra dan E0758Ra.

Hasil. Kadar serum leptin meningkat pada kelompok yang mendapat paparan n-hexana dan paparan n-hexana plus transflutrin, namun kenaikan tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol positif. Di antara kelompok yang mendapat paparan transflutrin, kenaikan kadar leptin sebanding dengan bertambahnya dosis transflutrin. Kadar serum adiponektin menurun pada kelompok yang mendapat paparan n-hexana plus transflutrin, yang berbanding terbalik dengan bertambahnya dosis transflutrin. Tidak didapatkan perbedaan pertambahan berat badan antar kelompok. Terdapat korelasi negatif yang signifikan antara kadar serum leptin dengan adiponektin ($p=0,01$).

Kesimpulan. Pemberian paparan subkronis senyawa transflutrin per inhalasi meningkatkan kadar serum leptin dan menurunkan kadar serum adiponektin. Kadar serum leptin berhubungan terbalik dengan kadar adiponektin. Tidak didapatkan perbedaan pertambahan berat badan.

Kata kunci. Transflutrin, *Endocrine disruptor*, Obesitas, Leptin, Adiponektin.

**ABSTRACT****Subchronic Inhalation Exposure Effect of Insecticide Transflutrin As Endocrine Disruptor To Serum Leptin and Adiponectin Level In *Rattus novergicus* strain Wistar****Nur Rusyda¹, Rulli Rosandi², Sri Andarini³, Djoko Wahono S²****¹Resident, Department of Internal Medicine, Medical Faculty of Brawijaya University - Saiful Anwar General Hospital, Malang ²Endocrine-Metabolic-Diabetes Division, Department of Internal Medicine, Medical Faculty of Brawijaya University - Saiful Anwar General Hospital, Malang ³Public Health Departemen, Medical Faculty of Brawijaya University, Malang**

Background. Transflutrin, a lipophilic pyrethroid class of insecticides, is considered as a safe substance. Transflutrin can interact with estrogen receptor. Some endocrine disrupting chemicals (EDCs) can caused obesity by disrupt the target metabolic sensors, including through interaction with estrogen receptor. Obesity causes increased levels of leptin and decreased levels of adiponectin.

Objective. To determine sub-chronic obesogenic effect of transflutrin exposure in *Rattus novergicus* through inhalation by increased levels of leptin and decreased levels of adiponectin.

Methods. In vivo experimental study on 35 male rats, divided into 5 groups. Group I as negative control (no treatment). Group II as positive control exposed to n-Hexana as solvent. Group III, IV and V exposed to n-Hexana plus transflutrin 0.5 mg, 1 mg and 2 mg consecutively. Serum leptin and adiponectin was examined using quantikine immunoassay method ELISA kit (catalog no. E0561Ra and E0758Ra).

Results. Leptin serum level increased in both solvent and solvent plus transflutrin group. However the highest increased was detected in rat exposed to solvent. Among the trasflutrin exposed rat, the increased of leptin level were dose dependent. Serum adiponectin levels showed a downward trend which is inversely proportional with increase transflutrin doses. There is no weight gain difference among groups. There was negative correlation between serum leptin and adiponectin levels ($p = 0.01$).

Conclusion. Administration of subchronic inhalation exposure of transflutrin cause an increase in serum leptin levels and decrease serum levels of adiponectin. There was a significant inverse relationship between serum levels of leptin and adiponectin. There is no increase of body weight among groups.

Keywords. Transflutrin, Endocrine disruptor, Obesity, Leptin, Adiponectin.



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perdebatan dan kontroversi tentang EDC dimulai sejak diterbitkannya artikel berjudul *Our Stolen Future* oleh Colborn dkk pada tahun 1996. EDC merupakan bahan/substansi eksogen yang dapat mengganggu fungsi sistem endokrin dan pada akhirnya berdampak buruk pada kesehatan organisme secara keseluruhan progeni, atau subpopulasinya. Beberapa EDC bertindak sebagai anti-estrogen dan anti-androgen dan mempengaruhi fungsi reproduksi dan perkembangan seksual, dan berkembangnya beberapa penyakit kanker yang terkait hormon, gangguan metabolik seperti obesitas dan diabetes tipe 2 pada manusia maupun binatang.²

Terdapat sebanyak 926 pestisida yang terbukti memiliki efek *endocrine disruptor*, salah satunya adalah transflutrin.³ Transflutrin termasuk golongan piretroid dan bersifat lipofilik.⁴ Pada umumnya zat ini digunakan untuk membasmi nyamuk, lalat, maupun serangga lain seperti ngengat.⁵ Toksisitas piretroid pada manusia dianggap terbatas karena degradasi komponennya yang dimetabolisme cepat dan diekskresi lewat empedu dan urin. Transflutrin dapat mengakibatkan efek neurotoksik, di samping potensi gangguan pada perkembangan sistem saraf, reproduksi, dan sistem imun.⁶ Sebagai senyawa



sintetik dari *pyrethrin* alami, transflutrin dapat berinteraksi dengan reseptor estrogen.^{7,8}

Sejumlah EDC dapat mempengaruhi adipogenesis dan obesitas. Mereka bekerja dengan berbagai cara di antaranya membuat kekacauan pada target sensor metabolik melalui RXR-PPAR α dan RXR-PPAR γ ; pada disregulasi seks steroid melalui estrogen reseptor dan androgen reseptor; pada pusat integrasi keseimbangan energi atau HPA aksis melalui efek neuroendokrin, blokade orexogenic atau stimulasi endocannabinoid receptor; dan pengaturan *metabolic set point*. *Hyperphagia* yang dihasilkan dari kekacauan pusat pengaturan rasa lapar di hipotalamus merupakan salah satu cara obesogen untuk menyebabkan

ketidakseimbangan kontrol energi. Obesogen dapat diartikan sebagai zat kimia yang meregulasi dan merangsang penumpukan lemak dan adipogenesis.

Obesogen merupakan subklas dari EDC yang mengusik sinyal metabolik.⁸ Adipogenesis merupakan proses diferensiasi pre-adiposit menjadi sel adiposit dewasa.⁹

Jaringan adiposa sebagai organ endokrin yang memiliki aktifitas metabolik tinggi, di antaranya mempengaruhi intake makanan, pemakaian energi, dan metabolisme karbohidrat dan lemak.¹⁰ Jaringan adiposa juga mensekresi berbagai faktor pro dan anti inflamasi seperti leptin, adiponektin, TNF- α , IL-6 dan resistin.¹¹ Sejumlah faktor yang disekresikan oleh jaringan adiposa, utamanya pada konteks obesitas, merupakan sitokin pro inflamasi. Sehingga saat ini dapat dipahami secara umum bahwa obesitas merupakan suatu kondisi inflamasi kronis tingkat rendah.¹²



Leptin merupakan peptida utama yang berefek anorexogenic.¹³ Leptin bekerja sebagai pengatur berat badan dengan mengeluarkan sinyal rasa kenyang ke hipotalamus.¹⁴ Kondisi resistensi leptin dapat ditimbulkan oleh berat badan berlebih, yang menimbulkan peningkatan kadar leptin plasma.¹⁵ Adiponektin sendiri merupakan plasma protein yang paling banyak dihasilkan oleh sel adiposit, dimana kadar plasmanya yang rendah dikaitkan dengan obesitas dan resistensi insulin.¹⁰

Prevalensi obesitas semakin meningkat selama separuh abad ini, baik pada orang dewasa maupun anak-anak. Obesitas dipercaya memberikan kontribusi dalam munculnya penyakit kardiovaskuler, diabetes tipe 2, kanker payudara, kanker kolon dan kanker ginjal. Obesitas juga diketahui dapat menurunkan kualitas dan kuantitas hidup manusia.¹⁶

Berdasarkan klasifikasi resiko bahaya WHO-IRCS mengenai ketentuan toksisitas akut, transfluthrin dikategorikan insektisida yang tidak berbahaya pada pemakaian normal.⁴ Pernyataan ini kontradiktif dengan hasil penelitian eksperimental pendahuluan kami sebelumnya, dimana transfluthrin dapat mempengaruhi proses spermatogenesis yang dibuktikan dengan ekspresi estrogen reseptor- α yang meningkat dengan paparan transfluthrin pada hewan coba tikus.¹⁷

Para ahli belum sependapat tentang kadar paparan transfluthrin yang dapat menimbulkan dampak kecacauan sistem endokrin yang dapat diamati pada hewan coba. Berdasarkan uraian di atas, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh paparan sub-kronik senyawa insektisida transfluthrin terhadap terjadinya obesitas pada tikus putih *Rattus norvegicus strain Wistar*.



1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian paparan sub-kronis senyawa transflutrin perinhalasi dapat meningkatkan kadar serum leptin?
2. Apakah pemberian paparan sub-kronis senyawa transflutrin perinhalasi dapat menurunkan kadar serum adiponektin?

1.3 Hipotesis

1. Pemberian paparan sub-kronis senyawa transflutrin perinhalasi dapat meningkatkan kadar serum leptin.
2. Pemberian paparan sub-kronis senyawa transflutrin perinhalasi dapat menurunkan kadar serum adiponektin.

1.4 Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum:

Mengetahui pengaruh paparan sub-kronis senyawa insektisida transflutrin perinhalasi terhadap terjadinya obesitas pada tikus putih sebagai penghambat anorexogenic dan stimulasi obesogen.

1.4.2 Tujuan Khusus

Mengetahui efek paparan sub-kronis senyawa insektisida transflutrin terhadap:

1. Peningkatan kadar serum leptin sebagai efek inhibisi anorexogen.
2. Penurunan kadar serum adiponektin sebagai efek stimulasi obesogen.



1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Klinis

Mengetahui kelainan yang terjadi terkait paparan sub-kronis transflutrin perinhalasi serta meneliti lebih lanjut peran transflutrin sebagai inhibitor anorexogen dan stimulasi obesogen.

1.5.2 Manfaat Akademis

Memberi masukan informasi dan dasar penelitian selanjutnya terkait dengan endokrinologi lingkungan terutama mengenai pengaruh lingkungan terhadap obesitas pada manusia. Sehingga diperlukan penelitian guna mengetahui dampak yang ditimbulkan dan cara pencegahan yang dapat dilakukan.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Zat Pengacau Sistem Endokrin (*Endocrine Disruptor*)

Penelitian ilmiah semakin banyak yang menyoroti hubungan erat antara manusia dan lingkungannya. Kualitas udara, air dan tanah memiliki dampak langsung pada rantai makanan dan terhadap manusia yang terletak di piramida teratas. Selama beberapa tahun ini, EDC telah menjadi sumber kekhawatiran.

Studi ilmiah yang dilakukan di Kanada dan beberapa negara lain telah menunjukkan bahwa zat tersebut dapat bekerja pada sistem endokrin invertebrata tertentu, ikan dan hewan yang lebih tinggi pada umumnya. EDC dapat mempengaruhi sistem reproduksi, pertumbuhan dan perkembangan pada beberapa spesies. Oleh karena itu para ilmuwan khawatir dengan peranan zat ini pada kemunculan atau peningkatan gangguan sistem hormonal pada manusia, khususnya meningkatnya insiden kanker, infertilitas dan malformasi organ reproduksi yang tidak dapat dijelaskan dan tercatat di beberapa negara.¹⁸

Perhatian dunia terhadap bahayanya zat kimia baru disadari pada tahun 1962 melalui Rachel Carson dalam bukunya *silent spring* yang mengingatkan akan bahayanya penggunaan pestisida, terutama zat kimia seperti DDT yang bersifat bioakumulatif yaitu menumpuk dalam tubuh makhluk hidup secara terus menerus dan tidak dapat dikeluarkan dari tubuh.¹⁹



Menurut U.S. EPA, *endocrine disruptor* didefinisikan sebagai “An *exogenous agent that interferes with synthesis, secretion, transport, metabolism, binding action, or elimination of natural blood borne hormones that are present in the body and are responsible for homeostasis, reproduction, and developmental process*” atau dalam arti lain suatu agen eksogen yang mengganggu sintesa, sekresi, transport, metabolisme, aksi ikatan maupun eliminasi dari hormon natural dalam darah yang beredar dalam tubuh dan bertanggung jawab terhadap proses homeostasis, reproduksi dan proses perkembangan.²⁰

Grup molekul yang telah teridentifikasi sebagai EDC sangat heterogen dan termasuk di antaranya bahan kimia sintetis yang digunakan sebagai pelarut industri/pelumas dan produk sampingannya seperti PCB, PBB, dioxin, plastik bisphenol A, *plasticizer* phthalate; pestisida seperti methoxychlor, klorpirifos, DDT, fungisida vinclozolin, dan DES. Bahan kimia natural yang ditemukan dalam makanan manusia dan hewan, misalnya *phytoestrogen* termasuk genistein dan coumestrol, juga dapat bertindak sebagai *endocrine disruptor*. Bahkan logam berat dan metaloid dapat memiliki aktivitas estrogenik, menunjukkan bahwa senyawa ini merupakan salah satu EDC sama halnya dengan racun-racun pada umumnya.²⁰

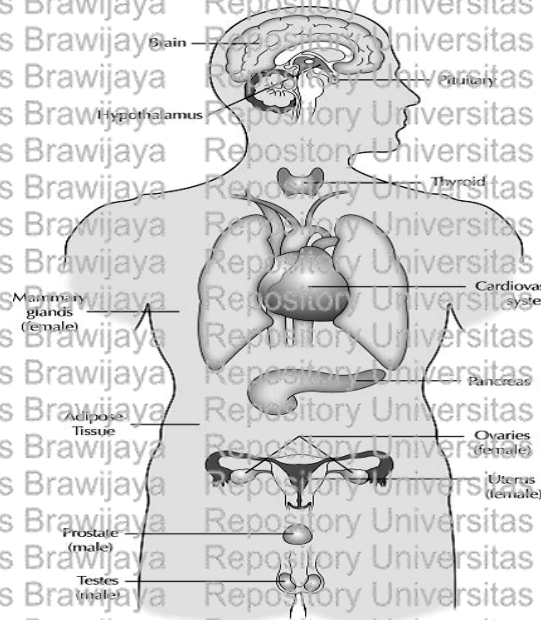
Yang menjadi tantangan dalam hal EDC adalah zat ini sangat beragam dan mungkin tidak muncul dalam kesamaan struktural seperti senyawa yang biasanya memiliki massa molekul kecil, yaitu 1000 Dalton. Dengan demikian sulit untuk memprediksi apakah senyawa ini mungkin atau tidak mungkin dapat menyebabkan tindakan yang mengganggu sistem endokrin.²⁰



2.1.1 Cara Kerja *Endocrine Disruptors*

Sistem hormon endokrin memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan perkembangan seksual. Sistem ini terdiri beberapa kelenjar endokrin, termasuk testis, ovarium, tiroid, pankreas, adrenal, paratiroid dan pituitari yang mengatur kelenjar endokrin satu dengan lainnya. Kelenjar ini mensekresi hormon yang menjadi *chemical messenger* dan dikeluarkan langsung menuju ke dalam aliran darah, dimana mereka beredar menuju dan menstimulasi organ atau reseptor lainnya. Kelenjar pankreas, tiroid, paratiroid dan pituitari mensekresi hormon protein, sedangkan kelenjar adrenal dan gonad mensekresi hormon steroid. Hormon sangat penting untuk morfologi, metabolisme, sirkulasi darah dan sistem saraf, yang dengan sendirinya mempengaruhi sekresi hormon, hingga membantu mempertahankan keseimbangan fisiologi suatu individu.¹⁸

Gambar di bawah menjelaskan bahwa seluruh sistem hormon sensitif dan rentan terhadap ancaman EDC, mulai dari sistem neuroendokrin otak dan hipotalamus, pituitari, tiroid, sistem kardiovaskuler, kelenjar payudara, jaringan adiposa, pankreas, ovarium dan uterus pada wanita atau testis dan prostat pada pria.²⁰



Gambar 2.1. Sistem Endokrin yang menjadi target EDC²⁰⁾

Jika sekresi hormon ini terganggu, maka akan muncul ketidakseimbangan fisiologi yang mengarah pada obesitas, diabetes dan dekalsifikasi tulang. Zat artifisial maupun alami dapat menyebabkan ketidakseimbangan ini sebagai *endocrine disruptors*. Mereka dikelompokkan menjadi 3 kategori, yaitu:

- Menyerupai hormon. Zat ini dianggap oleh tubuh sebagai hormon asli karena mereka menimbulkan reaksi kimia yang sama seperti hormon alami.
- Menghambat reseptor hormon. Zat ini memblok reseptor sel, mencegah hormon yang secara alami mempengaruhi sel-sel dengan cara yang semestinya.
- Mencetus hormon. Zat ini mengeluarkan reaksi yang tidak biasanya atau abnormal di dalam sel.



Sebagai contoh, jika kita mengamati perkembangan seorang anak dari fase embrionik hingga kelahiran, proses keseluruhan ini diatur oleh *chemical messenger* khusus yang terprogram untuk dirilis pada satu titik dan diambil pada titik lainnya dalam konsentrasi tepat dan waktu khusus. Jika suatu zat kimia mengganggu *messenger* ini, akan timbul kerusakan yang bersifat *irreversible* pada tahap tertentu. Efek ini termasuk perubahan perkembangan dan fungsi sistem reproduksi, yang pada waktunya menghasilkan abnormalitas, termasuk deformitas.¹⁸

Pemahaman mengenai bagaimana mekanisme EDC mengerahkan efeknya mulai banyak dikenali. EDC awalnya dianggap bekerja terutama melalui reseptor nuclear hormone, termasuk di antaranya reseptor estrogen, reseptor androgen, reseptor progesteron, reseptor tiroid, dan reseptor retinoid. Saat ini, penelitian ilmiah dasar menunjukkan bahwa mekanisme tersebut menjadi jauh lebih luas daripada yang telah dikenali. EDC dapat bertindak melalui reseptor *nuclear hormone*; reseptor *non-nuclear steroid hormone* misalnya membran ER; reseptor non steroid neurotransmitter seperti reseptor serotonin, reseptor dopamin, reseptor norepinefrin; reseptor orphan misalnya aryl hydrocarbon receptor, jalur enzimatis yang terlibat dalam biosintesis dan/atau metabolisme steroid, dan berbagai mekanisme lain yang konvergen pada sistem endokrin dan reproduksi.²⁰

Sejumlah nuclear hormone receptor, khususnya PPAR α , δ , dan γ memegang peran kunci dalam proses mengendalikan *lipid flux*, diferensiasi dan proliferasi adiposit. NR bekerja sebagai sensor metabolik pada berbagai hormon lipofilik, asam lemak dietary, dan berbagai metabolitnya. Aktivasi RXR-PPAR α



heterodimer dapat menstimulasi β -oksidasi asam lemak. Sebaliknya, aktivasi RXR-PPAR γ menyokong diferensiasi progenitor preadiposit dan adiposit pada jaringan adiposa dan mengatur biosintesis dan penyimpanan lipid. Aiel yang meningkatkan aktivitas PPAR γ , seperti Pro 115Gln, berhubungan dengan obesitas dan resistansi insulin.²¹

NR untuk hormon sex steroid juga mempengaruhi perkembangan jaringan adiposa dengan cara membantu mengintegrasikan fungsi metabolik antar organ-organ besar dengan aktivitas metabolik intensif seperti organ reproduksi. Bersama dengan hormon peptida seperti GH, hormon seks steroid memobilisasi penyimpanan lipid dan membantu menghindari aksi insulin dan kortisol yang dapat meningkatkan akumulasi lipid pada orang dewasa. Pada jalur ini, mereka bekerja sebagai antiobesogenik.²¹

Efek EDC ini tidak terbatas pada hormon seks pria maupun wanita saja. Mereka juga mempengaruhi kelenjar endokrin lainnya yang berperan dalam pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi.¹⁸

2.1.2 Pengaruh *Endocrine Disruptors*

Karena hormon memegang peranan penting dalam membentuk pertumbuhan yang normal, maka gangguan terhadap sistem hormon oleh *endocrine disruptor* dapat menyebabkan kerusakan yang permanen/ menetap.

Jumlah yang sangat kecil dari *endocrine disruptor*, dapat menyebabkan perubahan permanen yang sangat besar. Beberapa ada yang bersifat bioakumulatif, yaitu menumpuk dalam tubuh spesies tanpa bisa dikeluarkan.¹⁹



Pengaruh gangguan sistem hormon tidak kasat mata dan baru terlihat dalam jangka waktu yang lama, di antaranya:

1. Perubahan tingkah laku sebagai akibat perubahan respon neurologis dan kecerdasan.
2. Saluran reproduksi yang abnormal, pergerakan dan jumlah sperma yang menurun.
3. Keseimbangan sistem hormonal yang kacau.
4. Menurunkan fungsi imunitas.
5. Tumor dalam jaringan reproduksi.

Pengaruh *endocrine disruptor* pada tingkat embrio dapat menyebabkan perubahan yang permanen dan tidak kasat mata. *Endocrine disruptor* tidak mempengaruhi sang ibu, tetapi akan terlihat efeknya oleh keturunannya setelah masa pubertas, sebagai contoh:¹⁹

- DES, suatu estrogen sintetis yang digunakan sebagai obat pencegah gugur kandungan ternyata dapat meningkatkan kemungkinan terjangkitnya kanker vaginal, perubahan bentuk rahim, kehamilan abnormal dan masalah sistem kekebalan pada keturunannya, sedang sang ibu sama sekali tidak terkena pengaruh dari DES tersebut.
- Dioksin yang diberikan pada hewan coba tikus hamil, ternyata menghasilkan keturunan dengan gangguan sistem reproduksi, seperti alat reproduksi yang lebih kecil, jumlah sperma yang berkurang dan tingkah laku yang lebih feminim.



- PCB dapat menurunkan jumlah progesteron, suatu hormon penjaga kehamilan, dengan cara mempercepat pengrusakan hormon progesteron di nati, yang mengakibatkan mudah terjadi keguguran.

- Menurunnya gerakan dan jumlah sperma sebagai akibat PCB dengan meningkatkan jumlah estrogen atau anti-androgen pada pertumbuhan calon bayi/janin atau bayi baru lahir.

Banyak penelitian yang menunjukkan pengaruh buruk dari *endocrine disruptor* dalam kehidupan marga satwa, misalnya:¹⁹

- Matinya sejumlah besar anjing laut di laut Utara tahun 1989, anjing laut di laut Baltik tahun 1992, lumba-lumba di sepanjang pesisir barat Amerika

Serikat tahun 1989, lumba-lumba bergaris di laut Mediterania tahun 1994;

- menunjukkan adanya pengaruh zat kimia sintetis dan logam berat yang menurunkan kekebalan tubuh hewan dan meningkatkan kemungkinan terjangkitnya infeksi.

- Pengambilan contoh darah pada hewan panther jantan di Florida menunjukkan perbandingan jumlah hormon steroid yang tidak normal sebagai akibat penggunaan pestisida estrogenik di Amerika Serikat bagian barat.

- Kerusakan hormonal serius dan sifat feminisme pada hewan buaya di danau Apopka, Florida-Amerika Serikat, sebagai akibat penggunaan pestisida sejenis DDT, dimana buaya dewasa mempunyai produksi estrogen dan testosteron yang sedikit, dan ukuran testis mengecil menjadi setengah sampai sepertiganya.



- Ikan paus Beluga di Quebec mempunyai dua alat kelamin jantan dan betina.

Karena manusia pada tingkat selular mempunyai kesamaan dengan hewan, maka bukanlah tidak mungkin sesuatu yang terjadi terhadap hewan, maka akan terjadi pula terhadap manusia. Oleh sebab itu, kerusakan yang manusia lakukan terhadap hewan secara tidak langsung akan berakibat pada kerusakan bagi manusia itu sendiri.³

2.1.3 Zat Yang Dikenal dan Dicurigai Sebagai *Endocrine Disruptors*¹⁹

1. Organo-halogen: Dioksin dan furan, PCB, PBB, *octachlorostyrene*, *hexachlorobenzene*, *pentachlorophenol*.
2. Pestisida: DDT, metabolit DDT, *dicofol*, *dieldrin*, *endosulfan*, *lindane*, *heptachlor*, *kepone*, *malathion*, *methoxychlor*, *metiram*, *nitrofen*, *nitrofen*, *ziram*, Penta sampai dengan *Nonyl-phenol*, *bisphenol A*, *phthalate*, *dimer dan trimer styrene*, *Benzo(a)pyrene*.
3. Logam berat: cadmium, merkuri.
4. Zat polutan yang luas tersebar dan berikatan dengan reseptor hormon, sehingga dicurigai mempunyai pengaruh mengganggu reproduksi dan sistem hormon: *2,4-dichlorophenol*, *diethylhexyl adipate*, *benzophenone*, *N-butyl benzene*.



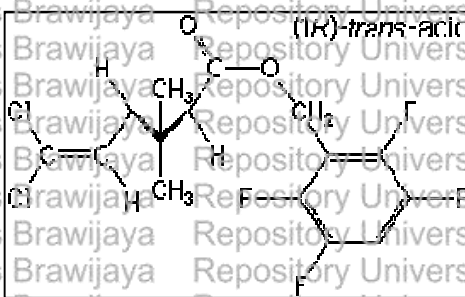
2.2 Transflutrin

Pestisida masih banyak beredar dalam kehidupan manusia, salah satunya pestisida tipe insektisida yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama seperti nyamuk. Salah satu contoh insektisida tersebut adalah transflutrin.²

Transflutrin, E-ISO atau disebut juga benflutrin (Bayer), NAK 4455, termasuk kelompok kimiawi pyrethroid dengan rumus molekul $C_{15}H_{12}Cl_2F_2O_2$. Penamaan kimiawinya adalah sebagai berikut:⁴

- IUPAC: *2,3,5,6-tetrafluorobenzyl (1R,3S)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate*
- CA: *(1R-trans)-(2,3,5,6-tetrafluorophenyl)methyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-Dimethylcyclopropanecarboxylate*

Pyrethroid utamanya merupakan bagian dari kelompok pestisida yang bersifat lipofilik. Kemampuan *arthropocidal* mereka didasari pada pengaruh kuatnya terhadap sodium channel pada membran saraf arthropoda.⁵ Transflutrin sendiri adalah insektisida yang bekerja secara cepat. Zat ini digunakan untuk keperluan rumah tangga dan hygiene, utamanya dalam membasmi serangga seperti nyamuk dan lalat.⁴



Gambar 2.2 Rumus struktural transflutrin⁴



Transflutrin merupakan salah satu dari 926 pestisida yang terbukti memiliki efek *endocrine disruptor*.³ Zat ini memiliki sifat toksik akut yang rendah terhadap tikus, LD₅₀ > 5000 mg/kgBB melalui setiap rute administrasi oral, dermal maupun inhalasi. Satu-satunya tanda yang tercatat selama pengamatan 14 hari berupa munculnya tremor pada tikus betina selama 5 menit setelah pemaparan.⁴

Transflutrin memiliki sifat fisik yang diuraikan dalam tabel berikut:

Tabel 2.1 Sifat fisik transflutrin.⁴

Sifat Fisik Transflutrin	Keterangan
Rumus molekul	C ₁₅ H ₁₂ Cl ₂ F ₄ O ₂
Massa molar	371,15 g mol ⁻¹
Bentuk fisik	Kristal tidak berwarna
Densitas	1,507 g/cm ³ (23 °C)
Titik cair	32 °C, 305 K, 90 °F
Titik didih	135 °C pada 0,1 mmHg 250 °C pada 760 mmHg
Kelarutan dalam air	5,7–10,5 g/L
Kelarutan dalam hexane, isopropanol, toluene, dichloro methane	Sangat larut

Transflutrin memiliki toksisitas akut dan kulit yang rendah dan diklasifikasikan sebagai dipercaya tidak dapat menyebabkan bahaya pada pemakaian normal oleh IPCS. Zat ini tidak dapat mengiritasi mata atau kulit, dan tidak menyebabkan iritasi kulit.⁴



Transflutrin memiliki sifat kimia yang diuraikan dalam tabel berikut:

Tabel 2.2 Sifat kimia transflutrin⁴

Parameter	Nilai dan kondisi	Kemurnian (%)	Metode
Tekanan penguapan	9×10^{-4} Pa pada 20°C	97.8	OECD 104
Koefisien partisi pada oktanol/air	Log K_{ow} = -5.46 pada 20°C	97.8	OECD 107
Karakteristik hidrolisis	Waktu paruh = lebih dari 1 tahun pada 25°C pada pH 5 dan pH 7, Waktu paruh = 14 hari pada 25°C pada pH 9	Minimal 94	Sesuai dengan EPA Guidelinge, Subdivision N, § 161-1 (1982)
Karakteristik Fotolisis	Hampir tidak dipengaruhi secara langsung oleh degradasi foto, tetapi dapat diperoleh dari degradasi fotokimia alami	97.8	-
Karakteristik Penguraian	Tidak menampilkan komponen asam-basa di air	98.4	Metode titrasi, OECD 112

Transflutrin mampu menginduksi adenoma/carcinoma kandung kencing frekuensi rendah pada tikus dengan paparan dosis tinggi. Pada observasi paparan, hasil akhir non kanker dicapai pada dosis 20 ppm, kanker muncul pada dosis 200 ppm dan tumor pada traktus urinaria pada dosis 2000 ppm. Zat ini juga mampu menginduksi adenoma pada mencit betina pada dosis tinggi. Transflutrin tidak memiliki efek inisiasi, namun merupakan promotor lemah terhadap terbentuknya keganasan. Transflutrin secara konsisten tidak menampilkan efek terbentuknya mutasi pada studi *in vitro* maupun *in vivo*. Sehingga disimpulkan munculnya tumor akibat induksi transflutrin dosis tinggi pada tikus dan mencit betina kemungkinan tidak disebabkan mekanisme genotoksik. Uji coba laboratoris dan lapangan menunjukkan transflutrin bersifat toksik rendah pada alga, burung dan cacing tanah, namun bersifat toksik tinggi pada ikan dan hewan invertebrata yang hidup di air seperti *daphnia*.⁴

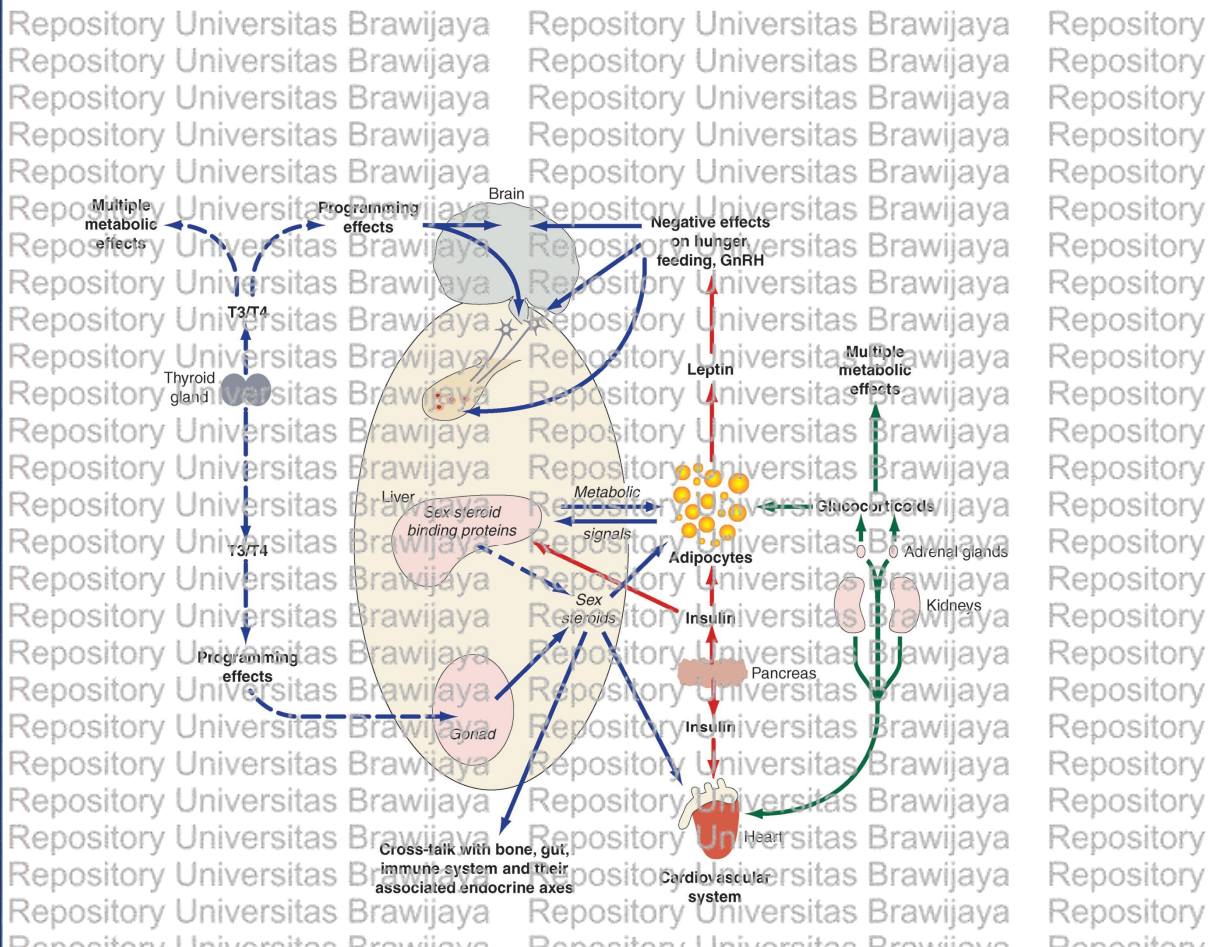


2.3 Keterkaitan Antara EDC Dengan Terjadinya Obesitas

Metabolisme jaringan adiposa putih berada di bawah kontrol dari sistem saraf simpatik dan diatur oleh hormon termasuk steroid seks. Dampak dari estrogen lingkungan pada jaringan adiposa mungkin melalui modulasi langsung terhadap lipogenesis, lipolisis, dan adipogenesis, atau secara tidak langsung dengan mempengaruhi konsumsi pangan dan sekresi leptin yang menargetkan sistem saraf pusat atau homeostasis lipid di hati.²⁰

Akhir-akhir ini muncul hipotesis paparan EDC turut berperan dalam berkembangnya obesitas dan penyakit terkait lainnya melalui suatu mekanisme molekul yang disebut obesogen. Obesogen didefinisikan sebagai bahan kimia yang mampu merubah homeostasis lipid secara tidak tepat, dengan meningkatkan adipogenesis dan akumulasi lipid. Satu lokasi dimana obesogen bekerja secara nyata adalah pada sensor metabolik yang mengontrol fungsi dan diferensiasi adiposit.^{21,23}

Dari sekian banyak bahan kimia yang bertindak sebagai potensial obesogen, dua di antaranya adalah pestisida dan DES.^{24,25,26} Pada tikus yang mendapat perlakuan paparan DES saat usia awal kehamilan menunjukkan berat badan janin yang besar dibandingkan kontrol, tampak pada piximus densitometry dan penurunan berat badan saat awal kelahiran diikuti dengan penyusulan pada peripubertal. Lebih jauh lagi pada tikus yang terpapar obesogen tersebut juga menampilkan peningkatan level leptin, adiponektin, IL-6 dan trigliserida selama perkembangan obesitas yang menandakan tanda-tanda awal dari sindroma metabolik.²⁷



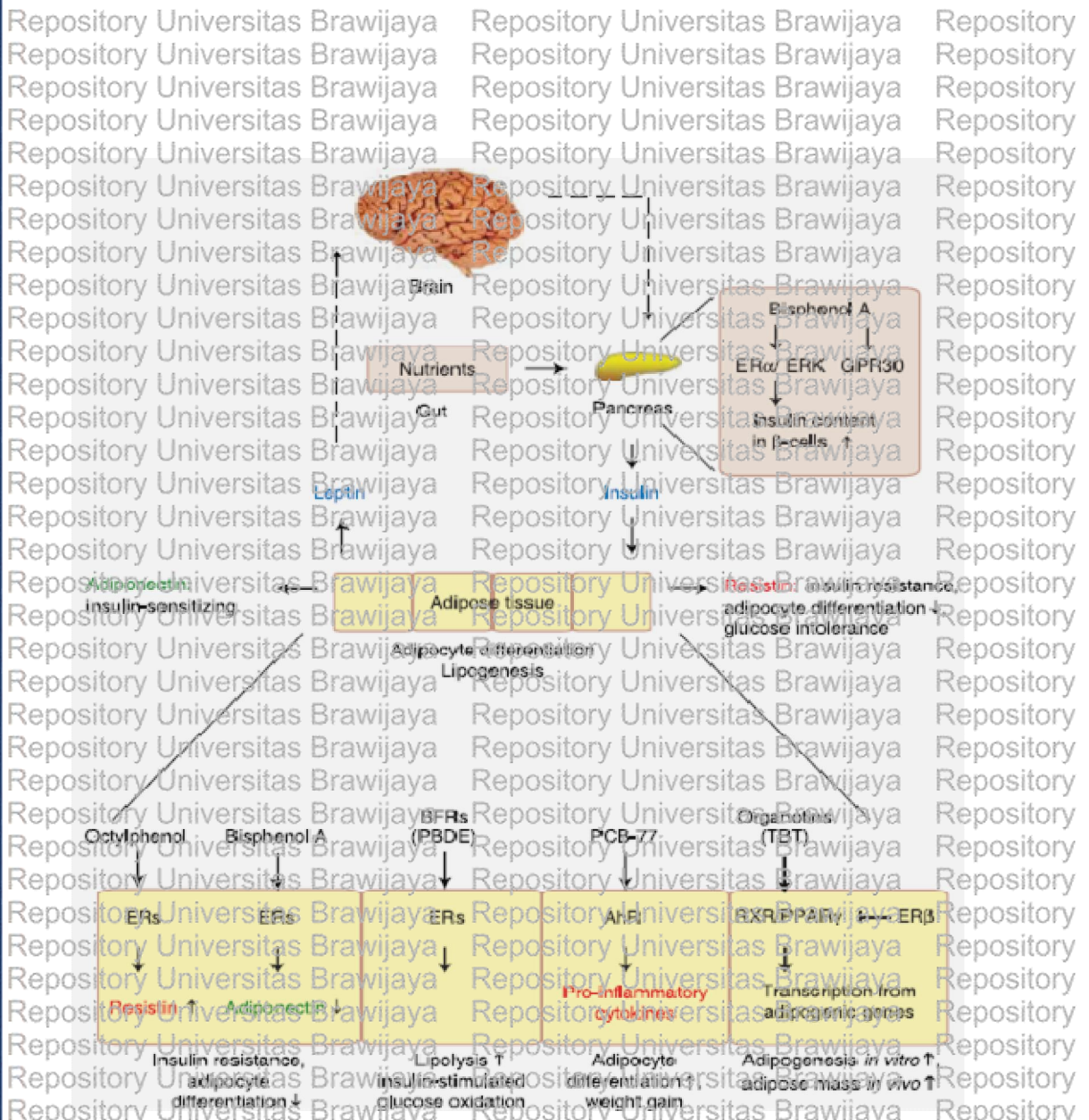
Gambar 2.3 Ilustrasi integrasi antara axis HPG hewan mamalia dengan axis endokrin.²⁸

Muncul bukti lain yang mengaranakan bahwa EDC turut mempengaruhi jaringan adiposa secara biologis, juga sistem hormonal endokrin, atau pusat HPA aksis yang membantu mempertahankan kontrol berat badan. EDC dapat menyerupai atau memblokade beberapa hormon yang berefek di otak sehingga merusak proses neuroendokrin.²⁹

PPAR- γ adalah bagian dari nuclear receptor superfamily dan memiliki kontribusi pada sebagian besar regulasi adipogenesis. Protein ini utamanya diekspresikan oleh jaringan adiposa, dan aktivasinya memicu diferensiasi adiposit sama halnya dengan induksi enzim lipogenik. Sebagai tambahan, PPAR- γ juga berperan mempertahankan homeostasis metabolisme melalui aktivasi transkripsi



gen yang berdampak pada keseimbangan energi. Selama aktivasinya, PPAR- γ membentuk heterodimer dengan RXR- α , dan kompleks ini berikatan dengan komponen PPAR di region sebagai promotor yang meregulasi target gen dan akhirnya melibatkan regulasi penyimpanan asam lemak dan represi lipolisis. Bukti uji coba eksperimen menyoroti nuclear receptor superfamily dan khususnya PPAR- γ sebagai target molekul dari EDC, pada paparan khusus komponen organotin seperti TBT dan triphenyltin, yang digunakan secara luas di bidang agrikultur dan industri.²⁰



Gambar 2.4 Efek EDC terhadap sistem metabolisme lemak²³

Studi oleh Kanayama *et al* membuktikan TBT dan triphenylin berfungsi sebagai agonis PPAR- γ dan RXR, bekerja sebagai *high-affinity ligands* pada kadar yang sebanding dengan ligan endogen yang sebenarnya. Lebih jauh lagi, pemberian xenobiotik ini pada preadipocyte cell lines menghasilkan diferensiasi adiposit melalui PPAR- γ . Pada tikus, TBT dapat menginduksi diferensiasi adiposit



in vitro dan meningkatkan massa adiposa *in vivo* lewat aktivasi RXR dan PPAR- γ .

Sehingga *signaling* PPAR- γ dapat berinteraksi dengan estrogen untuk mempengaruhi adipogenesis.²⁰

Temuan ini telah diteliti kembali oleh Grun *et al* dan merepresentasikan contoh penting perihal mekanisme dimana bahan kimia lingkungan dapat mengganggu regulasi berat badan. Sebagai tambahan, TBT pada dosis tinggi dapat menghambat aktivitas enzim aromatasen pada jaringan adiposa secara langsung. Hal ini pada akhirnya mengarah pada penurunan kadar estradiol dan down regulation target gen ER. TBT pada dosis menengah tinggi mampu menghambat aktivitas *11 β -hydroxysteroid dehydrogenase 2* yang menghasilkan menurunnya inaktivasi hormon kortisol. Sehingga muncul hipotesis bahwa meningkatnya kadar glukokortikoid lokal dapat mempengaruhi diferensi adiposit pada stadium akhir dan akhirnya regulasi metabolisme.²⁰

Munculnya usaha melaksanakan kebiasaan hidup sehat pada tahun-tahun terakhir ini menghasilkan peningkatan konsumsi produk kedelai dan suplemen, dan karenanya meningkatkan paparan terhadap *phytoestrogen*. Genistein merupakan pokok dari phytoestrogen pada kedelai dan memiliki aksi biologis yang luas. Zat ini berikatan dengan ER α dan ER β namun juga menunjukkan aksinya sebagai antiestrogenic. Pada konsentrasi yang rendah, genistein menunjukkan aksinya bekerja menyerupai estrogen dan mendesak efek inhibisi terhadap lipogenesis. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, genistein memicu lipogenesis melalui jalur molekuler PPAR- γ , suatu jalur yang tidak dipengaruhi oleh ER.²⁰



Xenobiotic yang terlarut dalam lemak dapat terakumulasi dalam jaringan adiposa, yang kemudian berfungsi sebagai cadangan pada saat zat ini akan kembali ke dalam darah, dimana mereka dapat dideteksi pada konsentrasi yang tampak. Untuk beberapa xenobiotic, terdapat korelasi positif dengan IMT.³⁰

Studi oleh Trigaray *et al* mengungkapkan bahwa *benzo(a)pyrene* dapat menginduksi obesitas pada tikus melalui inhibisi stimulasi lipolisis oleh beta-adrenergic di jaringan adiposa. Namun sering didapatkan korelasi negatif antara indeks massa tubuh dan kadar polutan organoklorin dalam serum, mungkin dikarenakan efek dilusi. Pada flemish adolescent, ditemukan hubungan negatif yang bermakna antara paparan organoklorin internal (khususnya penanda PCB dan *hexachlorobenzene*) dan indeks massa tubuh. Hubungan negatif ini mungkin sebagian dapat dijelaskan sebagai efek dilusi, namun juga mungkin, setidaknya sebagian, dihasilkan dari efek kekacauan sistem endokrin yang mengesankan beberapa organoklorin dapat memiliki efek terbatas terhadap bertambahnya berat badan pada remaja. Pestisida organoklorin menunjukkan odds ratio > 2 terhadap 4 dari 5 komponen sindroma metabolik, yaitu lingkaran pinggang, triasilgliserol yang tinggi, kolesterol HDL yang rendah, dan kadar gula darah puasa yang tinggi.³⁰

2.4 Obesitas

2.4.1 Definisi

Obesitas adalah suatu kondisi didapatkannya massa jaringan adiposa yang berlebihan, yang meningkatkan resiko penyakit kardiovaskuler, diabetes mellitus tipe 2, sindroma ovarium polikistik dan perlemakan hati non alkoholik serta penyakit-penyakit lainnya.^{9,31} Obesitas terjadi apabila besar dan jumlah sel



adiposit bertambah pada tubuh seseorang. Bila seseorang bertambah berat badannya, maka ukuran sel adiposit akan bertambah besar dan kemudian jumlahnya bertambah banyak.⁹

Akumulasi lemak ditentukan oleh keseimbangan antara sintesa lemak (lipogenesis), pemecahan lemak (lipolisis), dan jenis kelamin. Lipogenesis harus dibedakan dengan adipogenesis, dimana adipogenesis merupakan proses diferensiasi pre adiposit menjadi sel adiposit dewasa. Sedangkan lipogenesis adalah proses deposisi lemak yang meliputi proses sintesa asam lemak dan trigliserida yang terjadi di hati pada daerah sitoplasma dan mitokondria dan jaringan adiposa. Lipolisis merupakan proses terjadinya dekomposisi kimiawi dan pelepasan lemak dari jaringan adiposa.⁹

2.4.2 Epidemiologi

Saat ini diperkirakan jumlah orang di seluruh dunia dengan obesitas melebihi 250 juta orang, hampir setara 7% jumlah penduduk dunia. Sekitar 100 juta penduduk Amerika Serikat menderita berat badan berlebihan atau obesitas; 20-25% anak-anak, 35% perempuan dan 31% laki-laki dengan usia lebih dari 19 tahun. Di Indonesia sendiri, khususnya di kota-kota besar, menunjukkan terjadinya pertambahan jumlah penduduk dengan obesitas yang berhubungan dengan urbanisasi, perubahan status ekonomi, kemudahan mendapatkan makanan dan banyaknya jumlah makanan yang tersedia.^{9,14}

CDC Amerika Serikat melaporkan pada populasi orang dewasa berusia 20-74 tahun muncul peningkatan prevalensi obesitas ($IMT \geq 30$) di Amerika Serikat dari 13,4% pada tahun 1960-1962 menjadi 35,1% pada tahun 2005-2006.



Obesitas berat (IMT ≥ 40) juga meningkat dari 0,9% menjadi 6,2% dalam periode yang sama.³⁰



Gambar 2.5. Grafik perkembangan berat badan berlebih, obesitas, dan obesitas berat selama 50 tahun terakhir di Amerika Serikat berdasarkan data CDC.³⁰

Adanya kelebihan lemak tubuh sering dikaitkan dengan peningkatan berat badan. Karena mengukur lemak tubuh secara langsung sangat sulit, maka sebagai pengganti digunakan metode pengukuran IMT, yaitu berat badan dalam kilogram (kg) dibagi nilai kuadrat dari tinggi badan dalam meter (m²). Nilai IMT, atau dikenal sebagai indeks Quatelet lebih sering digunakan untuk menilai ada tidaknya obesitas dibandingkan dengan kadar persentase lemak tubuh.^{9,32} Tabel 1 merupakan klasifikasi berat badan lebih dan obesitas berdasarkan IMT yang ditetapkan WHO.



Tabel 2.3. Klasifikasi berat badan dan obesitas pada orang dewasa berdasarkan IMT menurut WHO³³

Klasifikasi	IMT (kg m^{-2})
Berat badan kurang	$< 18,5$
Normal	$18,5 - 24,9$
Berat badan lebih	> 25
Pra-obesitas	$25 - 29,9$
Obesitas tingkat I	$30 - 34,9$
Obesitas tingkat II	$35 - 39,9$
Obesitas tingkat III	> 40

2.4.3 Patogenesis

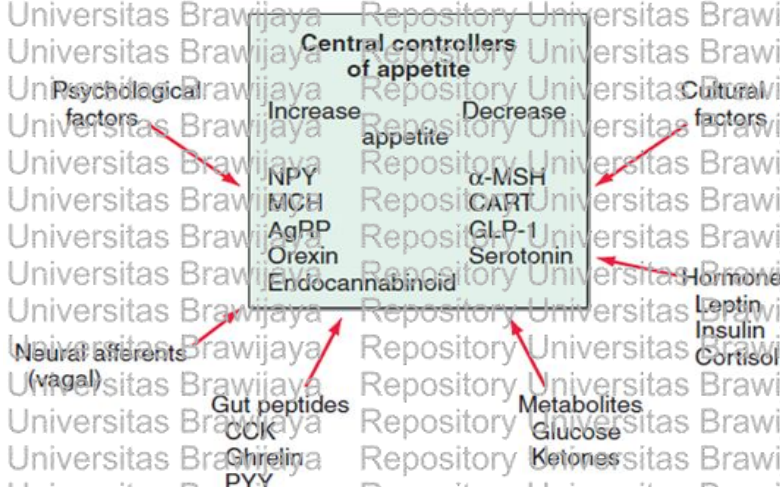
Jaringan adiposa terdiri dari adiposit dan struktur vaskuler, dimana makrofag, fibroblas, sel endotel dan preadiposit berada di dalamnya. Pre adiposit berasal dari *multipotent stem cell* dari mesoderm. Fungsi utama dari jaringan adiposa adalah sebagai penyekat dan pelindung tubuh, menyimpan FFA setelah makan dan melepas FFA selama puasa untuk menjaga kecukupan status energi.³⁴

Adiposit dapat bertambah besar ukurannya atau jumlahnya pada kondisi obesitas. Obesitas hipertrofi ditandai bertambah besarnya ukuran sel lemak dengan android abdominal obesity. Obesitas jenis ini pada umumnya dimulai pada usia dewasa, berhubungan dengan meningkatnya resiko kardiovaskuler dan berespon cepat dengan program penurunan berat badan. Obesitas hiperseluler lebih bervariasi dibanding obesitas hipertrofi. Obesitas hiperseluler utamanya timbul pada mereka yang mengalami obesitas semenjak usia anak atau pubertas dan seringkali ditemukan sulit untuk mencapai penurunan berat badan melalui intervensi non badan.¹⁴

Sistem fisiologi pengaturan intake makanan dan pemakaian energi tersusun dari (1) sinyal afferent jangka pendek dan jangka panjang yang



memungkinkan untuk pengenalan status energi pada individu; (2) integrasi pusat otak, terutama oleh hipotalamus, dimana level respon efferent ditentukan; (3) sinyal efferent termasuk yang meregulasi intensitas rasa lapar dan level pemakaian energi.¹²



Gambar 2.6. Faktor-faktor yang meregulasi nafsu makan³¹

Akumulasi lemak atau mobilisasi lipid dari tempat penimbunan adiposa dikendalikan oleh beberapa faktor, termasuk kualitas nutrisi, stres, kondisi lingkungan dan paparan obat/zat kimia saat janin, regulasi hormon rasa lapar (*appetite*) dan rasa kenyang (*satiety*), regulasi kadar glukosa, kontrol pusat terhadap kecepatan metabolisme basal, regulasi *metabolic setpoint*, dan jumlah ukuran, dan aktivitas metabolik dari adiposit. Jumlah adiposit meningkat pada individu obese, menandakan peningkatan adipogenesis atau hiperplasia massa adiposa.^{7,21,23} *Appetite* juga dikendalikan oleh pusat yaitu bagian hipotalamus

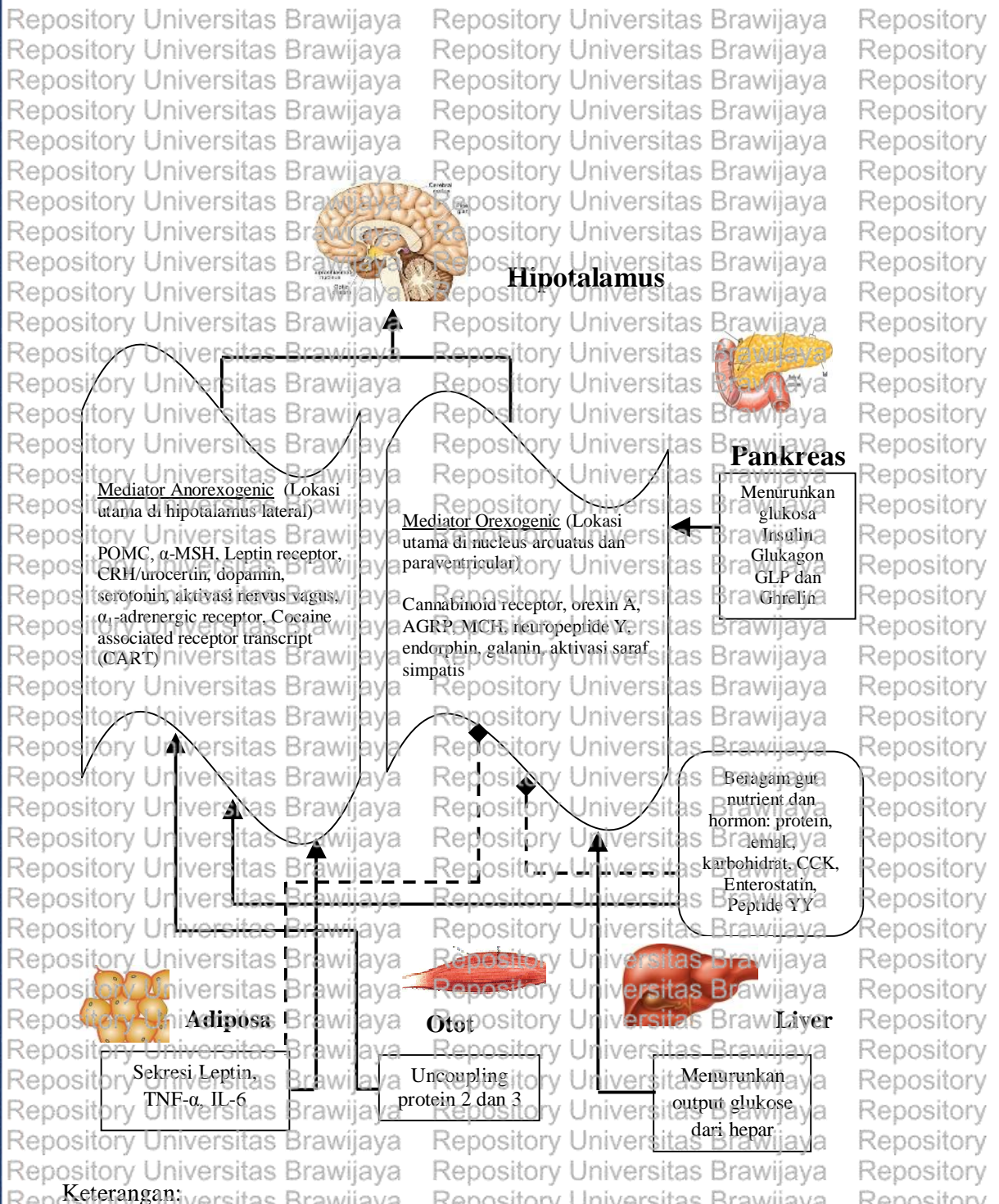


dari otak, dan dipengaruhi oleh sinyal vagal input dari gut, hormon-hormon metabolit, faktor psikis dan juga budaya.³¹

Tabel 2.4. Neurotransmitter dan hormon yang mempengaruhi pusat rasa lapar dan kenyang di hipotalamus³³

Menurunkan Rasa Lapar (Anorexigenic)	Meningkatkan Rasa Lapar (Orexigenic)
Leptin	NPY
α -MSH	AGRP
Serotonin	Melanin-concentrating hormone (MCH)
Norepinephrine	Orexin A dan B
Corticotropin-releasing hormone	Endorphin
Insulin	Galania
Cholecystokinin	Asam amino (glutamate dan γ aminobutyric acid)
Glucagon-like peptide (GLP)	Cortisol
CART	Ghrelin
Peptide YY (PYY)	

Rasa lapar utamanya merupakan respon kebiasaan terhadap *entrained rhythms*, termasuk diantaranya ritme *circadian*. Rasa lapar diregulasi oleh suatu sistem dengan nucleus hipotalamus sebagai pusatnya, yang mempertahankan homeostasis energi melalui regulasi asupan makanan dan pemakaian energi. Satu komponen penting darinya adalah neuron POMC yang terletak di nucleus arcuata dari hipotalamus dan nucleus tractus solitarius dari batang otak, yang fungsinya berkaitan dengan *appetite* dan asupan makanan, regulasi perilaku seksual, laktasi, siklus reproduksi dan sebagai pengaturan sentral dari kardiovaskuler.³⁵



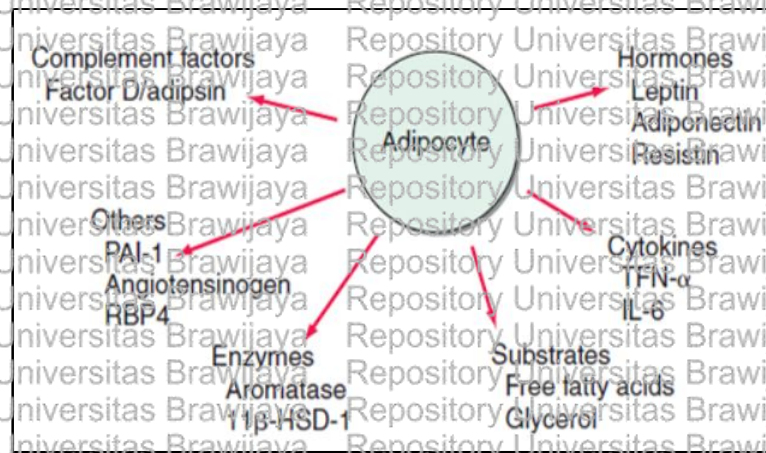
Gambar 2.7. Peran sistem saraf pusat dalam regulasi rasa lapar dan siklus makan¹⁴



2.4.4 Obesogen dan Anorexogen

Istilah obesogen pertama kali muncul pada tahun 2006, dan didefinisikan sebagai molekul yang mengganggu regulasi metabolisme lemak dan adipogenesis untuk menimbulkan obesitas. Sejumlah bahan kimia telah dipelajari dan diketahui sebagai *possible obesogens* terus berkembang, meliputi DES, BPA, phthalates, organotins, *polybrominated diphenyl ether* (PBDE), *polyfluoroalkyl chemical* (PFC), pestisida organoklorin, dan PCB.²⁵

Jaringan adiposa sebagai organ endokrin, memiliki aktifitas metabolik tinggi, di antaranya mempengaruhi intake makanan, pemakaian energi, dan metabolisme karbohidrat dan lemak.¹⁰ Jaringan adiposa juga mensekresi berbagai faktor pro dan anti inflamasi seperti leptin, adiponektin, TNF- α , IL-6 dan resistin.¹¹ Sejumlah faktor yang disekresikan oleh jaringan adiposa, utamanya pada konteks obesitas, merupakan sitokin pro inflamasi. Sehingga saat ini dapat dipahami secara umum bahwa obesitas merupakan suatu kondisi inflamasi kronis tingkat rendah.¹²



Gambar 2.8 Faktor yang dikeluarkan adiposit dan mempengaruhi jaringan perifer

Menurut Dorland's medical dictionary, anorexogen didefinisikan sebagai

"An agent that diminishes or suppresses the appetite for food" atau dalam arti lain,

suatu zat yang dapat menghilangkan atau menekan rasa lapar.³⁶

2.4.5 Peranan Leptin Pada Obesitas

Jaringan adiposa memiliki peran penting dalam metabolisme lemak dan glukosa dan memproduksi sejumlah besar hormon dan sitokin, di antaranya

angiotensinogen, TNE- α , PAI-1, IL-6, adiponektin, dan leptin.³⁴ Leptin

merupakan suatu protein hormon dengan berat molekul 16-kd. Fungsi utamanya

dalam regulasi berat badan berjalan melalui mengeluarkan sinyal rasa kenyang ke

hipotalamus yang selanjutnya berefek pengurangan asupan diet dan penyimpanan

lemak di saat pembentukan energi dan metabolisme karbohidrat berlangsung.¹⁴

Pada mamalia, leptin diproduksi secara garis besar di jaringan adipose dan

disekresi ke pembuluh darah. Meskipun demikian reseptor leptin terdapat di



banyak jaringan. Hormon ini juga sebagian kecil diproduksi di lambung, plasenta, otot skeletal dan otak.³⁷

Sekresi leptin merupakan suatu cara cadangan lemak tubuh memberikan informasi kepada otak mengenai bagaimana ketersediaan energi dan apa yang harus dilakukan dengannya. Apabila signaling leptin bekerja dengan baik, di saat cadangan lemak penuh, cadangan lemak tambahan akan menyebabkan lonjakan konsentrasi leptin. Hal ini akan memberikan sinyal kepada otak untuk menghentikan rasa lapar, kegiatan makan, penyimpanan cadangan lemak dan memulai pembakaran cadangan lemak tambahan. Dengan cara mengontrol rasa lapar inilah leptin mengontrol penyimpanan lemak.³⁸

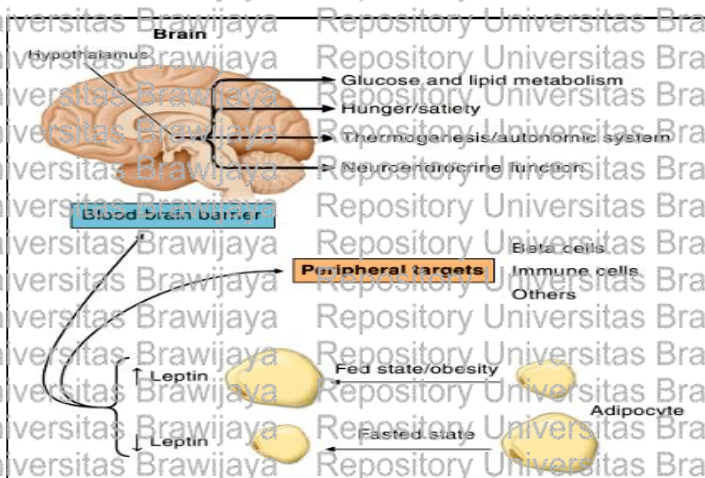
Leptin memiliki efek anorexigenic. Pasien anorexia nervosa dengan berat badan rendah memiliki konsentrasi plasma leptin yang rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol yang memiliki berat badan normal. Leptin sendiri merupakan protein yang diproduksi oleh gen obese, terdiri dari dua tipe yaitu yang berikatan dengan reseptor soluble untuk menciptakan kontrol dalam pemakaian energi dan yang bebas tidak berikatan sehingga dapat mempengaruhi massa jaringan adiposa.¹³

Konsentrasi leptin dalam darah berhubungan langsung dengan jumlah lemak yang ada dalam tubuh dan menunjukkan hubungannya yang baik dengan total massa lemak. Kebanyakan leptin yang beredar dalam darah dihasilkan oleh jaringan lemak putih, dan hanya sebagian kecil berasal dari jaringan lemak coklat.³⁹ Pada individu obese, terdapat perubahan rasio leptin yang terikat dengan



yang bebas dan konsentrasi leptin yang beredar lebih tinggi.⁴⁰ Terdapat hubungan langsung antara kadar leptin plasma dengan IMT atau presentase lemak tubuh.³²

Dalam regulasi keseimbangan energi, leptin berikatan dengan reseptornya pada 2 populasi neuron di nukleus arcuata hipotalamus, yaitu neuron yang mengekspresikan AGRP/NPY sebagai orexogenic, dan neuron yang mengekspresikan POMC sebagai anorexogenic. Kedua kelompok neuron ini memiliki proyeksi menuju nukleus paraventrular di hipotalamus, sama halnya lokasi lainnya di otak. Nukleus paraventrular ini memiliki populasi neuron yang mengekspresikan MC4R.¹²



Gambar 2.9 Sistem fisiologis yang diregulasi oleh hormon leptin.³¹

Saat leptin berikatan dengan reseptornya di neuron POMC, maka keluarlah α -MSH. Aktivasi MC4R oleh α -MSH di neuron paraventrular menyampaikan sinyal rasa kenyang dan menyebabkan penurunan intake makanan. AGRP merupakan antagonis MC4R, bersaing dengan α -MSH untuk dapat berikatan dengan MC4R. Ikatan antara AGRP dan MC4R mengarah pada meningkatnya



intake makanan. Leptin mampu bekerja dengan mengaktifasi neuron POMC dan menghambat neuron AGRP. Sehingga dengan mengaktifkan reseptornya pada kedua populasi neuron ini, leptin bekerja dengan cara yang terpadu untuk meningkatkan aktivasi MC4R oleh α -MSH dan menurunkan antagonisnya oleh AGRP, yang menghasilkan penurunan intake makanan.¹²

Selama bertahun-tahun, obesitas pada tikus diketahui dapat disebabkan oleh sejumlah mutasi nyata yang didistribusikan lewat genom. Kebanyakan mutasi satu gen ini menyebabkan baik *hyperphagia* maupun berkurangnya pemakaian energi. Identifikasi terhadap mutasi gen obesitas secara genetik pada tikus obese didapatkan kondisi obesitas berat, resistensi insulin dan *hyperphagia*. Gen obesitas ini juga terdapat pada manusia dan diekspresikan di jaringan adiposa.³¹



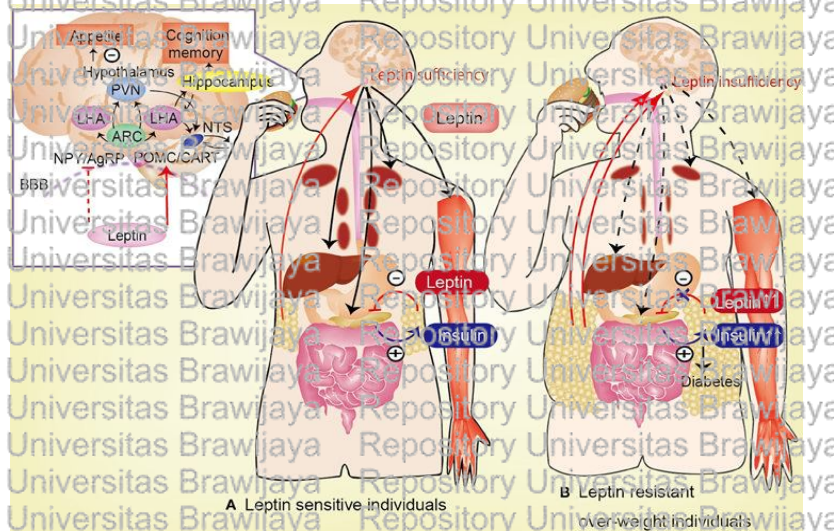
Gambar 2.10 struktur genomik gen *Lepr*³¹

Jika terjadi mutasi pada tikus, gen *ob* tidak mampu mengekspresikan leptin sehingga tidak terjadi penyampaian sinyal penekanan nafsu makan di saat cadangan lemak dalam tubuh penuh. Leptin manusia memiliki 84 persen homolog dengan leptin tikus. Mutasi juga dapat terjadi pada reseptor leptin yang dikodekan oleh gen *diabetes (db)*, yang menyebabkan inhibisi transduksi sinyal. Walaupun hal ini sangat jarang ditemukan pada manusia, mutasi gen *db* menghasilkan *hyperphagia* dan obesitas stadium dini.³⁷



Resistensi leptin hingga saat ini tidak dapat hanya dijelaskan sebagai akibat adanya mutasi pada reseptor leptin yang mendasari. Namun secara garis besar, sejumlah hipotesis dikemukakan mengenai mekanisme timbulnya resistensi leptin. Di antaranya yaitu keterlibatan ikatan leptin dengan *bloodborne* protein, transport leptin ke otak baik aktif maupun pasif, jumlah ekspresi reseptor leptin, dan perubahan respon *second-messenger* reseptor leptin.³⁷

Leptin bersama dengan insulin bekerja mengontrol kualitas metabolisme dan kecepatan metabolisme. Baik kondisi resistensi insulin maupun resistensi leptin berkaitan dengan obesitas. Resistensi leptin dapat timbul apabila tubuh terpapar konsentrasi leptin yang berlebihan secara terus menerus sebagai akibat konsumsi diet tinggi gula utamanya fruktose, tinggi beras dan makanan siap saji yang menyebabkan gula dimetabolisme di sel lemak dan sel lemak mengeluarkan lonjakan leptin. Sama halnya dengan mekanisme timbulnya resistensi insulin. Hingga saat ini, diet dan olahraga merupakan cara yang paling tepat dalam mengatasi resistensi leptin, karena 80 persen manfaat penerapan gaya hidup sehat dicapai dari diet dan 20 persen sisanya dari olahraga rutin.³⁸



Gambar 2.11 Ilustrasi peredaran leptin dalam darah yang mampu menembus sawar otak dan memiliki korelasi dengan derajat *adiposity*.¹⁵

Di hipotalamus, leptin mengaktifasi neuron POMC dan CART, dan menghambat neuron NPY dan AgRP, yang mengarah pada anorexia. Leptin memiliki efek pada kebiasaan makan, nafsu makan, aksis insulin-glukosa, dan fungsi kognitif. Gambar (A) pada individu yang sensitif terhadap leptin, leptin menghambat biosintesis dan sekresi insulin dari sel β -pankreas. Padahal insulin menstimulasi sekresi insulin dari jaringan adiposa. Leptin juga menstimulasi glukoneogenesis di hepar dan sensitivitas insulin di hepar melalui nervus vagus cabang hepaticum. Sebagai tambahan, leptin meningkatkan uptake glukosa di otot skeletal, jantung dan jaringan adiposa coklat melalui sistem saraf simpatis.

Gambar (B) pada individu overweight yang resisten terhadap leptin, permeabilitas sawar otak terhadap leptin menurun pada obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak di samping meningkatnya kadar leptin plasma.

Ketidakseimbangan transport leptin melewati sawar otak merupakan satu dari



sekitar penyebab resistensi leptin. Insufisiensi signaling leptin di hipotalamus (diinduksi oleh hiperleptinemia pada individu obese), menyebabkan hiperglikemia dan hiperinsulinemia, yang mengacu pada kondisi diabetes melitus.

Pada manusia dengan defisiensi leptin dan hewan coba, pemberian leptin menghasilkan penurunan massa tubuh dan berkurangnya *hyperphagia*. Walaupun subyek obese memiliki kadar leptin yang tinggi, pemakaian energi dan *appetite* tidak terkontrol dengan baik, sehingga mengarah pada konsep *hypothalamic leptin resistance* yang bertanggung jawab pada rasa lapar yang persisten dan kesulitan dalam menurunkan berat badan subyek obese. Karena insulin memiliki kesamaan khasiat seperti halnya leptin di hipotalamus, resistensi insulin di otak pada kondisi obesitas kiranya turut berperan dalam resistensi leptin. Ini dapat diartikan sebagai lingkaran setan dari resistensi leptin dan resistensi insulin sehingga keduanya mengarahkan pada rasa lapar dan sedikitnya pemakaian energi yang memperberat kondisi obesitas.³⁴

Jumlah produksi hormon ini menentukan indeks penyimpanan energi di adiposit. Kadar leptin menurun secara cepat dalam 12 jam saat awal terjadi kelaparan. Di lain pihak, kadar leptin meningkat bila terjadi intake makanan yang berlebihan^{31,32}. Kadar leptin juga ditemukan lebih tinggi pada wanita dibanding pria¹⁴.



2.4.6 Peranan Adiponektin Pada Obesitas

Jaringan adiposa merupakan organ endokrin yang memiliki aktivitas metabolisme tinggi. Adiposit mensekresi sejumlah hormon dan sitokin yang beredar dalam darah dan memediasi efek autokrin/parakrin secara lokal untuk mempengaruhi intake makanan, penggunaan energi, dan metabolisme glukosa dan lemak. Salah satu di antaranya adalah adiponektin yang berperan dalam metabolisme glukosa bersama dengan resistin^{10,34}. Dari sejumlah hormon dan sitokin tersebut, semuanya akan meningkat searah dengan bertambah banyak dan besarnya adiposit, kecuali plasma adiponektin.³⁴

Adiponektin merupakan plasma protein yang dihasilkan paling banyak oleh sel adiposit. Kadar adiponektin plasma menurun pada penderita dengan obesitas, resistensi insulin, diabetes tipe 2, dan penyakit kardiovaskuler. Rendahnya kadar adiponektin dalam plasma pada keadaan tersebut disertai dengan berkurangnya ekspresi gen adiponektin pada jaringan adiposa.^{10,32}

Terdapat bukti bahwa polimorfisme gen adiponektin berhubungan dengan hipoadiponektinemia, bersamaan dengan resistensi insulin dan diabetes tipe 2.

Sehingga kadar adiponektin yang rendah dan variasi gen adiponektin telah dikaitkan dengan obesitas dan resistensi insulin.¹⁰

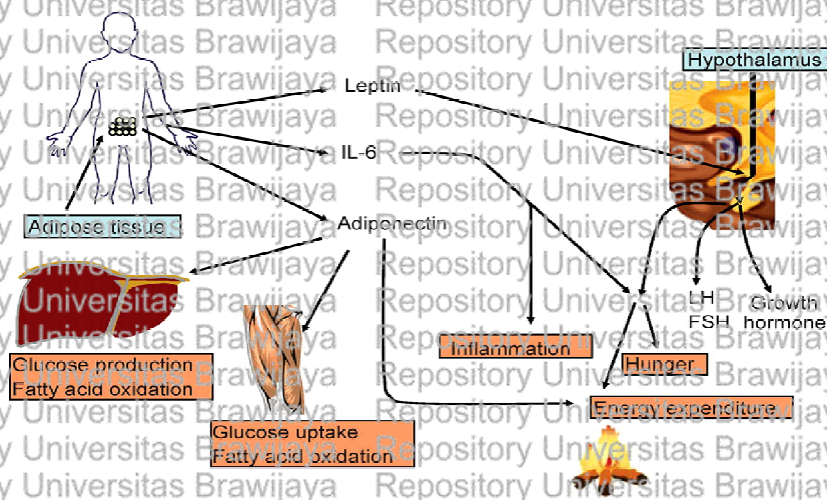
Efek metabolik dan mekanisme kerja dari adiponektin masih belum jelas.

Adiponektin menunjukkan kemampuannya dalam memperbanyak oksidasi lemak pada otot skelet dan miosit, dan menurunkan produksi glukosa di hati. Oleh karenanya, pemberian adiponektin pada tikus yang intak dapat memperbaiki toleransi glukosa dan menurunkan plasma trigliserida. Pada percobaan dengan



melakukan kloning permukaan reseptor sel otot untuk adiponektin, ikatan ligan mampu menginisiasi transduksi signal melalui fosforilasi dan aktivasi *adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase* yang diketahui berperan penting dalam regulasi sintesis kolesterol, lipogenesis dan oksidasi lemak, serta transport dan oksidasi glukosa. Sebagai tambahan, adiponektin dapat menghambat proses inflamasi dan atherogenesis dengan menekan migrasi monosit/makrofag dan transformasinya menjadi foam cell di dinding pembuluh darah.¹⁰ Pada hewan coba tikus yang mengalami resistensi insulin, pemberian adiponektin menunjukkan kemampuannya dapat memperbaiki hiperglikemia dan hiperinsulinemia.³⁴

Adiponektin dihasilkan secara eksklusif oleh adiposit dan beredar dalam sirkulasi plasma sebagai 3 bentuk isoform yang berbeda, yaitu multimer, trimer hingga hexamer.³⁴ Kadar adiponektin dalam darah memiliki korelasi negatif dengan massa lemak.¹²



Gambar 2.12 Peran leptin, IL-6 dan adiponektin dalam metabolisme lemak³⁴



Leptin bekerja terutama melalui sistem melanocortin nucleus arcuata di hipotalamus, dengan cara menghambat 5 *AMP-activated protein kinase*, yang menghasilkan berkurangnya rasa lapar dan stimulasi penyimpanan energi. Pada tingkat yang lebih rendah, leptin memperbanyak hormon pertumbuhan dan reproduksi melalui stimulasi gonadotrophin releasing hormone baik pria maupun wanita. Pada jaringan perifer, leptin meningkatkan oksidasi lemak di liver dan lipolisis di otot skelet dan adiposit. Adiponektin menghambat produksi glukosa di liver, sementara itu juga meningkatkan penyerapan glukosa di otot, meningkatkan oksidasi asam lemak di liver dan otot, serta memperbanyak penyimpanan energi *in vitro* rupanya dengan memperbanyak pembentukan *uncoupling adenosine triphosphate* di mitokondria. IL-6 menginduksi penyimpanan energi meliputi termogenesis, dan menekan rasa lapar pada tingkat sistem saraf pusat.³⁴

Selama obesitas berkembang, makrofag menginfiltrasi jaringan adiposa. Namun nampaknya kecepatan infiltrasi monosit menuju jaringan adiposa visceral lebih tinggi dibanding subkutan. Sebuah studi menggunakan subyek pasien obesitas berat menunjukkan lemak visceral merupakan kontributor utama konsentrasi IL-6 plasma. Sehingga dapat dibayangkan sitokin-sitokin yang dihasilkan oleh adiposit visceral secara langsung mempengaruhi fungsi liver karena IL-6 sendiri merupakan pemicu produksi C-reactive protein di liver dan protein-protein yang terlibat dalam hemostasis.³⁴

Baik jaringan adiposa visceral maupun subkutan diinervasi oleh sistem saraf autonom dengan motor neuron yang berbeda dan terpisah untuk tiap depo dan dibawah kontrol *feedback neuroendocrine*. Stimulasi sistem parasimpatis



menyebabkan penurunan lipolisis, sementara simpatis mengarah pada laju katabolisme dengan berkurangnya adipogenesis dan stimulasi lipolisis. Wanita yang mengalami obesitas sentral memiliki kadar adiponektin yang lebih rendah dari mereka obesitas perifer.⁸⁴

Beberapa studi klinik mengamati kadar adiponektin yang beredar dalam sirkulasi menurun pada kondisi obesitas. Namun studi Fu *et al* mengungkapkan ekspresi adiponektin yang berlebihan mampu mempercepat adipogenesis dan memperbanyak akumulasi lemak di sel. Hasil ini membuktikan fungsi adiponektin, yaitu sebagai faktor diferensiasi adiposit, bahwa adiponektin bekerja secara lokal pada tingkat jaringan untuk mempertahankan ukuran dan massa adiposit dalam kondisi seimbang. Setelah mengalami penurunan berat badan, adiposit yang berukuran lebih kecil mensekresi adiponektin yang lebih banyak sehingga berefek memicu diferensiasi adiposit dan akumulasi lemak yang pada akhirnya mengembalikan adiposit ke ukuran semula. Sebaliknya pada kondisi peningkatan berat badan, menurunnya sekresi adiponektin mengarah pada melambatnya akumulasi lemak dan penurunan ukuran adiposit menuju ukuran semula. Mekanisme tersebut juga terjadi pada leptin, walaupun leptin memodulasi ukuran adiposit secara tidak langsung melalui efek pada pusat rasa lapar di sistem saraf pusat.¹⁰

Eksresi adiponektin mampu memperbaiki sensitivitas insulin dan penurunan berat badan. Intervensi dengan cara memperbaiki sensitivitas insulin seperti menurunkan berat badan atau pengobatan dengan thiazolidinedione dapat meningkatkan ekspresi gen adiponektin dan kadarnya di darah plasma. Penurunan



kadar adiponektin plasma berperan terhadap timbulnya berbagai komplikasi metabolik terkait obesitas.³²

2.4.10 Bahaya Obesitas

Inflamasi merupakan keterkaitan yang terpenting mengenai obeistas dengan berbagai komplikasi metabolik yang berhubungan dengannya.

Hiperinsulinisme, hipercortisolisme, hipotiroidisme, PCOS, dan defisiensi hormon pertumbuhan sering dikaitkan dengan obesitas. Insulin merupakan hormon

anabolik yang potensial. Pengobatan dengan insulin atau beberapa obat

antidiabetes memberikan hasil peningkatan berat badan melalui beberapa

mekanisme. Insulinoma merupakan penyebab hiperinsulinisme yang jarang dan

berkaitan dengan hipoglikemia, kelaparan, dan kenaikan berat badan yang cepat.

Etiologi PCOS kompleks dan multifaktorial. PCOS sering terkait dengan obesitas

sentral, resistensi insulin, dan hiperandrogenemia. Paparan glukokortikoid yang

berlebihan, seperti sindrom Cushing, menghasilkan obesitas sentral, sarcopenia,

osteoporosis, hipertensi, dan hiperlipidemia. Hipotiroidisme meningkatkan berat

badan dengan mengurangi thermogenesis dan meningkatkan retensi cairan

interstitial dan akumulasi glikosaminoglikan. Hipotiroidisme juga meningkatkan

sintesis kolesterol dan mengganggu sensitivitas insulin. Kekurangan hormon

pertumbuhan pada orang dewasa menurun massa jaringan adiposa dan

meningkatkan lemak.⁴²

Obesitas berhubungan dengan meningkatnya resiko morbiditas dan

mortalitas akibat penyakit kardiovaskuler, dan kematian karena sebab lain. Pada

mereka dengan IMT 25-28,9 kg/m² relative risk untuk penyakit kardiovaskuler



sebesar 1,72. Resiko ini meningkat secara progresif dengan bertambahnya IMT.

Dengan IMT lebih dari 33 kg/m^2 , relative risk menjadi 3,44. Tren yang sama juga

terdapat pada keterkaitan antara obesitas dengan stroke dan gagal jantung kronis.

Obesitas juga terkait dengan meningkatnya angka mortalitas akibat kanker sebesar 2 kali lipat.¹⁴

Yang terpenting dan sering ditimbulkan pada kondisi ini adalah hipertensi,

diabetes tipe 2, hiperlipidemia, penyakit jantung koroner, penyakit degeneratif

sendi dan *psychosocial disability*. Keganasan tertentu (seperti colorectal dan

prostat pada pria; uterus, tractus biliaris, payudara dan ovarium pada wanita)

penyakit tromboemboli, penyakit tractus digestivus (seperti batu empedu dan

reflux esophagitis) dan kelainan kulit juga prevalensinya sering dijumpai pada

obesitas.⁴³

Resiko operasi juga meningkat pada obesitas. Hal ini dikarenakan pasien

obesitas juga memiliki resiko tinggi mengalami penurunan fungsi paru,

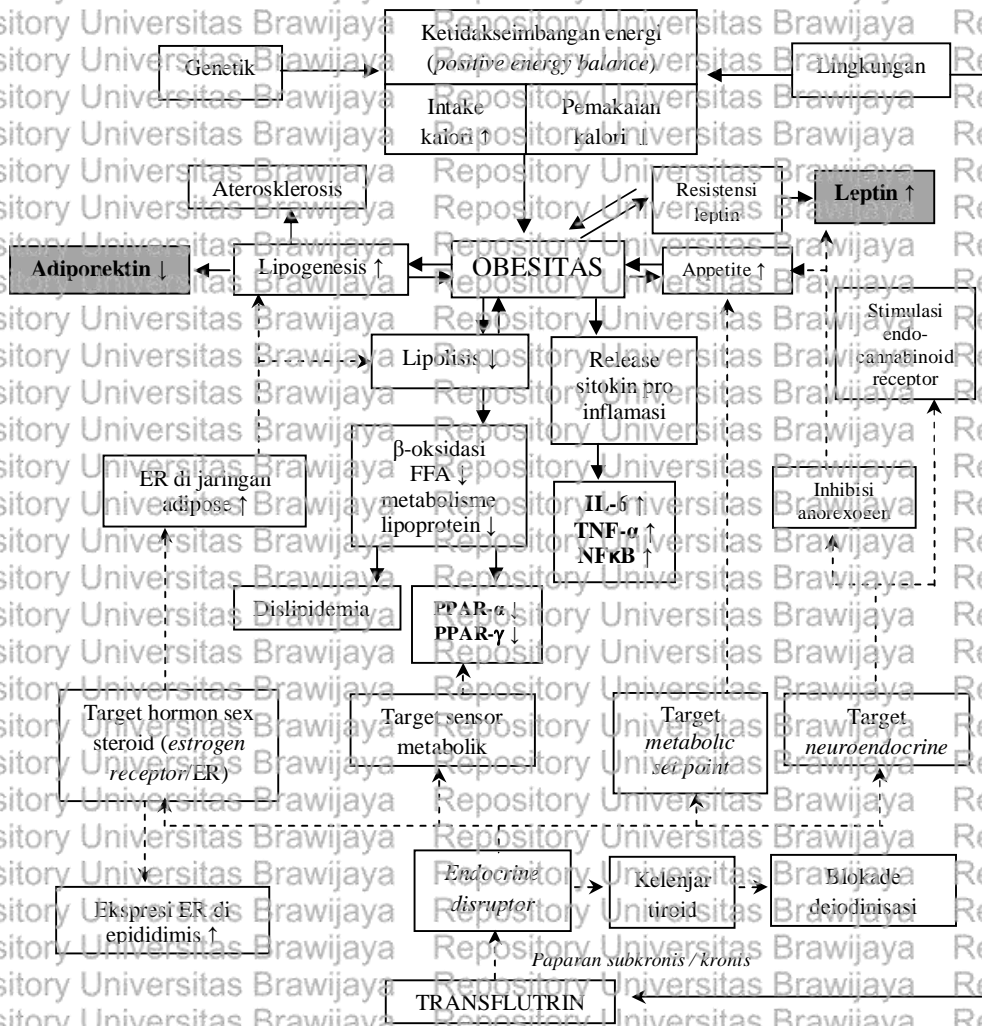
abnormalitas endokrin, proteinuria, dan peningkatan kadar hemoglobin.⁴³



BAB III

KERANGKA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

Keterangan :

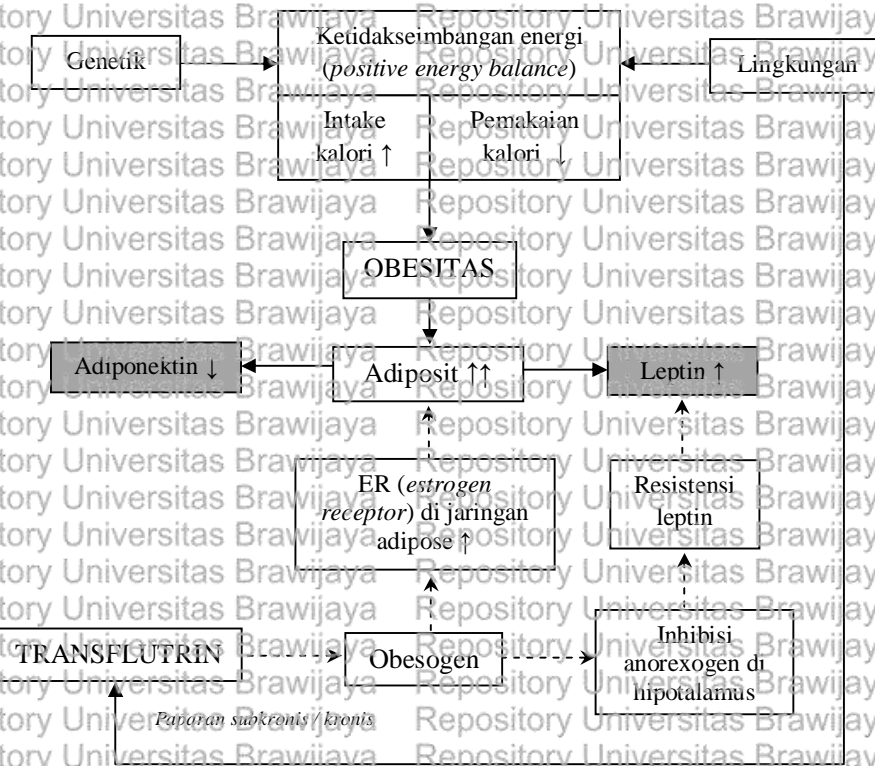
---> : Jalur transflutrin menyebabkan kekacauan sistem endokrin



: Variabel yang diteliti



3.2 Kerangka Teori



Gambar 3.2 Kerangka Teori

Keterangan:

- ▶ Jalur transflutrin menyebabkan kekacauan sistem endokrin
- ▭ Variabel yang diteliti



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental *in vivo* dengan menggunakan metode *post test only control group design*. Untuk mengetahui efek paparan sub kronis transfluthrin terhadap terjadinya obesitas pada tikus putih (*Rattus norvegicus*).

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Waktu pelaksanaan dimulai bulan Maret hingga Mei 2014. Penelitian dilaksanakan di laboratorium faal dan laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Pemilihan Sampel dan Estimasi Besar Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan subyek penelitian tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan pertimbangan agar sampel lebih homogen, dengan kriteria inklusi tikus putih jantan dewasa, berumur 100-200 hari dengan berat 200-300 gram, kondisi sehat. Kriteria eksklusi adalah semua tikus yang sakit atau mati selama penelitian.

Tikus putih yang dipapar senyawa insektisida transfluthrin selama 8 minggu dengan beberapa dosis berbeda terbagi dalam 4 kelompok paparan dan 1 kelompok kontrol negatif. Banyaknya pengulangan berdasarkan rumus:⁴⁴



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

Dengan p = jumlah kelompok perlakuan, n = jumlah pengulangan untuk setiap kelompok perlakuan.

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

sehingga minimal dilakukan 4 kali pengulangan. Pada penelitian ini sampel yang digunakan berjumlah 7 ekor per kelompok.

4.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas : Berbagai dosis paparan senyawa insektisida transflutrin.

Variabel tergantung : Kadar leptin dan adiponektin.

4.5 Bahan dan Instrumen Penelitian

Bahan paparan transflutrin: senyawa transflutrin 250 mg, kemurnian *research grade* dilarutkan dalam n-hexana 2,5 liter. Alat paparan transflutrin: sprayer dan *inhalation chamber*.

Bahan dan alat untuk pengukuran kadar adiponektin: adiponektin *microplate*, adiponektin standar, adiponektin kontrol, adiponektin konjugat, *assay diluent*, *RDIW*, *wash buffer*, reagen pewarna A, reagen pewarna B, larutan stop, *plate sealer*, pembaca *microplate* yang mampu mengukur tingkat absorpsi pada 450 nm, pipet dan ujung pipet, air suling, botol penyemprot, *manifold dispenser*, *horizontal orbital microplate shaker* yang mampu mempertahankan kecepatan



500 ± 50 rpm, 100cc dan 500cc *graduated cylinder*, test tube untuk standar dan sampel dilusi.

Bahan dan alat untuk pengukuran kadar leptin: leptin *microplate*, leptin standar, leptin kontrol, leptin konjugat, *assay diluent RDI W*, *wash buffer*, reagen pewarna A, reagen pewarna B, larutan stop, *plate sealer*, pembaca *microplate* yang mampu mengukur tingkat absorpsi pada 450 nm, pipet dan ujung pipet, air suling, botol penyemprot, *manifold dispenser*, *horizontal orbital microplate shaker*, 1000 cc *graduated cylinder*, polypropylene test tube untuk standar dan sampel dilusi.

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Proses Perlakuan Pada Tikus

Tikus diadaptasi di dalam kandang yang diletakkan di laboratorium parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama 7 hari pada suhu ruangan (20-25°C). Tempat pemeliharaan tikus terbuat dari kandang plastik berukuran 42x30x15 cm yang masing-masing memuat 3-4 ekor, dengan alas sekam yang bersih dan kering. Penutup kandang terbuat dari anyaman kawat, serta terdapat botol air dan tempat pakan tikus dengan diet normal. Pada awal percobaan, semua tikus ditimbang berat badannya dan dilakukan randomisasi agar setiap tikus mendapat peluang yang sama.

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan *simple random sampling*, yaitu kontrol negatif (kelompok 1), kontrol pelarut n-hexana (kelompok 2), perlakuan transflutrin 0,5 mg (kelompok 3), perlakuan transflutrin 1 mg (kelompok 4) dan perlakuan transflutrin 2 mg (kelompok 5). Setelah 60 hari, 1 jam sejak pemaparan



transflutrin, seluruh tikus dikorbankan untuk dilakukan pemeriksaan kadar leptin dan adiponektin lewat sampel darah.

4.6.2 Prosedur Assay Adiponektin

1. Persiapkan seluruh reagen, standar kerja, sampel, dan kontrol.
2. Bersihkan strip *microplate* yang berlebihan pada plate frame, lalu kembalikan ke foil pouch yang terdiri dari *desiccant pack* dan segel ulang.
3. Tambahkan *assay diluent RD1W* pada masing-masing sumur.
4. Tambahkan 50 cc standar, kontrol atau sampel pada masing-masing sumur. Tutup dengan adhesive strip yang telah disediakan. Lalu inkubasi selama 1 jam pada *horizontal orbital microplate shaker* yang diatur 500 ± 50 rpm.
5. Aspirasi tiap sumur dan cuci, lakukan kembali proses tersebut selama 4 kali sehingga mencapai 5 kali pencucian. Cuci dengan cara menuangkan 400 cc wash buffer ke tiap sumur menggunakan botol penyemprot, manifold dispenser, atau autowasher. Setelah akhir pencucian, bersihkan wash buffer yang tersisa dengan aspirasi atau dituangkan. Balikkan plate dan keringkan dengan kertas hisap.
6. Tambahkan 100 cc adiponektin konjugat di tiap sumur, dan tutup dengan adhesive strip baru. Inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang dengan shaker.
7. Ulangi langkah 5.
8. Tambahkan 100 cc larutan substrat pada masing-masing sumur. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan di atas bangku, hindarkan dari paparan sinar matahari.



9. Tambahkan 100 cc larutan stop pada masing-masing sumur. Perlahan ketuk plate untuk memastikan pengadukan secara menyeluruh.

10. Tentukan densitas optik pada masing-masing sumur selama 30 menit, menggunakan pembaca microplate yang diatur pada 450 nm. Jika koreksi *wavelength* tersedia, atur pada 540 atau 570 nm. *Subtraction* akan mengoreksi ketidaksempurnaan optik pada plate. Pembacaan dilakukan langsung pada 450 nm tanpa koreksi dapat menghasilkan akurasi yang lebih tinggi atau sebaliknya.

4.6.3 Prosedur Assay Leptin

1. Persiapkan seluruh reagen, standar kerja, sampel, dan kontrol.
2. Bersihkan strip *microplate* yang berlebihan pada plate frame, lalu kembalikan ke foil pouch yang terdiri dari *dessicant pack* dan segel ulang.
3. Tambahkan *assay diluent RD1W* pada masing-masing sumur.
4. Tambahkan 50 cc standar, kontrol atau sampel pada masing-masing sumur. Campur secara perlahan dengan mengetuk plate frame selama 1 menit, tutup dengan adhesive strip yang telah disediakan. Lalu inkubasi selama 2 jam pada suhu ruangan.
5. Aspirasi tiap sumur dan cuci, lakukan kembali proses tersebut selama 4 kali sehingga mencapai 5 kali pencucian. Cuci dengan cara menuangkan 400 cc buffer pencuci ke tiap sumur menggunakan botol penyemprot, manifold dispenser, atau autowasher. Setelah akhir pencucian, bersihkan wash buffer yang tersisa dengan aspirasi atau dituangkan. Balikkan plate dan keringkan dengan kertas hisap.



6. Tambahkan 100 cc leptin konjugat di tiap sumur, dan tutup dengan adhesive strip baru. Inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang.

7. Ulangi langkah 5.

8. Tambahkan 100 cc larutan substrat pada masing-masing sumur. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruangan, hindarkan dari paparan sinar matahari.

9. Tambahkan 100 cc larutan stop pada masing-masing sumur. Perlahan ketuk plate untuk memastikan pengadukan secara menyeluruh.

10. Tentukan densitas optik pada masing-masing sumur selama 30 menit menggunakan pembaca microplate yang diatur pada 450 nm. Jika koreksi *wavelength* tersedia, atur pada 540 atau 570 nm. *Subtraction* akan mengkoreksi ketidaksempurnaan optik pada plate. Pembacaan dilakukan langsung pada 450 nm tanpa koreksi dapat menghasilkan akurasi yang lebih tinggi atau sebaliknya.

4.7 Definisi Operasional

1. Tikus putih yang digunakan untuk kelompok perlakuan dan kontrol positif adalah jenis *Rattus norvegicus* jantan dewasa dengan berat antara 200-300 gram dan umur 100-200 hari. Dilakukan pembiakan dan pengambilan sampel secara random untuk mengurangi bias genetik pada tikus.

2. Transflutrin adalah salah satu bahan aktif yang digunakan pada obat nyamuk dengan brand Santa Cruz. Yang digunakan dalam penelitian ini adalah transflutrin sediaan 250 mg dengan kemurnian *research grade*.



3. Paparan subkronik adalah paparan dengan rentang waktu 30-180 hari dalam waktu 1-6 jam perhari, 5-7 hari seminggu.⁴⁵ Dalam penelitian ini menggunakan waktu 60 hari, 1 jam per hari, 6 hari seminggu.

4. Anorexogenic adalah zat yang dapat menghilangkan atau menekan rasa lapar.³⁶ Dalam penelitian ini efek inhibisi anorexogen dinilai dari kadar leptin.

5. Kadar leptin sebagai penanda inhibisi anorexogen dinilai dengan pemeriksaan metode Quantikine Rat Leptin Immunoassay ELISA kit, yaitu perhitungan 4,5 jam solid phase ELISA yang didesain untuk pengukuran leptin pada serum tikus rattus dengan nomer katalog E0561Ra. Nilai normal ditentukan berdasarkan hasil $\text{mean} \pm \text{SD}$ dari masing-masing kelompok.

6. Obesogen adalah zat kimia yang meregulasi dan merangsang penumpukan lemak dan adipogenesis.⁷ Dalam penelitian ini aktivitas adipogenesis dinilai dari kadar adiponektin.

7. Kadar adiponektin merupakan sitokin anti inflamasi. Sebagai penanda aktivitas adipogenesis dinilai dengan pemeriksaan metode Quantikine Rat Adiponectin Immunoassay ELISA kit, yaitu perhitungan 2,5 jam solid phase ELISA untuk pengukuran kadar adiponektin pada serum tikus rattus dengan nomer katalog E0758Ra. Nilai normal ditentukan berdasarkan hasil $\text{mean} \pm \text{SD}$ dari masing-masing kelompok.

4.8 Analisa Statistik

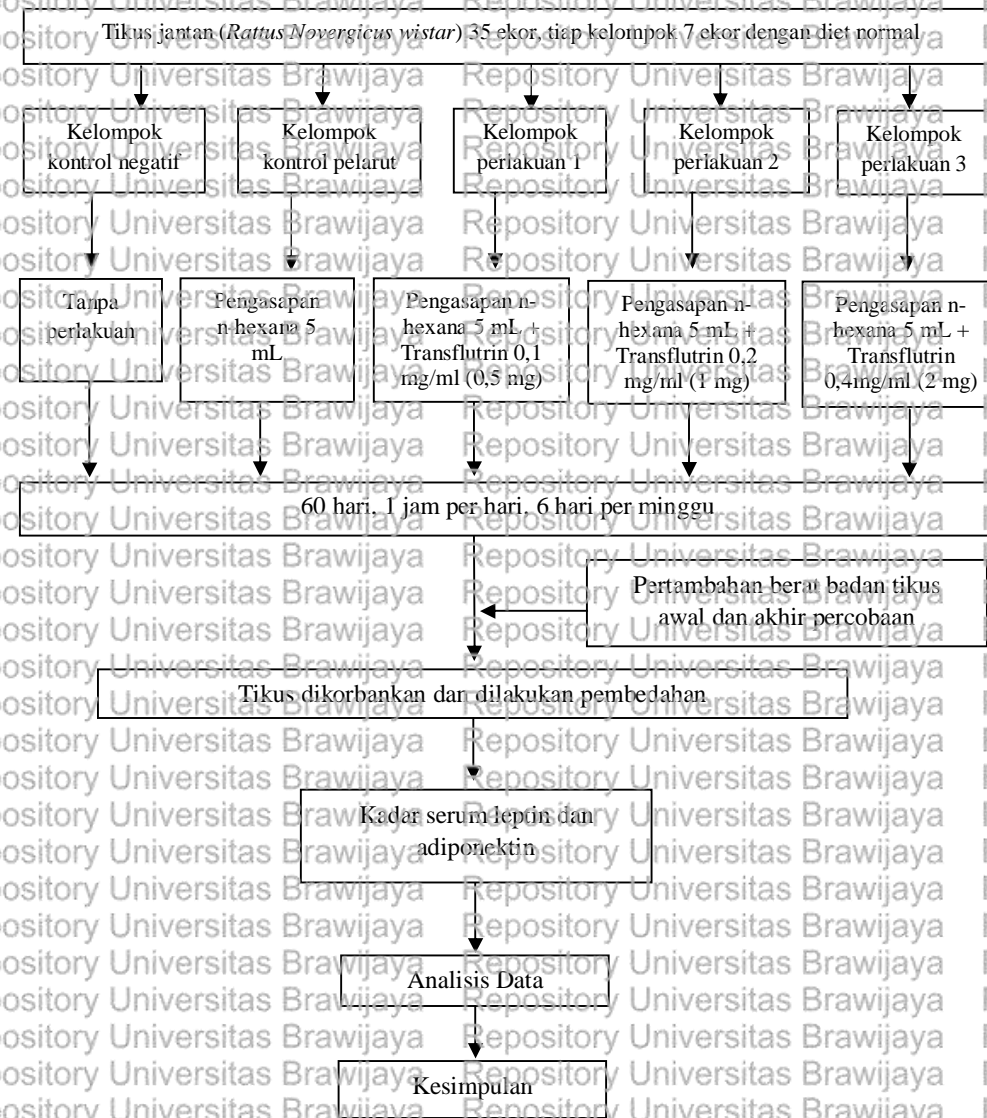
Hasil penelitian disajikan dalam bentuk rerata \pm SD. Selanjutnya akan dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov. Uji parametrik *one-way ANOVA* dan *post hoc test* digunakan untuk membandingkan



perbedaan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol. Uji korelasi dipakai untuk melakukan uji statistik, dimana analisis Pearson digunakan untuk menilai hubungan antara dua variabel data penelitian yang terdistribusi normal. Uji regresi dipakai untuk melihat seberapa besar perubahan variabel independen dapat menjelaskan variabel dependen. Tingkat signifikansi ditentukan pada p kurang dari 0.05 dan interval kepercayaan ditentukan pada tingkat 95%. Data dianalisis menggunakan spss versi 17.



4.9 Alur Penelitian





BAB V
HASIL PENELITIAN

Selama penelitian ini berlangsung, masing-masing 1 ekor tikus dari kelompok perlakuan 2 dan 3 mengalami kejang selama ± 1 menit dan 1 ekor tikus dari kelompok perlakuan 2 mengalami kematian. Petugas penelitian juga mengalami gangguan mual dan *dizziness* saat awal pertama kali penyemprotan transflutrin berlangsung.

Dari 35 tikus putih yang mendapat perlakuan pada penelitian ini, satu ekor tikus dieksklusi karena mati saat penelitian berlangsung. Pada pengukuran parameter kadar leptin dan adiponektin, terdapat beberapa data ekstrem dan dieksklusi saat perhitungan statistik. Hasil pengukuran parameter kadar serum leptin, serum adiponektin dan pertambahan berat badan pada tiap kelompok penelitian dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Pengukuran Berbagai Parameter Penelitian pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan

Parameter	Nilai Statistik	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	Perlakuan 1	Perlakuan 2	Perlakuan 3
Kadar serum leptin	Mean±SD 95% CI	46,63±17,73 27,99-65,26	187,87±23,1	55,08±13,47	61,71±9,37	82,87±33,51
Kadar serum adiponektin	Mean±SD 95% CI	31,85±11,79 19,47-44,23	7,4±2,46 4,82-9,98	12,54±2,98 9,41-15,67	7,25±1,04 6,16-8,34	3,29±1,66 1,55-5,04
Pertambahan berat badan	Mean±SD 95% CI	201,66±31,3	158,33±40,2	160±41,95	163,33±38,82	180±21,91

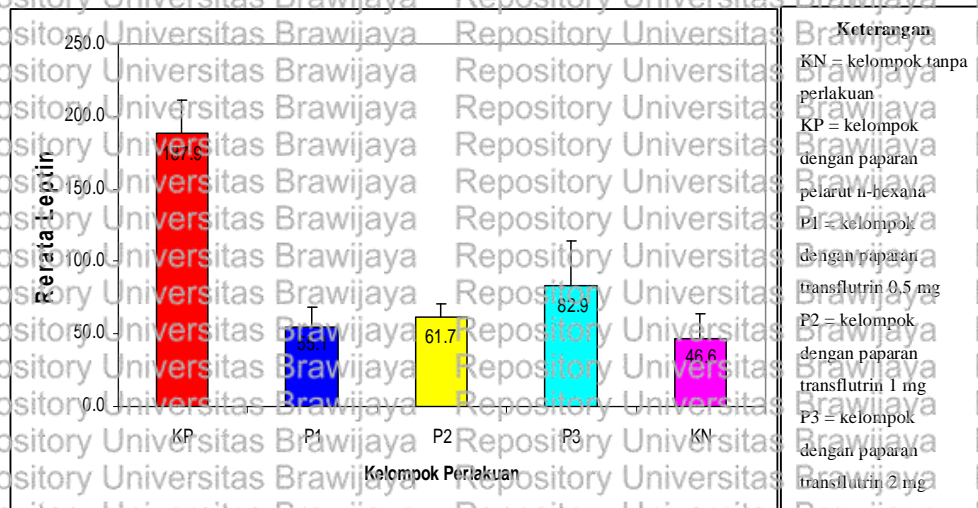


Berdasarkan tabel di atas, kadar serum leptin tertinggi pada kelompok kontrol positif dan kadar adiponektin terendah pada kelompok perlakuan 3.

Walaupun demikian, terdapat kecenderungan peningkatan kadar serum leptin pada kelompok perlakuan yang sebanding dengan semakin bertambahnya dosis transflutrin. Dan terdapat kecenderungan penurunan kadar serum adiponektin yang berbanding terbalik dengan semakin bertambahnya dosis transflutrin. Tidak terdapat perbedaan rerata pertambahan berat badan tikus pada kelima kelompok.

5.1 Perbandingan Kadar Serum Leptin Pada Masing-Masing Kelompok

Pengukuran kadar serum leptin menunjukkan kadar tertinggi pada kelompok kontrol positif, yaitu kelompok yang mendapat paparan pelarut n-hexana, dan menurun secara berurutan pada kelompok yang mendapat paparan transflutrin dosis 2 mg, 1 mg, 0,5 mg dan tanpa perlakuan. Kelompok kontrol negatif menunjukkan kadar serum leptin terendah dibanding kelompok lainnya. Dari uji *post hoc* didapatkan kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif dan perlakuan 3, sedangkan kelompok kontrol positif berbeda signifikan dengan semua kelompok.

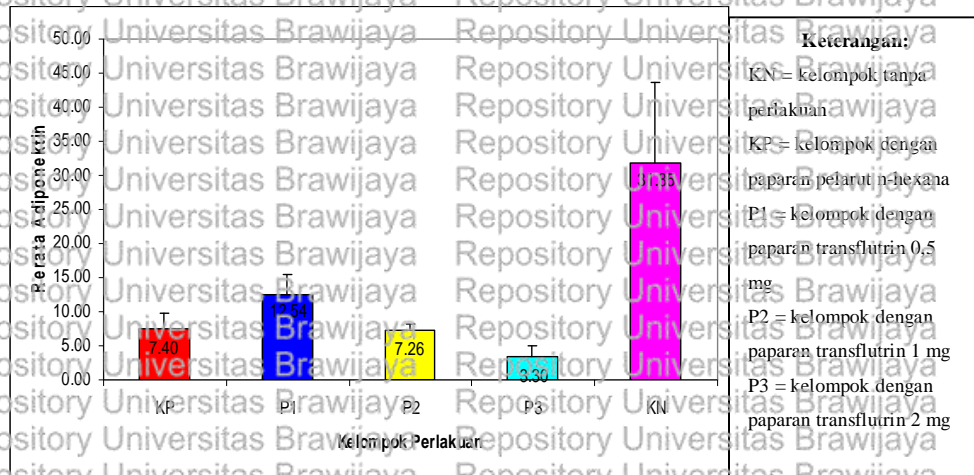


Gambar 5.1 Perbandingan Kadar Serum Leptin Pada Berbagai Kelompok Perlakuan.

5.2 Perbandingan Kadar Serum Adiponektin Pada Masing-Masing Kelompok

Pengukuran kadar serum adiponektin menunjukkan kadar tertinggi pada kelompok kontrol negatif, yaitu kelompok tanpa paparan, dan menurun secara berurutan pada kelompok yang mendapat paparan transflutrin dosis 0,5 mg pelarut n-hexana dan paparan transflutrin 1 mg. Kelompok perlakuan 3 menunjukkan kadar serum adiponektin terendah dibanding kelompok lainnya.

Dari uji *post hoc* didapatkan kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan semua kelompok, sedangkan kelompok kontrol positif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif, perlakuan 1 dan perlakuan 3.



Gambar 5.2 Perbandingan Kadar Serum Adiponektin Pada Berbagai Kelompok Perlakuan.

5.3 Hubungan Antara Kadar Serum Leptin dan Adiponektin Pada Masing-Masing Kelompok Perlakuan

Adanya pengaruh signifikan pemberian dosis perlakuan terhadap peningkatan rerata kadar serum leptin dan penurunan rerata kadar serum adiponektin ditunjukkan pada grafik di bawah ini.



Gambar 5.3 Grafik linieritas antara kadar adiponektin terhadap kadar leptin.



Pada grafik di atas (gambar 5.3), hasil uji korelasi antara kadar serum adiponektin terhadap leptin menunjukkan hubungan yang signifikan dengan nilai koefisien korelasi negatif sebesar $-0,54$ dan $p = 0,02$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar serum leptin maka akan diikuti dengan menurunnya kadar serum adiponektin, demikian pula sebaliknya.



BAB VI PEMBAHASAN

6.1. Efek *Endocrine Disruptor* Dari Transflutrin Terhadap Timbulnya Obesitas

Transflutrin sebagai zat golongan *pyrethroid* yang bersifat lipofilik,^{4,5} merupakan satu dari 926 pestisida yang memiliki efek *endocrine disruptor*.³

Berdasarkan hasil penelitian pendahulu oleh Arieska dkk menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi transflutrin yang dipaparkan maka ekspresi estrogen reseptor α semakin meningkat sebanding dengan konsentrasi transflutrin yang dipaparkan.¹⁷ Hal ini sejalan tentang konsep pemahaman mekanisme aksi EDC yang dikemukakan oleh Diamanti-Kandarakis *et al* dimana EDC bekerja melalui reseptor *nuclear hormone* termasuk di antaranya reseptor estrogen, reseptor androgen, reseptor progesteron, reseptor tiroid dan reseptor retinoid. Dampak EDC terhadap jaringan adiposa mungkin terjadi melalui modulasi langsung terhadap lipogenesis, lipolisis dan adipogenesis atau secara tidak langsung dengan mempengaruhi konsumsi pangan dan sekresi leptin di sistem saraf pusat.²⁰ Hatch *et al* menyebutkan mekanisme yang berkaitan antara EDC dan obesitas termasuk efek hormon steroid dan tiroid, dan aktivasi PPAR yang berperan besar dalam diferensiasi adiposit dan penyimpanan energi.²³ Hingga saat ini belum didapatkan data penelitian yang membuktikan efek *endocrine disruptor* dari transflutrin terhadap timbulnya obesitas.



Pada penelitian ini didapatkan tren penambahan berat badan dari awal dan akhir penelitian, namun tidak terdapat perbedaan antar kelompok tikus jantan ($p > 0,05$). Hal ini sejalan dengan hasil studi Newbold *et al* yang membuktikan bahwa penambahan berat badan ini didahului oleh peningkatan kadar leptin, IL-6, trigliserida dan perubahan signaling insulin. Paparan DES, sebagai obesogen lingkungan, dosis tinggi (1 mg/kg) yang diberikan pada tikus betina yang baru lahir selama periode differensiasi adiposit awalnya menyebabkan penurunan berat badan, tetapi pada usia 2 bulan kehidupan diikuti dengan periode *catch-up growth* dan pembesaran bantalan lemak abdomen yang persisten.²⁵ Grun *et al* menyatakan bahwa penambahan berat badan sebagai perubahan signifikan lain yang muncul pada paparan DES terhadap tikus yang baru lahir. Namun paparan DES terhadap tikus jantan tidak menimbulkan efek obesitas melainkan penurunan berat badan yang tergantung dosis, menggarisbawahi pentingnya pengaruh gender yang berperan pada hasil yang berlawanan ini.⁸

6.2 Hubungan Paparan Translitutrin Terhadap Kadar Serum Leptin

Terdapat tren peningkatan kadar serum leptin yang meningkat terutama pada kelompok perlakuan 3 yang mendapat paparan translitutrin 2 mg/l n-hexana pada penelitian ini namun pada hasil statistik tidak bermakna ($p > 0,05$). Berbeda dengan prediksi kami, peningkatan kadar serum leptin tertinggi justru didapatkan pada kelompok kontrol positif yang mendapat paparan pelarut n-hexana. Hal ini mungkin didasari efek neurotoksik yang terdapat pada n-hexana, sedangkan leptin



sebagai neuroendokrin memiliki titik kerja di hipotalamus, adiposit, sel beta pankreas dan sel imun.

N-hexana memiliki rumus molekul C_6H_{14} dan tergolong dalam *aliphatic hydrocarbon*. Zat ini sering digunakan sebagai pelarut dan banyak terkandung dalam minyak tanah dan bensin.^{46,47} Sebagai pelarut, zat ini selain memiliki efek iritasi lokal pada mata dan saluran nafas, juga efek sistemik terutama pada sistem saraf pusat. Zat neurotoksik pada umumnya bersifat larut dalam lemak, yang memudahkannya melewati sawar otak dan memasuki sistem saraf.^{46,48}

Cavender *et al* membuktikan pada penelitian efek paparan per inhalasi n-hexana dengan kemurnian 99,5% menggunakan tikus selama 13 minggu, didapatkan axonopati pada daerah nervus tibialis dan medulla ditemukan paparan dosis 10.000 ppm, disamping penurunan berat otak yang perlahan namun signifikan. Pada studi tersebut juga menemukan penurunan rata-rata berat badan kelompok tikus jantan yang mendapat 10.000 ppm pada observasi 4 minggu perlakuan dan seterusnya, yang tidak dijumpai pada kelompok tikus betina. Studi ini mengidentifikasi bahwa n-hexana memiliki NOAEL (*no observable adverse effect level*) untuk efek neurotoksik pada dosis 3000 ppm, dengan rerata dosis paparan uji coba sebesar 540 ppm.⁴⁹ OEHHA (*office of environmental health hazard assesment*) menyatakan bahwa tikus rattus yang mendapat paparan inhalasi 400-600 ppm n-hexana mengalami neuropati perifer, *giant axonal swelling* dan degenerasi serabut saraf pada sistem saraf tepi dan pusat setelah 45 hari.⁴⁷ US EPA (*united state environmental protection agency*) menyatakan bahwa paparan kronis n-hexana berhubungan dengan polineuropati sensorimotor



pada manusia dan efek neurotoksik pada tikus.⁵⁰ Di samping berhubungan dengan sensorik dan motorik distal axonal neuropati, n-hexana pada dosis tinggi mampu menyebabkan depresi sistem saraf pusat sehingga menghasilkan nyeri kepala, dizziness, dan gangguan gastrointestinal. Efek toksisitas ini dapat dipotensiasi oleh metil etil keton. Pada hewan coba zat ini menyebabkan toksisitas pada testis.⁴⁸

Sebagai hormon yang memegang peran besar *signaling* ke otak dalam pengaturan simpanan energi, pada kondisi obesitas kadar leptin meningkat secara proporsional dengan massa lemak.¹² Basic *et al* menyebut pada obesitas juga muncul gangguan fungsi leptin dan hormon-hormon lainnya. Mammes *et al* melaporkan munculnya mutasi gen LEP berhubungan dengan obesitas dan menyebabkan peningkatan kadar leptin dan rendahnya penurunan berat badan.⁵¹

PPAR γ meningkatkan ekspresi leptin di adiposit dan kadar leptin dapat meningkat pada diet tinggi lemak.⁵² Kadar serum leptin juga dapat meningkat pada pemberian glucocorticoid, stimulasi angiotensin II dan insulin, serta tindakan tiroidektomi.^{53,54}

6.3 Hubungan Paparan Transflutrin Terhadap Kadar Serum Adiponektin

Pada penelitian ini didapatkan tren penurunan kadar serum adiponektin terutama pada kelompok perlakuan 3 yang mendapat paparan transflutrin 2 mg + n-hexana namun pada data hasil statistik tidak bermakna ($p > 0,05$). Disebutkan bahwa penurunan kadar adiponektin dalam plasma sering dikaitkan dengan obesitas, resistensi insulin dan penyakit kardiovaskuler.³² Kadar adiponektin yang beredar dalam darah berkorelasi negatif dengan penambahan massa lemak.¹² Studi Arita *et al* dan Weyer *et al* menyatakan adiponektin yang diproduksi oleh



jaringan adipose, kadar dalam plasma menurun pada individu obese, dan pasien diabetes tipe 2.^{55,56} Milan *et al* juga membuktikan bahwa ekspresi adiponektin menurun secara signifikan pada lemak visceral tikus obese, dan kembali normal dengan penurunan berat badan.⁵⁷

6.4 Keterkaitan Kadar Serum Leptin dan Adiponektin Terhadap Paparan Transflutrin

Terdapat hubungan terbalik yang bermakna antara kadar serum leptin dan adiponektin dalam penelitian ini ($p < 0.05$). Matsubara *et al* menyatakan bahwa adiponektin memiliki hubungan terbalik dengan kadar serum leptin, IMT, *fasting immunoreactive insulin*, dan massa lemak tubuh.⁵⁸ Baik leptin maupun adiponektin merupakan protein yang dihasilkan oleh sel adiposit dimana leptin bersifat pro-atherogenik, sedangkan adiponektin bersifat anti-atherogenik.⁵⁹ Pada individu obese terdapat peningkatan kadar leptin dan penurunan kadar adiponektin disamping pemakaian energi dan appetite yang tidak terkontrol sehingga mengarah pada kondisi resistensi leptin yang bertanggung jawab pada rasa lapar yang persisten dan kesulitan dalam menurunkan berat badan.^{10,34}



DAFTAR PUSTAKA

1. Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. Our stolen future: are we threatening our fertility, intelligence, and survival? A scientific detective story with a new epilogue. Dianne Dumanoski JPM, editor. Plume; 1997.
2. Heimeier RA, Das B, Buchholz DR. The Xenoestrogen Bisphenol A Inhibits Postembryonic Vertebrate Development by Antagonizing Gene Regulation by Thyroid Hormone. *Endocrinology*. 2009;**150**:2964-73
3. Wylie, PL. Screening for 926 pesticides and endocrine disruptors by GC/MS with deconvolution reporting software and a new pesticide library: Application note. *Agilent technologies*. 2006;**18**:1-18.
4. Taranta C, Mansour P, Bourgogne M, Henriet M. Oil-in-water emulsion formulation of insecticides. *United States Patent Application Publication*. 2002;1-7.
5. WHO. WHO specifications and evaluations for public health pesticides, transfluthrin. In: WHO, editor 2006, p. 20.
6. Cheek AO, McLachlan JA. Environmental hormones and the male reproductive system. *Journal of Andrology*. 1998;**19**(1).
7. Grun F, Blumberg B. Endocrine disrupters as obesogen. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;**304**:11.
8. Casals-Casas C, et al. Interference of pollutant with PPARs: Endocrine disruption meets metabolism. *Int J Obes (Lond)*. 2008;**32**:S53-61.
9. Sugondo, S. Obesitas. In: Sudoyo AW, SB, Alwi I, et al, editor. Buku ajar PAPDI 3. 5 ed. Jakarta: Pusat penerbitan departemen ilmu penyakit dalam FKUI; 2009. p. 1973-82.



26. Lovejoy JC, Sainsbury A. Sex differences in obesity and the regulation of energy homeostasis. *Obesity Review*. 2009;**10**(2):13.

27. Newbold RR, Jefferson WN, Banks EP. Long-term Adverse Effects of Neonatal Exposure to Bisphenol A on the Murine Female Reproductive Tract. *Reprod Toxicol*. 2007;**23**:7.

28. IPCS. Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptor. *Endocrinology and Endocrine Toxicology*. 2002:11-33.

29. Montgomery MP, Kame F, Saldana TM, et al. Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticide applicators: Agricultural health study 1993-2003. *Am J Epidemiol*. 2008;**167**(10):12.

30. De Coster S, Van Larebeke N. Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. *Journal of Environmental And Public Health*. 2012:52.

31. Flier JS, Maratos-Flier E. Biology of obesity. Second Ed. Dan L Longo. ASF editor. China: McGraw-Hill; 2010. 600-9 p.

32. Sasiarini, L. Patogenesis obesitas. In: Achmad Rudianto DWS, Putu Moda Arsana, editor. Malang endocrinology update II: workshop diabetes, obesitas dan dislipidemia; Hotel Santika, Malang 2010.

33. WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. World health organ tech rep. 2000;ser 894;i.

34. Hajer GR, Van Haeften TW, Visseren FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *European Heart Journal*. 2008;**29**:2959-71.



35. Millington, GWM. The role of proopiomelanocortin (POMC) neurones in feeding behaviour. *Nutrition & Metabolism*. 2007;4(18).

36. Dorland, WA. Dorland's illustrated medical dictionary. 29 ed. Philadelphia (Pennsylvania): WB Saunders; 2000.

37. Eikelis, N. Neurobiology of obesity. In: Bagchi B and Preuss HG, editors. Obesity: epidemiology, pathophysiology and prevention. Boca raton: CRC press; 2007.

38. Mercola, J. New revelations support diet and exercise to reverse leptin resistance. Available from URL <http://articles.mercola.com/sites/articles/archive/2012/10/29/leptin-resistance.aspx> [cited August 17 2014]

39. Chua S, Lomax KG, Leibel RE. Molecular genetics of rodent and human single gene mutations affecting body composition. In: Bray GA and Bouchard C, editors. Handbook of obesity: etiology and pathophysiology. Second edition. New York: Marcel dekker; 2003.

40. York, DA. Rodent models of obesity. In: Bray GA and Bouchard C, editors. Handbook of obesity: etiology and pathophysiology. Second edition. New York: Marcel dekker; 2003.

41. Genecards. Leptin receptor. Available from URL <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=LEPR> [cited August 17 2014]

42. Park HK, Ahima RS. Classical hormones linked to obesity. In: Ahima RS, editor. Metabolic basis of obesity. 1. Philadelphia: Springer; 2011. p. 139-54.



43. Baron, RB. Nutrition. 43 ed. Tierney Jr LM MS, Papadakis MA, editor. New York: McGraw Hill; 2004. 1215-7 p.
44. Solimun. Diklat metodologi peneliti IKIP dan PKM kelompok agrokompleks. 2001.
45. Dorato M. Overview of Inhalation Toxicology. [serial online] Available from URL: <http://www.ehponline.org/members/1990/085/85022> [cited September 11th 2013].
46. OEHHA. Chronic toxicity summary: N-Hexane. Available from URL: <http://oehha.ca.gov/air/chronictoxicitysummarynhexana/110543.pdf> [cited July 3rd 2014].
47. Canadian soil quality guideline for the protection of environmental and human health. N-hexana. Available from URL: <http://ceqg-rcqe.ccm.ca> [cited July 4th 2014].
48. Indra MR. Peningkatan kadar leptin dengan PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) melalui aktivasi *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* pada kultur preadiposit kelinci. Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. XXI, No.2, Agustus 2005.
49. Koh KK, Park SM, Quon MJ. Leptin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *Circulation*. 2008;117:3238-3249
50. Escobar-Morreale HF, et al. Thyroid hormones influence serum leptin concentrations in the rat. *Endocrinology*. 1997 Oct;138(10):4485-8.



51. Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *European Journal of Endocrinology* (2002) 147:173-180.
52. Cope WG, Leidy RB, Hodgson E. Classes of toxicant: use classes. In: Hodgson E, editor. *A textbook of modern toxicology*. Third edition. New Jersey: John Wiley and sons; 2004. P.49-70.
53. Leblanc GA. Endocrine system. In: Hodgson E, editor. *A textbook of modern toxicology*. Third edition. New Jersey: John Wiley and sons; 2004. P.299-315.
54. Basic M, Butorac A, Jurvevic IL, *et al.* Obesity: genome and environment interaction. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012;63:395-405.
55. Cavender FL, Casey HW, Salem H, *et al.* A 13-week vapor inhalation study of n-hexane in rats with emphasis on neurotoxic effects. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1984;4(2 Pt 1):193-201.
56. Olson KR, Tharratt RS. Emergency medical response to hazardous material incident. In: Olson KR, editor. *Poisoning and drug overdose*. New York: Lange medical books/McGraw-Hill; 2007. P.520-640.
57. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, *et al.* Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257:79-83.
58. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, *et al.* Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:1930-1935.



LAMPIRAN 1.

Hasil Pengolahan Statistik
Case Summaries

	Kelompok Perlakuan	Leptin	Adiponectin	Pertambahan Berat Badan Tikus	Leptin (log)	Adiponectin (log)
1	KP	211.25	80.33	120.00	2.32	1.90
2	KP	167.25	99.00	200.00	2.22	2.00
3	KP	213.00	88.67	200.00	2.33	1.95
4	KP	189.50	46.33	110.00	2.28	1.67
5	KP	155.50	45.00	140.00	2.19	1.65
6	KP	190.75	56.67	180.00	2.28	1.75
7	P1	41.75	146.33	200.00	1.62	2.17
8	P1	64.00	107.00	100.00	1.81	2.03
9	P1	43.00	91.00	120.00	1.63	1.96
10	P1	44.25	107.67	180.00	1.65	2.03
11	P1	66.25	158.00	200.00	1.82	2.20
12	P1	71.25	95.00	160.00	1.85	1.98
13	P2	46.50	70.00	200.00	1.67	1.85
14	P2	68.00	62.00	220.00	1.83	1.79
15	P2	64.25	85.00	140.00	1.81	1.93
16	P2	58.50	59.00	120.00	1.77	1.77
17	P2	73.75	60.67	160.00	1.87	1.78
18	P2	59.25	72.00	140.00	1.77	1.86
19	P3	59.50	58.33	140.00	1.77	1.77
20	P3	55.00	39.00	200.00	1.74	1.59
21	P3	139.00	19.00	180.00	2.14	1.28
22	P3	82.75	17.67	200.00	1.92	1.25
23	P3	65.00	22.33	180.00	1.81	1.35
24	P3	96.00	29.00	180.00	1.98	1.46
25	KN	16.25	301.33	200.00	1.21	2.48
26	KN	64.50	178.33	220.00	1.81	2.25
27	KN	62.25	493.33	180.00	1.79	2.69
28	KN	38.00	257.00	200.00	1.58	2.41
29	KN	49.50	335.67	210.00	1.69	2.53
30	KN	49.25	224.33	200.00	1.69	2.35
Total	N	30	30	30	30	30

Ca. Limited to first 100 cases.



Uji Asumsi Normalitas Sebaran Data

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Leptin	Adiponectin	Pertambahan Berat Badan Tikus
N		30	30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	86.8333	116.8330	172.6667
	Std. Deviation	56.15106	108.11859	35.12866
Most Extreme Differences	Absolute	.292	.267	.216
	Positive	.292	.267	.124
	Negative	-.159	-.180	-.216
Kolmogorov-Smirnov Z		1.600	1.463	1.183
Asymp. Sig. (2-tailed)		.012	.028	.122

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Leptin (log)	Adiponectin (log)	Pertambahan Berat Badan Tikus
N		30	30	30
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.8625	1.9222	172.6667
	Std. Deviation	.25789	.35952	35.12866
Most Extreme Differences	Absolute	.192	.113	.216
	Positive	.192	.113	.124
	Negative	-.108	.086	-.216
Kolmogorov-Smirnov Z		1.051	.620	1.183
Asymp. Sig. (2-tailed)		.220	.836	.122

a. Test distribution is Normal.
b. Calculated from data.

Uji Asumsi Homogenitas Variansi Data

Test of Homogeneity of Variances

Leptin (log)				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2.412	4	25	.076	

Test of Homogeneity of Variances

Adiponectin (log)				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
2.396	4	25	.077	



Test of Homogeneity of Variances

Pertambahan Berat Badan Tikus

Levene				
Statistic	df1	df2	Sig.	
2.662	4	25	.056	

Uji Analisis Of Variance (ANOVA)

a. Leptin (log)

Oneway

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KP	6	2.2711	.05454	.02227	2.2138	2.3283	2.19	2.33
P1	6	1.7300	.10727	.04379	1.6175	1.8426	1.62	1.85
P2	6	1.7850	.06916	.02823	1.7133	1.8585	1.67	1.87
P3	6	1.8951	.15153	.06186	1.7361	2.0542	1.74	2.14
KN	6	1.6302	.22157	.09045	1.3977	1.8627	1.21	1.81
Total	30	1.8625	.25789	.04708	1.7662	1.9588	1.21	2.33

ANOVA

Leptin (log)		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		1.472	4	.368	20.151	.000
Within Groups		1.457	25	.059		
Total		2.929	29			



Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Leptin (log)
Tukey HSD

(I) Kelompok Perlakuan	(J) Kelompok Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KP	P1	.54103*	.07803	.000	.3119	.7702
	P2	-.48515*	.07803	.000	-.2560	-.7143
	P3	-.37592*	.07803	.001	-.1468	-.6051
KN	KP	.64083*	.07803	.000	.4117	.8700
	P1	-.54103*	.07803	.000	-.7702	-.3119
	P2	-.05588	.07803	.951	-.2850	.1733
P1	KN	.09981	.07803	.706	-.1293	.3290
	P2	-.48515*	.07803	.000	-.7143	-.2560
	P3	-.05588	.07803	.951	-.2850	.1733
P2	KN	-.10923	.07803	.633	-.3384	.1199
	P1	-.15568	.07803	.297	-.4941	-.1199
	P3	-.37592*	.07803	.001	-.6051	-.1468
P3	KP	.16511	.07803	.245	-.0640	.3943
	P1	-.10923	.07803	.633	-.3384	.1199
	P2	-.15568	.07803	.297	-.4941	-.1199
KN	KN	.26492*	.07803	.018	.0358	.4941
	KP	-.64083*	.07803	.000	-.8700	-.4117
	P1	-.09981	.07803	.706	-.3290	.1293
P1	P2	.15568	.07803	.297	-.1199	.3384
	P3	.26492*	.07803	.018	.0358	.4941
	KN	-.64083*	.07803	.000	-.8700	-.4117
P2	KN	-.09981	.07803	.706	-.3290	.1293
	P1	.15568	.07803	.297	-.1199	.3384
	P3	.26492*	.07803	.018	.0358	.4941

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Leptin (log)

Tukey HSD^a

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = .05	
		2	3
KN	6	1.6302	
P1	6	1.7300	1.7300
P2	6	1.7859	1.7859
P3	6		1.8951
KP	6		2.2711
Sig.		.297	.245

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

^a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.



b. Adiponektin

Oneway

Adiponectin (log)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KP	6	1.8201	.14859	.06066	1.6642	1.9761	1.65	2.00
P1	6	2.0604	.09899	.0404	1.9555	2.1643	1.96	2.20
P2	6	1.8297	.05997	.02448	1.7657	1.8926	1.77	1.93
P3	6	1.4490	.20025	.08175	1.2389	1.6592	1.25	1.77
KN	6	2.4517	.15274	.06236	2.2914	2.6120	2.25	2.69
Total	30	1.9222	.35952	.06564	1.7879	2.0564	1.25	2.69

Descriptives

ANOVA

Adiponectin (log)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.254	4	.813	41.124	.000
Within Groups	495	25	.020		
Total	3.748	29			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Adiponectin (log)

Tukey HSD

(I) Kelompok Perlakuar	(J) Kelompok Perlakuar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KP	P1	-.24025*	.08120	.048	-.4787	.0018
	P2	-.00956	.08120	1.000	-.2430	.2289
	P3	-.37108*	.08120	.001	-.4326	-.6096
	KN	-.63157*	.08120	.000	-.8700	-.3931
P1	KP	.24025*	.08120	.048	.0018	.4787
	P2	.23069	.08120	.061	-.0078	.4692
	P3	.61133*	.08120	.000	.3729	.8498
	KN	-.39132*	.08120	.001	-.6298	-.1528
P2	KP	.00956	.08120	1.000	-.2239	.2480
	P1	.23069	.08120	.061	-.4592	.0078
	P3	.38064*	.08120	.001	.1422	.6191
	KN	-.62201*	.08120	.000	-.8605	-.3835
P3	KP	-.37108*	.08120	.001	-.6096	-.1326
	P1	-.61133*	.08120	.000	-.8498	-.3729
	P2	-.38064*	.08120	.001	-.6191	-.1422
	KN	-1.00265*	.08120	.000	-1.2411	-.7642
KN	KP	.63157*	.08120	.000	.3931	.8700
	P1	.39132*	.08120	.001	.1528	.6298
	P2	.62201*	.08120	.000	.3835	.8605
	P3	1.00265*	.08120	.000	.7642	1.2411

* The mean difference is significant at the .05 level.



Homogeneous Subsets

Adiponectin (log)

Tukey HSD^a

Kelompok Perlakuan	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
P3	6	1,4490			
KP	6		1,8201		
P2	6		1,8297	1,8297	
P1	6			2,0604	
KN	6				2,4517
Sig.		1,000	1,000	,061	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6,000.

c. Pertambahan Berat Badan

Oneway

Descriptives

Pertambahan Berat Badan Tikus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
KP	6	158.3333	40.20779	16.41476	116.1378	200.5288	110.00	200.00
P1	6	160.0000	41.95235	17.12698	115.9737	204.0263	100.00	200.00
P2	6	163.3333	38.81530	15.84649	122.5986	204.0680	120.00	220.00
P3	6	180.0000	21.90890	8.94427	157.0080	202.9920	140.00	200.00
KN	6	201.6667	13.29160	5.42627	187.7180	215.6153	190.00	220.00
Total	30	172.6667	35.12866	6.41359	159.5494	185.7839	100.00	220.00

ANOVA

Pertambahan Berat Badan Tikus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8086.667	4	2021.667	1.825	.156
Within Groups	27700.000	25	1108.000		
Total	35786.667	29			

Hasil Uji Regresi

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
Adiponectin	72.1667	40.75096	18
Leptin	66.5556	22.80247	18



Correlations

		Adiponectin	Leptin
Pearson Correlation	Adiponectin	1.000	-.538 ^a
	Leptin	-.538	1.000
Sig. (1-tailed)	Adiponectin	.011	.011
	Leptin	.011	.011
N	Adiponectin	18	18
	Leptin	18	18

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Leptin ^a		Enter

- a. All requested variables entered.
- b. Dependent Variable: Adiponectin

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.538 ^a	.290	.246	35.39505

- a. Predictors: (Constant), Leptin

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	8185.946	1	8185.946	6.534	.021 ^a
	Residual	20044.947	16	1252.809		
	Total	28230.893	17			

- a. Predictors: (Constant), Leptin
- b. Dependent Variable: Adiponectin

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients		t	Sig.
		B	Std. Error	Beta			
1	(Constant)	136.216	26.409			5.158	.000
	Leptin	-.962	3.376	-.538		-2.556	.021

- a. Dependent Variable: Adiponectin



LAMPIRAN 2.

Prosedur Telap Pembedahan Hewan Coba

1. PERSIAPAN

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1	Siapkan pot organ yang sudah diberi label sesuai dengan nomor tikus yang akan dibedah.	Pastikan label pada pot organ sudah benar.
2	Pot organ diisi dengan formalin 4-10% (dan ratarata buffer formalin untuk AgNOR) untuk menyimpan organ (tiap tikus disiapkan 4 pot organ).	
3	Siapkan <i>ependroff tube</i> yang sudah diberi label sesuai dengan nomor tikus (disiapkan jika dibutuhkan pemeriksaan terhadap darah tikus). <i>Effendrof</i> diberi 3 tetes heparin sebagai antikoagulan.	Pastikan label pada <i>Effendrof</i> sudah benar.
4	Siapkan 1 tim bedah terdiri dari 3 orang. Satu orang membedah tikus, 1 orang mencuci dan menimbang organ, sedangkan 1 orang lainnya mencatat data dan mengambil gambar.	
5	Lapisi meja bedah menggunakan plastik.	
6	Siapkan alat-alat bedah yang akan digunakan.	<ul style="list-style-type: none"> • Gunting bedah, lurus panjang, lurus pendek dan bengkok. • Pinset, digunakan untuk memudahkan membedah dan memegang tikus. • Gelas arloji, sebagai tempat organ ditimbang dan yang akan difoto. • Timbang, diletakkan pada posisi dimana <i>waterpass</i>nya seimbang. • Cawan petri, untuk meletakkan organ. • Papan bedah, tempat fiksasi tikus yang akan dibedah. • Pins, untuk memfiksasi tikus yang akan dibedah. • Beker glass, tempat pencucian organ yang sudah dipisahkan. • Kertas saring, untuk



7	Siapkan perlengkapan pendukung pembedahan yang akan digunakan.	mengeringkan organ sebelum ditimbang. <ul style="list-style-type: none"> • Blangko untuk mencatat data. • Kamera digital • Jas lab, masker dan sarung tangan plastik
---	--	--

2. PEMBEDAHAN TIKUS

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1	Tikus dibunuh dengan cara <i>cervical dislocation</i> (dislokasi leher) dengan pemberian eter.	Pastikan eter tidak menyebar ke seluruh ruangan.
2	Posisikan tikus pada papan bedah menggunakan pins.	Pastikan tubuh tikus terfiksasi dengan baik pada papan sehingga memudahkan tahap pembedahan.
3	Bedah mulai dari bagian perut menggunakan gunting bengkok.	Jika perlu, cukur bulu tikus pada bagian perut dan bersihkan sisa bulu dengan kapas yang dibasahi air.
4	Ambil dan pisahkan masing-masing organ menggunakan gunting lurus (organ yang diambil: usus halus mulai dari duodenum hingga ileum).	
5	Bersihkan organ dari lemak-lemak yang masih menempel.	Hilangkan lemak-lemak yang ada dengan cepat dan hati-hati (jangan sampai merusak organ).
6	Cucilah organ dengan aquades berulang-ulang hingga bersih dari darah.	Pastikan tidak ada sisa darah yang tersisa.
7	Cucilah organ dengan NaCl 0,9% berulang-ulang.	Cuci dengan cepat dan hati-hati.
8	Amati secara makroskopik organ yang tampak, catat perubahan yang ditemukan.	Siapkan organ pembanding (organ normal) untuk mempermudah pengamatan.
9	Tiriskan organ di atas kertas saring.	
10	Setelah air berkurang, timbang dengan cawan petri kering.	
11	Catat berat masing-masing organ pada kertas blangko.	
12	Masukkan organ dalam pot berisi formalin 4-10% dan buffer formalin.	
13	Dokumentasi tiap tahap pembedahan.	



3. SANITASI

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1	Masukkan semua sisa organ tikus yang tidak terpakai ke dalam kantong plastik.	Tutup rapat kantong plastik dan pastikan tidak ada bau yang keluar dari plastik.
2	Serahkan kantong plastik berisi sisa organ ke kandang tikus bagian Farmakologi dan Toksikologi untuk dilakukan insinerasi.	
3	Sampah lain berupa plastik, kertas, dll yang tidak berhubungan dengan organ dibuang dalam kantong plastik tersendiri.	
4	Bersihkan area kerja sisa pembedahan dengan sabun dan jika perlu semprot dengan alkohol.	Pastikan area kerja kembali bersih, bebas dari kotoran sisa pembedahan.