

**EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP
PERLEMAKAN HATI PADA TIKUS *RATTUS NORVEGICUS* STRAIN
WISTAR YANG DIBERI DIET TINGGI ENERGI
(STUDI HUBUNGAN INFEKSI *Toxoplasma gondii* DENGAN OBESITAS)**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Gizi**



Oleh :

Safiera Acmelia Agung Puteri

NIM 155070300111039

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Safiera Acmelia Agung Puteri

NIM : 155070300111039

Program Studi : Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Tugas Akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 18 Januari 2019

Yang Membuat Pernyataan,



Safiera Acmelia Agung Puteri

NIM. 155070300111039

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT. Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini dapat diselesaikan hanya karena pertolongan, berkat, rahmat serta hidayah-Nya yang telah memberikan kekuatan dan kesehatan kepada penulis, sehingga tugas akhir dengan judul “Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* terhadap Perlemakan Hati pada Tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* yang diberi Diet Tinggi Energi (Studi Hubungan Infeksi *Toxoplasma gondii* dengan Obesitas) ini dapat terselesaikan dengan baik.

Dalam proses penulisan tugas akhir ini, penulis juga banyak didukung dan dibantu oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, melalui kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada :

1. dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK selaku dosen pembimbing I yang telah memberi kesempatan kepada peneliti untuk melakukan penelitian ini, serta meluangkan waktu dan tenaga untuk membimbing dan memberi masukan sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.
2. Dian Handayani, S.K.M, M.Kes, Ph.D selaku dosen pembimbing II yang telah membantu mengoreksi dan berbagi ide terkait penulisan tugas akhir ditengah-tengah kesibukannya sebagai pengajar.
3. dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes, Sp.PA selaku ketua tim penguji yang telah dengan ikhlas meluangkan waktu dan memberi masukan kepada penulis terkait pengerjaan tugas akhir ini.
4. Dr. dr. Sri Andarini, M. Kes, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan untuk menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

5. Mama, Papa, adikku Ferdi dan Ferdo, Nenekku, mbak Ulfi, beserta saudara-saudara yang selalu mendukung, menyemangati, dan tidak hentinya mendoakan penulis.
6. Teman-teman dan kakak-kakak yang tergabung dalam penelitian ini.
7. Dinda, Laras, Melati, Ira, Siwi, Sari, Muna, Hida, dan teman-teman S1 gizi angkatan 2015 yang memberi dukungan dan bantuan selama ini.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

Sekiranya Allah SWT membalas semua kebaikan dan dukungan serta partisipasi Saudara-saudara.

Penulis menyadari bahwa penulisan tugas akhir ini jauh dari sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik serta saran yang membangun, dan dapat membantu penulis dalam penyelesaian tugas akhir ini. Akhirnya penulis mengharapkan agar penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis serta banyak orang.

Malang, 18 Januari 2019

Penulis

DAFTAR ISI

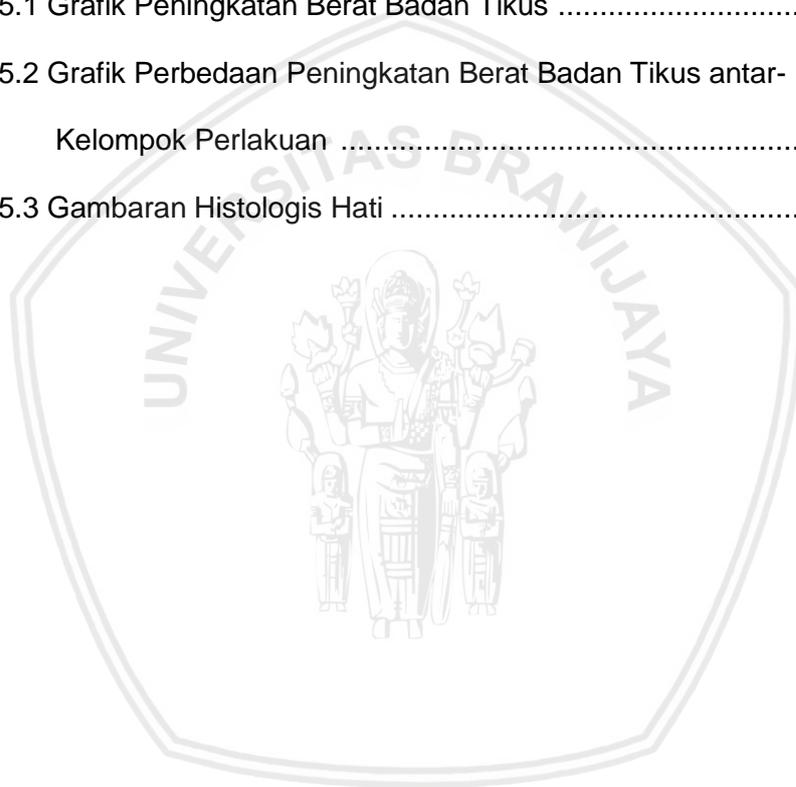
	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR SINGKATAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Obesitas	6
2.1.1 Definisi Obesitas.....	6
2.1.2 Epidemiologi Obesitas	6
2.1.3 Penyebab Obesitas	7
2.1.4 Komplikasi Obesitas	11
2.2 <i>Toxoplasma gondii</i>	13
2.2.1 Tahapan Parasitik.....	13
2.2.2 Daur Hidup	14
2.2.3 Patogenesis dan Respon Imun.....	15

2.2.4 Manifestasi Klinis.....	16
2.2.5 Pemeriksaan dan Diagnosis	18
2.3 Proflin.....	20
2.2.5 Proflin <i>Toxoplasma gondii</i>	20
2.2.5 Proflin <i>Toxoplasma gondii</i> dan Obesitas.....	21
2.4 Perlemakan Hati Non-Alkoholik	23
2.4.1 Definisi	23
2.4.2 Faktor Resiko	23
2.4.3 Patogenesis.....	24
2.4.4 Gejala.....	25
2.4.5 Diagnosis	25
2.4.6 Komplikasi	27
BAB 3 KERANGKA KONSEP	28
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	28
3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep.....	29
3.2 Hipotesis Penelitian	29
BAB 4 METODE PENELITIAN	30
4.1 Rancangan Penelitian	30
4.2 Populasi dan Sampel	30
4.2.1 Kriteria Sampel	30
4.2.2 Besaran Sampel	31
4.3 Variabel Penelitian	31
4.3.1 Variabel Bebas	31
4.3.2 Variabel Terikat	32
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	32
4.4.1 Lokasi Penelitian	32
4.4.2 Waktu Penelitian	32

4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian	32
4.5.1 Bahan Penelitian	32
4.5.2 Alat/ Instrumen Penelitian	34
4.6 Definisi Operasional	35
4.7 Prosedur Penelitian	36
4.7.1 Langkah-Langkah Penelitian	36
4.7.2 Prosedur Paparan Profilin	37
4.7.3 Prosedur Pembuatan Pakan	37
4.7.4 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba.....	38
4.7.5 Prosedur Pembedahan untuk Pengambilan Sampel Hati	38
4.7.6 Prosedur Pemeriksaan Sel Hati dengan Perlemakan	38
4.8 Analisis Data	41
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA	42
5.1 Perkembangan Berat Badan Tikus.....	42
5.2 Hubungan antara Dosis Profilin Toxoplasma gondii dengan Perkembangan Berat Badan Tikus	45
5.3 Rata-rata Asupan Makan dan Zat Gizi pada Tikus	45
5.4 Kejadian Perlemakan Hati pada Tikus.....	47
BAB 6 PEMBAHASAN	49
6.1 Pembahasan Hasil Penelitian.....	49
6.2 Implikasi terhadap Bidang Gizi Kesehatan	53
6.3 Keterbatasan Penelitian	54
BAB 7 PENUTUP	55
7.1 Kesimpulan	55
7.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	61

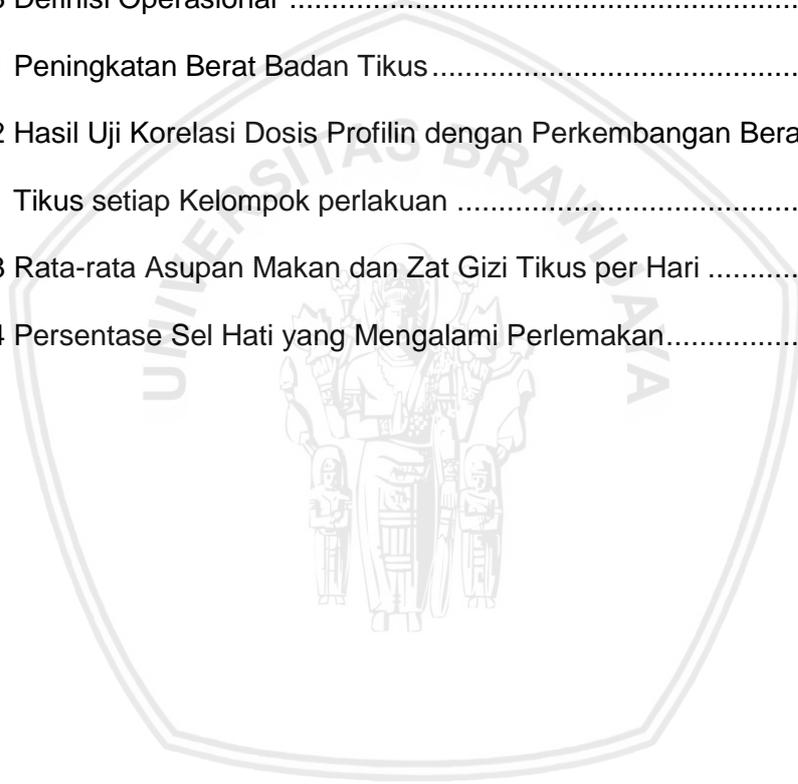
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Komplikasi Obesitas	12
Gambar 2.2 Siklus Daur Hidup <i>Toxoplasma gondii</i>	15
Gambar 4.1 Langkah-Langkah Penelitian	36
Gambar 5.1 Grafik Peningkatan Berat Badan Tikus	43
Gambar 5.2 Grafik Perbedaan Peningkatan Berat Badan Tikus antar- Kelompok Perlakuan	44
Gambar 5.3 Gambaran Histologis Hati	48



DAFTAR TABEL

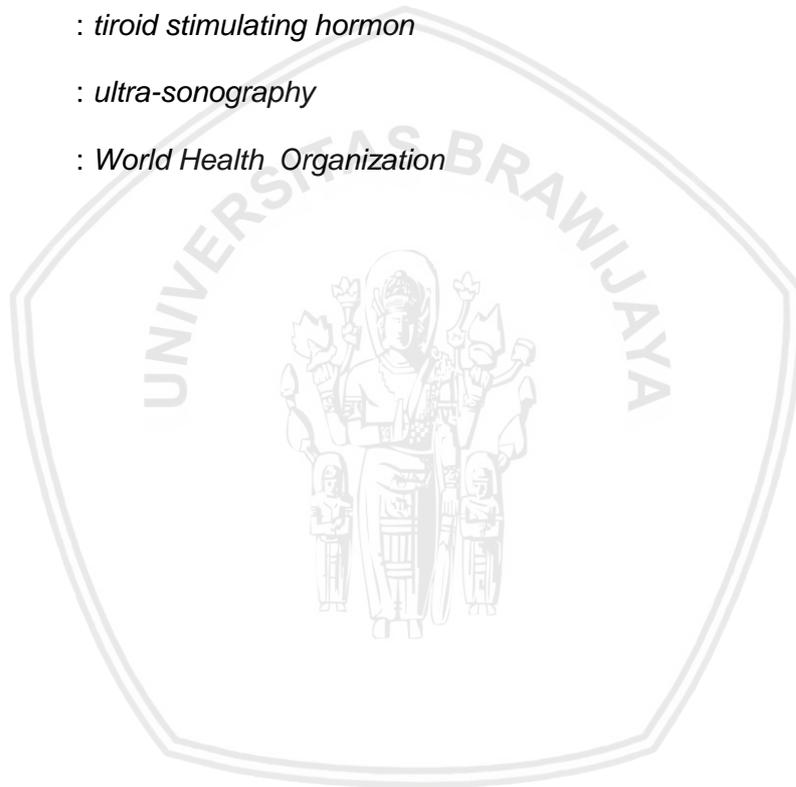
	Halaman
Tabel 2.1 Tingkatan Perlemakan Hati	27
Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal Standar PAR-S	32
Tabel 4.2 Komposisi Diet Tinggi Energi	33
Tabel 4.3 Definisi Operasional	35
Tabel 5.1 Peningkatan Berat Badan Tikus	42
Tabel 5.2 Hasil Uji Korelasi Dosis Profilin dengan Perkembangan Berat Badan Tikus setiap Kelompok perlakuan	44
Tabel 5.3 Rata-rata Asupan Makan dan Zat Gizi Tikus per Hari	46
Tabel 5.4 Persentase Sel Hati yang Mengalami Perlemakan.....	47



DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosin Difosfat
AIDS	: <i>acquired immune deficiency syndrome</i>
ATP	: Adenosin Trifosfat
BDV	: <i>Borna disease virus</i>
CAD	: <i>coronary artery disease</i>
CDV	: <i>Canine distemper virus</i>
CLS	: <i>crown-like structure</i>
CT	: <i>computed tomography</i>
DNA	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
g	: gram
HE	: Haematoxylin dan Eosin
hpf	: <i>High Power Field</i>
IFN	: interferon
Ig	: Immunoglobulin
IL	: Interleukin
IMT	: Indeks Massa Tubuh
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
MRI	: <i>magnetic resonance imaging</i>
MyD-88	: <i>Myeloid differentiation primary response 88</i>
NAFLD	: <i>non-alcoholic fatty liver disease</i>
NASH	: steatohepatitis non-alkohol
NF-kB	: <i>nuclear factor-kappa B</i>
NK	: <i>natural killer</i>
NO	: Nitric Oxide

- PCOS : *polyestric ovary syndrome*
- PCR : *polymerase chain reaction*
- RAV-7 : *Rous-associated virus-7*
- T.gondii* : *Toxoplasma gondii*
- TLR : *Toll-like Receptor*
- TNF- α : *tumor necrosis factor- α*
- TSH : *tiroid stimulating hormon*
- US : *ultra-sonography*
- WHO : *World Health Organization*



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK PAPARAN PROFILIN *Toxoplasma gondii* TERHADAP
PERLEMAKAN HATI PADA TIKUS *RATTUS NORVEGICUS STRAIN*
WISTAR YANG DIBERI DIET TINGGI ENERGI
(STUDI HUBUNGAN INFEKSI *Toxoplasma gondii* DENGAN OBESITAS)

Oleh :

Safiera Acmelia Agung Puteri

NIM 155070300111039

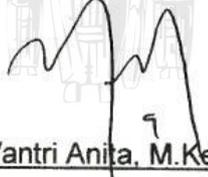
Telah diuji pada

Hari : Jumat

Tanggal : 18 Januari 2019

dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I



dr. Kenty Wantri Anifa, M.Kes, Sp.PA

NIP. 197207151999032002

Pembimbing-I/Penguji-II



dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK

NIP. 197308171999032001

Pembimbing-II/Penguji-III



Dian Handayani, SKM, M.Kes, Ph.D

NIP. 197404022003122002

Mengetahui,

Ketua Program Studi Ilmu Gizi,



Dian Handayani, SKM, M.Kes, Ph.D

NIP. 197404022003122002

ABSTRAK

Puteri, Safiera, A.A. 2019. ***Efek Paparan Profilin Toxoplasma gondii terhadap Perlemakan Hati pada Tikus Rattus Norvegicus Strain Wistar yang diberi Diet Tinggi Energi (Studi Hubungan Infeksi Toxoplasma gondii dengan Obesitas)***. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK. (2) Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D.

Obesitas diduga dapat disebabkan karena infeksi parasit *Toxoplasma gondii* yang diperantarai oleh profilin. Perlemakan hati adalah keadaan akumulasi lemak dalam hepatosit yang merupakan salah satu komplikasi obesitas. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* yang diberi diet tinggi energi. Metode yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test only control group design* pada 66 ekor tikus yang dibagi kedalam 13 kelompok perlakuan, yaitu kelompok dengan diet tinggi energi (3,98 kkal/g) dan diet normal standar PAR-S (2,86 kkal/g) yang diberi injeksi profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL. Masa perlakuan selama 14 minggu. Pengamatan hepatosit menggunakan metode pengecatan HE dan diamati pada mikroskop pembesaran 400x. Kemudian dilakukan perhitungan hepatosit yang mengalami perlemakan dengan *software cell counter*. Analisis data dilakukan pada aplikasi SPSS 16.0 untuk uji beda persentase perlemakan hati antar kelompok perlakuan dan uji hubungan antara dosis profilin *Toxoplasma gondii* dengan berat badan tikus. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi perlemakan hati pada seluruh kelompok perlakuan, dan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada persentase perlemakan hati antar kelompok perlakuan ($p>0,05$). Namun ditemukan infiltrasi limfosit sebagai tanda inflamasi pada sebagian besar sampel jaringan hati tikus yang diinjeksi profilin *Toxoplasma gondii*. Uji hubungan menunjukkan tidak ada hubungan antara dosis profilin *Toxoplasma gondii* dengan perubahan berat badan tikus ($p>0,05$). Maka, dari penelitian ini disimpulkan bahwa paparan profilin *Toxoplasma gondii* tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kejadian perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar*,

Kata kunci : Obesitas, diet tinggi energi, profilin *Toxoplasma gondii*, perlemakan hati

ABSTRACT

Puteri, Safiera, A.A. 2019. *Effects of Toxoplasma gondii Profilin Exposure on Fatty Liver in Rattus Norvegicus Strain Wistar Rats Induced High Energy Diet (Study of Relationship between Toxoplasma gondii Infection with Obesity)*. Final Assignment, Nutrition Program, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Agustin Iskandar, M.Kes, Sp.PK. (2) Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D

Obesity is suspected to be caused by *Toxoplasma gondii* parasitic infection mediated by profilin. Obesity has several complications which include fatty liver; a fat that is accumulated in hepatocytes. The purpose of this study was to reveal the effect of *Toxoplasma gondii* profilin exposure on the fatty liver in *Rattus norvegicus* strain wistar rats induced by high-energy diet. The method of this study was an experimental laboratory with a post-test only control group design which applied to 66 rats that were divided into 13 intervention groups; particularly a group with high-energy diet (3.98 kcal / g) and a group with normal PAR-S standard diet (2.86 kcal / g) that were injected with *Toxoplasma gondii* profilin at a dosage of 15 µg / mL, 30 µg / mL, and 45 µg / mL with 14 weeks of intervention period. The hepatocyte observation used HE staining method and was observed on a 400x microscope magnification. Then, the observation was continued with the calculation of the hepatocytes with intrahepatic triglycerides which was using cell counter software. The data analysis was calculated using SPSS 16.0 in order to see the difference among fatty liver percentage in all intervention groups and the correlation between the dose usage of *Toxoplasma gondii* profilin and rat body weight. The results showed no fatty liver appeared in all intervention groups, and there was no significant difference showed in the percentage of fatty liver among the intervention groups ($p > 0.05$). However, lymphocyte infiltration was found as the sign of inflammation happened in the majority of rat's liver tissue samples that were injected with *Toxoplasma gondii* profilin. The test showed that there was no correlation between the dose usage of profilin *Toxoplasma gondii* and the changes in the rat's body weight ($p > 0,05$). Thus, from this study, it can be concluded that *Toxoplasma gondii* profilin exposure does not significantly affect the incidence of fatty liver in *Rattus Norvegicus* Strain Wistar rats.

Keywords : Obesity, high-energy diet, *Toxoplasma gondii* profilin, fatty liver

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas didefinisikan sebagai keadaan abnormal atau kelebihan akumulasi lemak di tubuh yang dapat mengganggu kesehatan (*World Health Organization*, 2017). Seseorang dikatakan obesitas jika indeks massa tubuh (berat badan per tinggi badan kuadrat) mencapai 27,0 kg/m² atau lebih. Di Indonesia, data tahun 2016 menunjukkan peningkatan prevalensi penduduk laki-laki obesitas hingga mencapai 24% dan penduduk wanita mencapai 41,4% (Kemenkes RI, 2016). Secara global, menurut data *Global Nutrition Report 2016* menunjukkan dari 5 milyar penduduk dewasa di dunia, 2 milyar diantaranya mengalami obesitas (*International Food Policy Research Institute*, 2016).

Obesitas jika tidak ditangani dengan tepat dapat menyebabkan berbagai komplikasi seperti hipertensi, diabetes melitus, *coronary artery disease* (CAD) yang bisa mengarah ke gagal jantung, dislipidemia, penyakit cerebrovaskular, abnormalitas pada saluran nafas seperti *obstructive sleep apnea* dan asma, *gastrophageal reflux disease*, *polyestic ovary syndrome*, osteoarthritis, kanker, gangguan *psychosocial* (Segula, D., 2014), serta perlemakan hati (*fatty liver*).

Seiring meningkatnya prevalensi obesitas dari tahun ke tahun, maka penelitian mengenai penyebab obesitas juga semakin beragam. Penyebab obesitas yang utama adalah ketidakseimbangan energi, yaitu energi yang masuk lebih besar daripada energi yang dikeluarkan (*World Health Organization*, 2017).

Selain itu juga terdapat penyebab sekunder obesitas seperti gangguan endokrin dan faktor genetik (Karam dan McFarlane, 2007 ; Oetomo, K.S., 2011).

Beberapa penelitian juga mempelajari bahwa obesitas dapat dicetuskan karena adanya infeksi. Terdapat beberapa agen infeksi yang dicurigai berhubungan dengan kejadian obesitas seperti virus, bakteri, dan parasit. Agen Infeksi virus yang diperkirakan menyebabkan obesitas adalah *Canine distemper virus* (CDV) dan *Borna disease virus* (BDV) yang telah terbukti pada hewan coba, serta pada manusia terdapat 3 jenis adenovirus yang ditemukan memiliki hubungan kausal dengan obesitas, yaitu Adv36, Adv37, dan Adv5. Sedangkan agen infeksi oleh bakteri yang berkaitan dengan obesitas contohnya *Chlamydia pneumoniae* dan *Helicobacter pylori* (Hainer *et al.*, 2015). Selain itu juga infeksi oleh parasit. Salah satu parasit yang terbukti berhubungan dengan kejadian obesitas adalah *Toxoplasma gondii* (Reeves *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian telah menguji hubungan infeksi *Toxoplasma gondii* dan obesitas. Salah satunya penelitian pada tahun 2013 yang menunjukkan bahwa individu dengan serologi *Toxoplasma gondii* positif berkemungkinan dua kali lipat mengalami obesitas dibanding individu yang seronegatif (Reeves, *et al.*, 2013). Hal ini sejalan dengan penelitian tahun 2017 bahwa level chemerin pada individu yang seropositif igG *Toxoplasma gondii* lebih tinggi daripada individu yang negatif igG *Toxoplasma gondii* (Iskandar, A., *et al.*, 2017). Diketahui level chemerin yang tinggi dalam sirkulasi berkaitan dengan karakteristik sindroma metabolik, contohnya obesitas (Roman, A.A., *et al.*, 2012).

Sedangkan pada beberapa penelitian, hubungan infeksi *Toxoplasma gondii* dan obesitas dikaitkan dengan adanya molekul profilin yang dimiliki *Toxoplasma gondii*. Profilin sendiri adalah kontributor kunci pada polimerisasi

aktin, dan parasit *Toxoplasma gondii* memiliki protein seperti profilin sebagai komponen membran yang berperan untuk motilitas dan dapat dikenali oleh TLR11 (*Toll-like receptor 11*) dan TLR12 (*Toll-like receptor 12*) pada sistem kekebalan bawaan inang. Penelitian tahun 2015 mengemukakan jika kadar sitokin proinflamatori IL-6 (*Interleukin-6*) dan TNF- α (*tumor necrosis factor- α*) pada kultur adiposit subkutan meningkat akibat paparan profilin *Toxoplasma gondii* (Sudjari *et al*, 2015). Hal ini juga sejalan dengan penelitian tahun 2016 yang menyimpulkan jika kadar profilin *Toxoplasma gondii* pada pasien obesitas lebih tinggi daripada pasien yang tidak obesitas (Iskandar, A., *et al.*, 2016).

Pada *literature review* publikasi *Eropean Medical Journal* tahun 2014, menyatakan bahwa peningkatan ekspresi sitokin proinflamatori IL-6 dan TNF- α dapat menurunkan aktifitas hormon adiponektin. Penurunan aktivitas hormon adiponektin meningkatkan resiko obesitas dan komplikasinya yaitu perlemakan hati, karena adiponektin memiliki peran penting dalam mengatur metabolisme glukosa dan penurunan asam lemak bebas masuk ke hati (Kouis *et al*, 2014).

Sehingga berdasarkan penelitian sebelumnya, ditemukan jika paparan profilin *Toxoplasma gondii* berhubungan dengan peningkatan sitokin proinflamasi IL-6 dan TNF- α dan penurunan hormon adiponektin. Hal ini dapat memperbesar resiko obesitas dan komplikasinya, salah satunya perlemakan hati. Sejalan dengan studi cohort pada penderita *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD) tahun 2005, menyatakan bahwa hampir semua penderita obesitas mengalami perlemakan hati, dan sepertiga dari individu-individu ini pada akhirnya akan mengalami NAFLD yang semakin memburuk (Ricci, 2012). Perlemakan hati yang memburuk dapat berkembang menjadi komplikasi fibrosis hingga sirosis yang menyebabkan gagal hati dan bahkan kanker hati (Emmanuel dan Inns, 2014).

Namun menurut peneliti, penelitian tentang efek langsung paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap hepatosit dan kejadian perlemakan hati belum banyak dikaji, sehingga peneliti tertarik untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet tinggi energi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet tinggi energi?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap perlemakan hati tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet tinggi energi.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengukur berat badan pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar pada semua kelompok perlakuan
2. Mengukur perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet normal
3. Mengukur perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet normal serta dipapar profilin *Toxoplasma gondii* sebanyak 1 kali.
4. Mengukur perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet tinggi energi serta dipapar profilin *Toxoplasma gondii* sebanyak 1 kali

5. Mengukur perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet normal serta dipapar profilin *Toxoplasma gondii* sebanyak 2 kali.
6. Mengukur perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang diberi diet tinggi energi serta dipapar profilin *Toxoplasma gondii* sebanyak 2 kali
7. Menganalisa hubungan antara berat badan tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar dengan dosis profilin *Toxoplasma gondii* yang diberikan

1.4 Manfaat Penelitian

Dapat memberikan pengalaman untuk peneliti terkait penelitian dengan hewan coba dan menambah pengetahuan serta wawasan mengenai faktor yang menyebabkan perlemakan hati pada kondisi obesitas.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

2.1.1 Definisi Obesitas

Obesitas adalah keadaan penumpukan massa lemak dalam tubuh yang melebihi batas sehingga dapat menimbulkan masalah kesehatan. Penilaian obesitas dapat dilakukan dengan melihat indeks massa tubuh, yaitu berat badan per tinggi badan kuadrat. Klasifikasi obesitas menurut standar WHO adalah jika IMT (indeks massa tubuh) $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ (*World Health Organization*, 2017). Namun di Indonesia, kemenkes RI menetapkan standar seseorang disebut mengalami obesitas jika IMT mencapai $27,0 \text{ kg/m}^2$ atau lebih (Kemenkes RI, 2013).

Terdapat dua tipe obesitas, yaitu obesitas sentral atau tipe android dan obesitas tipe ginoid. Obesitas sentral atau tipe ginoid lebih banyak dialami pria, tandanya adalah badan gendut dengan perut buncit ke depan. Sementara obesitas tipe ginoid lebih banyak pada wanita, terutama saat memasuki usia menopause yang akan mengalami pembesaran di pantat dan panggul, serta badan tampak seperti buah pir (Oetomo, K.S., 2011).

2.1.2 Epidemiologi Obesitas

Menurut data *Global Nutrition Report 2016*, pada tahun 2010 prevalensi orang dewasa dengan $\text{IMT} \geq 25$ (*overweight* dan obesitas) adalah 27% di asia, 57% di eropa, 30% di afrika, 65% di amerika utara, dan 62% di oceania. Persentase ini meningkat pada tahun 2014, yaitu

30% di asia, 58% di eropa, 33% di afrika, 67% di amerika utara, dan 64% di oceania. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kejadian obesitas meningkat tiap tahun di berbagai negara. Secara global, data menunjukkan bahwa terdapat 2 miliar penduduk dewasa yang mengalami overweight atau obesitas (*International Food Policy Research Institute, 2016*).

Di indonesia, pada tahun 2010 prevalensi obesitas pada penduduk laki-laki sebanyak 7,8% dan penduduk wanita 15,5%. Pada tahun 2013 prevalensi obesitas meningkat menjadi 19,7% pada penduduk laki-laki dan 32,9% pada penduduk wanita. Sedangkan data tahun 2016 menunjukkan prevalensi obesitas pada laki-laki telah mencapai 24% dan penduduk wanita mencapai 41,4%. Pervalensi penduduk obesitas tertinggi adalah di Sulawesi Utara (24%), dan yang terendah adalah Nusa Tenggara Timur (6,2%), serta terdapat 16 provinsi dengan prevalensi obesitas diatas nasional (Kemenkes RI, 2013; Kemenkes RI, 2016).

2.1.3 Penyebab Obesitas

Obesitas adalah proses penimbunan secara berlebihan dari triasilgliserol pada jaringan lemak karena ketidakseimbangan antara asupan energi dengan energi yang digunakan. Obesitas dapat terjadi karena berbagai faktor sebagai berikut :

a. Diet

Orang yang mengalami obesitas kebanyakan memiliki pola konsumsi yang tinggi energi, terutama tinggi lemak dan karbohidrat. Lemak adalah sumber zat gizi makro yang memiliki densitas energi tertinggi, dimana 1 gram lemak menghasilkan 9 kilokalori. Diet tinggi lemak akan secara langsung menambah asupan energi dalam jumlah

besar. Asupan energi yang berlebih dari kebutuhan akan disimpan sebagai cadangan energi dalam bentuk akumulasi lemak di tubuh. Selain itu asupan karbohidrat juga mempengaruhi metabolisme lemak. Pembakaran lemak akan menurun ketika tubuh memiliki cukup glukosa untuk sumber energi sel. Kelebihan karbohidrat juga menyebabkan *de novo* lipogenesis, yaitu jalur metabolisme yang mengubah kelebihan karbohidrat menjadi asam lemak yang lalu diesterifikasi menjadi simpanan triasilgliserol (Oetomo, K.S., 2011).

b. Kurang aktivitas Fisik

Kurangnya aktivitas fisik menyebabkan ketidakseimbangan energi, yaitu energi yang masuk menjadi lebih besar daripada energi yang keluar karena tidak digunakan untuk melakukan kegiatan fisik apapun. Secara global, 23% orang dewasa dan 81% remaja usia sekolah kurang melakukan aktivitas fisik, sehingga hal ini menambah faktor resiko kejadian obesitas (*World Health Organization*, 2017).

c. Gangguan Endokrin

Secara fisiologis kortisol berperan dalam regulasi karbohidrat, lemak, protein, dan asam nukleat untuk meningkatkan produksi glukosa darah, pemecahan protein peripheral, dan aktivasi lipoprotein lipase di adiposit, yang akan meningkatkan akumulasi lemak. Hiperkortisolisme yang terjadi pada penderita sindroma chusing berkaitan dengan obesitas sentral dengan akumulasi lemak di wajah (*moonface*), leher, daerah dorsocervical, supraclavicular, ruang retroorbital, dan abdomen yang mencirikan distribusi lemak di bagian sentral pada sindrom ini (Karam dan McFarlane, 2007).

Selain itu gangguan hipotiroidisme juga menyebabkan obesitas, karena hormon tiroid berperan dalam metabolisme dengan meningkatkan asupan makan dan efek termis makanan, lalu mempercepat tingkat metabolisme menyebabkan peningkatan pengeluaran energi (*energy expenditure*). Sehingga jika hipotiroidisme, memperlambat laju metabolisme serta mengurangi *resting energy expenditure* dan konsumsi oksigen, menyebabkan kelebihan dari energi yang tidak digunakan diakumulasikan dalam bentuk cadangan lemak tubuh. Seperti hormon tiroid, *growth hormone* juga berperan dalam regulasi *energy expenditure*, dan defisiensi *growth hormone* akan mengarah ke akumulasi lemak dan obesitas (Karam dan McFarlane, 2007).

d. Genetik

Berdasarkan *thrifty gene hypothesis*, beberapa populasi mempunyai gen yang berpengaruh terhadap peningkatan simpanan lemak sebagai cadangan energi, namun saat ini justru mengarah ke kejadian sindrom metabolik, seperti obesitas. Hal ini karena terdapat gen yang berfungsi sebagai pengendalian metabolisme lemak, massa lemak, dan distribusi jaringan lemak tubuh (Oetomo, K.S., 2011).

Gen terkait obesitas banyak diteliti, beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa mutasi beberapa gen diprediksi menjadi penyebab monofaktorial obesitas, yaitu neutropin receptor tropomyosin-related kinase B, defisiensi melanocortin reseptor 4, defisiensi leptin, serta reseptor leptin. Pada kasus defisiensi leptin, pemberian leptin rekombinan ternyata dapat mempengaruhi rasa kenyang, mengurangi asupan makanan, dan menurunkan massa lemak tubuh. Namun saat ini

penelitian juga menemukan jika pada individu yang obesitas mengalami hiperleptinemia, sehingga kemungkinan terjadi resistensi leptin. Selain penyebab monofaktorial, konsep obesitas poligenik juga banyak dipelajari untuk melihat interkasi dari beberapa gen yang masing-masing sebagai faktor resiko obesitas (Oetomo, K.S., 2011).

e. Agen Infeksi

Obesitas bisa disebabkan beberapa agen infeksi dari virus, bakteri, dan patogen. Penelitian virus oleh Lyons, *et al* (1982) terhadap hewan coba menunjukkan *Canine distemper virus* (CDV) menyebabkan obesitas pada tikus. Tikus terinfeksi CVD mengalami encephalitis dengan perkembangan obesitas selanjutnya, serta memperlihatkan adanya resistensi leptin sebagai dampak dari turunnya regulasi reseptor leptin. Penelitian selanjutnya oleh Carter, *et al* (1983) mengkaitkan kejadian obesitas, hiperlipidemia, dan perlemakan hati dengan infeksi *Rous-associated virus-7* (RAV-7) di ayam. Selain itu, kejadian obesitas di tikus juga berhubungan dengan infeksi *Borna disease virus* (BDV) juga diteliti oleh Gosztanyi dan Ludwig (1995). Infeksi virus pada manusia yang menyebabkan obesitas juga ditemukan berhubungan kausal dengan 3 human adenovirus, yaitu Adv36, Adv37, dan Adv5 dengan bertindak langsung pada adiposit (Hainer, *et al.*, 2015).

Sementara penelitian infeksi bakteri yang diperkirakan menyebabkan obesitas pada manusia adalah *Chlamydia pneumoniae* dan *Helicobacter pylori*. Studi epidemologis internasional menunjukkan bahwa resiko untuk menjadi gemuk pada manusia ($IMT > 25 \text{ kg/m}^2$) ternyata meningkat secara signifikan dengan adanya antibodi IgG untuk

kedua bakteri tersebut, namun belum ada penelitian eksperimental yang membuktikan efek langsung bahwa infeksi *Chlamydia pneumoniae* dan *Helicobacter pylori* meningkatkan akumulasi lemak (Hainer, *et al.*, 2015).

Agen infeksi lain yang terbukti berkaitan dengan obesitas adalah parasit *Toxoplasma gondii*. Ditemukan bahwa orang yang serologi *Toxoplasma gondii* positif beresiko dua kali lipat menjadi obesitas daripada orang yang seronegatif (Reeves, *et al.*, 2013). Penelitian lain juga menunjukkan paparan profilin *Toxoplasma gondii* ke kultur sel lemak subkutan menyebabkan peningkatan marker inflamasi IL-6 dan TNF- α yang mengarah ke adiposopati dan sindrom metabolik, termasuk obesitas (Sudjari, *et al.*, 2015).

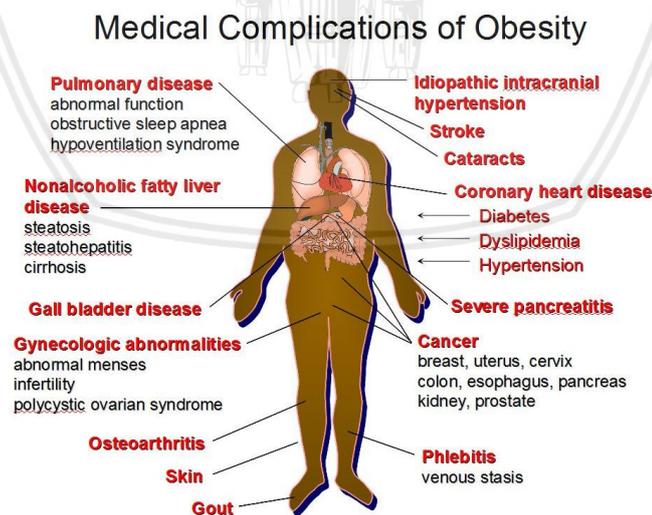
2.1.4 Komplikasi Obesitas

Obesitas jika tidak segera ditangani akan menimbulkan berbagai gangguan kesehatan karena obesitas diketahui menjadi faktor resiko berbagai penyakit. Pada banyak penelitian disimpulkan bahwa obesitas berhubungan dengan pertumbuhan sel kanker. Hal ini karena pada orang yang obesitas, dalam tubuhnya mengalami *low-level inflammation* yang jika terjadi jangka panjang, lama-lama akan merusak DNA (*deoxyribonucleic acid*) yang kemudian menyebabkan berbagai kanker, seperti kanker payudara, kanker ovarium, kanker colorectal, kanker esophageal, kanker ginjal, kanker prostat, kanker pankreas, kanker endometrial (Guh, *et al.*, 2009 ; National Cancer Institute, 2017).

Pada penderita obesitas juga ditemukan adanya disfungsi endotel. Endotel berfungsi penting dalam pengaturan tonus dan struktur pembuluh darah, serta menghasilkan senyawa *Nitric Oxide* (NO) sebagai mediator

vaso aktif yang melakukan pengaturan mekanisme vasodilatasi pembuluh darah, serta menghambat proliferasi sel otot polos pembuluh darah. Jika jalur pembentukan NO ini terganggu, maka juga mengganggu tonus dan struktur pembuluh darah hingga akhirnya bisa terjadi aterosklerosis yang mengarah ke penyakit kardiovaskular lainnya (Sargowo, D., 2015).

Secara umum juga ditemukan jika kenaikan IMT dan lingkaran perut secara signifikan berhubungan dengan diabetes melitus tipe 2. Pada penderita obesitas, jumlah asam lemak tidak teresterifikasi, gliserol, sitokin pro-inflamasi, hormon, dan zat-zat lain yang terlibat dalam pengembangan resistensi insulin meningkat. Resistensi insulin ini akan mengganggu kontrol glukosa darah, sehingga terjadi kondisi diabetes melitus tipe 2 serta metabolik sindrom lainnya (Goblan, et al., 2014), seperti yang terlihat pada **Gambar 2.1**.



Gambar 2.1 Komplikasi Obesitas.

Keterangan. Beberapa kondisi gangguan kesehatan terkait obesitas yang sering menyebabkan penurunan kualitas kesehatan dan kehidupan (Laser Stone and Endoscopy Centre. 2017).

2.2 *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii (*T.gondii*) adalah parasit intraselular obligat dari kelompok protozoa yang bisa menginfeksi manusia dan hewan berdarah panas, termasuk mamalia dan burung. Hewan dari famili Felidae bertindak sebagai inang utama parasit karena mereka membawa ookista dari *T.gondii*. Infeksi *T.gondii* yang disebut toksoplasmosis bisa terjadi secara pre-natal dari transmisi vertikal melalui plasenta atau post-natal dari kontaminasi di lingkungan. manifestasi klinis infeksi *T. gondii* sering tidak spesifik, bahkan asimtomatik (Dubey dan Jones, 2008 ; Yuliawati dan Nasronudin, 2015).

2.2.1 Tahapan Parasitik

Terdapat 3 tahapan parasitik dari *T.gondii*, yaitu takizoit, kista, dan ookista. Takizoit merupakan bentuk proliferaatif yang dapat membelah dengan cepat. Takizoit mempunyai membran sel dan satu nukleus yang ada di tengah, bentuknya seperti bulan sabit dengan salah satu ujung menumpul dan ujung lainnya meruncing. Panjangnya sekitar 4 sampai 8 mikron serta lebarnya sekitar 2 sampai 4 mikron. Selanjutnya adalah kista yang merupakan tahap istirahat dari *T.gondii*. Kista berisi bradizoit dan terbentuk dalam sel inang jika takizoit yang terbelah telah membentuk dinding sel. Kista yang ada dalam tubuh inang dapat bertahan selamanya, terutama jika dalam otak, otot jantung, atau otot lurik. Ukuran kista beragam, terdapat ukuran kecil yang hanya mempunyai beberapa bradizoit serta ada juga yang berukuran hingga 200 mikron dengan 3000 bradizoit. Kemudian adalah tahapan ookista yang memiliki dinding sel, dan mengandung 1 sporoblast yang membelah menjadi 2. Ookista berukuran 11-14 x 9-11 mikron, dengan bentuk oval. Dalam

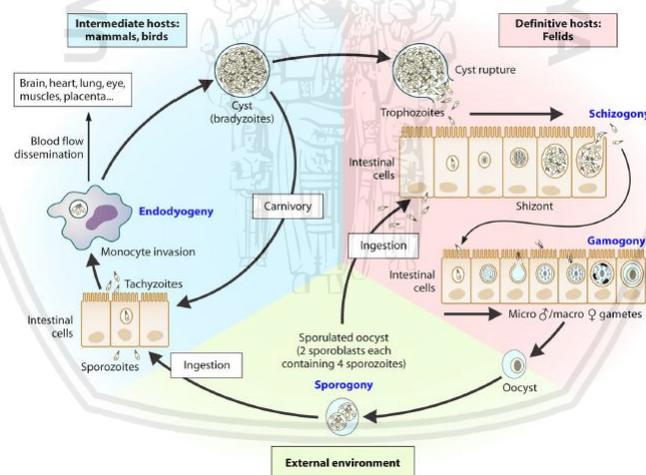
perkembangan selanjutnya, kedua sporoblast tersebut membentuk dinding dan menjadi sporozoit yang berukuran sekitar 82 mikron (Yuliawati dan Nasronudin, 2015).

2.2.2 Daur Hidup

Terdapat 2 siklus daur hidup *T.gondii*, yaitu siklus seksual dan siklus aseksual. Siklus seksual terjadi di inang definitif, yaitu famili Falidae seperti kucing, sementara siklus aseksual terjadi di inang perantara, seperti mamalia dan burung termasuk manusia. Setelah menelan kista yang ada di jaringan inang perantara, dinding kista akan dihancurkan oleh enzim pencernaan inang definitif. Bradizoit dalam kista akan menetap di enterosit usus dimana ia akan memperbanyak diri secara aseksual dengan jumlah terbatas, hal ini ditandai dengan dimulainya siklus schizogonous, dimana bradizoit diubah menjadi skizon. Selanjutnya skizon mengalami perkembangan seksual dengan proses pembentukan gametogoni jantan dan betina. Setelah terjadi fertilisasi, ookista terbentuk di enterosit usus dan diekskresikan lewat feces inang definitif (kucing). Di lingkungan luar ini terjadi proses sporogoni selama beberapa hari, dimana ookista mengadakan sporulasi dan membentuk kista tersporulasi dengan 2 sporokista, yang masing-masing berisi 4 sporozoit haploid. Feces dari inang definitif seperti kucing yang terinfeksi dapat mengandung lebih dari 100 juta ookista. Kemudian ini akan dapat menginfeksi berbagai inang perantara, yaitu hampir semua hewan berdarah panas jika tertelan melalui makanan maupun air (Gangneux dan Dardé, 2012).

Dalam inang perantara, *T.gondii* hanya mengalami perkembangan aseksual. Setelah terinfeksi ookista, sporozoit didalamnya dilepaskan dan

akan menembus epitel usus, dimana ia akan berdiferensiasi menjadi takizoit. Kemudian takizoit bereplikasi dengan cepat dan menyebar ke seluruh organisme. Sebagai hasil dari perubahan takizoit menjadi bradizoit, kista akan muncul di jaringan inang perantara sejak 7 sampai 10 hari pasca infeksi, dan kemungkinan tetap disana sampai sepanjang hidup terutama di otak atau jaringan otot. Jika menelan kista di jaringan ini oleh inang perantara melalui konsumsi daging mentah atau kurang matang, kista akan pecah ketika melewati saluran pencernaan, menyebabkan pelepasan bradizoit didalamnya yang kemudian akan menginfeksi epitel usus dari inang baru dan berdeferensiasi kembali ke tahap takizoit yang membelah cepat seperti pada **Gambar 2.2** (Gangneux dan Dardé, 2012).



Gambar 2.2 Siklus Daur Hidup *Toxoplasma gondii*.

Keterangan. Kista dari jaringan inang perantara masuk ke inang definitif, dimana disana mengalami perkembangan seksual, lalu terekskresi ke lingkungan luar dalam bentuk ookista, kemudian meginfeksi inang perantara, dimana disana mengalami perkembangan aseksual (Gangneux dan Dardé, 2012).

2.2.3 Patogenesis dan Respon Imun

Toksoplasmosis bisa terjadi akut maupun kronik. Infeksi akut berkaitan dengan bentuk proliferasinya, yaitu takizoit, sementara infeksi kronik berkaitan dengan kista di jaringan. Selama proses infeksi akut,

takizoit menginvasi semua sel dalam tubuh inang, kecuali *nucleated cells* seperti eritrosit. Takizoit akan memasuki sel inang melalui penetrasi aktif membran plasma atau melalui fagositosis. Replikasi in-vitro dari takizoit intraselular terjadi setiap 6 sampai 9 jam. Setelah terkumpul sekitar 64 sampai 128 parasit per sel, kemudian parasit akan keluar untuk menginfeksi sel-sel tetangga (Yuliawati dan Nasronudin, 2015).

Respon imunitas pada inang oleh adanya infeksi *T.gondii* adalah diaktifkannya makrofag, *natural killer* (NK) sel, fibroblas, sel endotel, dan sel epitel, sehingga perkembangan *T.gondii* bisa dihambat. Interleukin 12 (IL-12) yang diproduksi makrofag dan sel dendrit akan menstimulasi sel NK untuk memproduksi interferon gamma (IFN- γ) yang merangsang makrofag melepas *nitric oxide* (NO) yang dapat membunuh parasit *T.gondii*. Sementara patogenesis toksoplasmosis pada inang dengan sistem imun yang terganggu, seperti pada pasien imunodefisiensi, dipengaruhi oleh banyak hal, antara lain kegagalan produksi IL-12 dan IFN- γ , serta aktivitas sitotoksik t-limfosit menurun, sehingga lebih rentan terhadap infeksi toksoplasmosis dan bisa menyebabkan reaktivasi toksoplasmosis kronis (Yuliawati dan Nasronudin, 2015).

2.2.4 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis dari toksoplasmosis berbeda-beda tergantung pada respon imun dari masing-masing inang. Sebagian besar subjek imunokompeten yang mengalami toksoplasmosis akuista (dapatkan) gejalanya asimptomatik. Pada beberapa kasus muncul gejala demam dan terkadang dengan nyeri otot selama beberapa minggu, asthenia, atau tanda klinis yang tidak spesifik lainnya. Penelitian menemukan jika derajat

keparahan infeksi juga dipengaruhi oleh genotip ras/suku. Pada beberapa kelompok ras/suku dengan genotip atipikal bisa terjadi infeksi parah pada subjek imunokompeten, berupa pneumonia, miokarditis, meningoensefalitis, atau polimyositis (Gangneux dan Dardé, 2012).

Toksoplasmosis pada subjek yang *immunocompromised* atau imunitas lemah sangat berbeda dengan subjek imunokompeten. Toksoplasmosis lebih membahayakan pada subjek *immunocompromised*, misalnya penderita *acquired immune deficiency syndrome* (AIDS) atau yang menjalani terapi immunosupresif. Pada penerima transplantasi organ yang seronegatif sangat mungkin terjadi infeksi dari organ yang mengandung kista dari donor yang seropositif. Manifestasi penyakit yang paling menonjol pada subjek *immunocompromised* adalah toxoplasmic ensefalitis yang dapat menyebabkan berbagai gejala seperti sakit kepala, lesu, inkoordinasi, ataksia sampai hemiparesis, kehilangan memori, demensia, dan demam (Gangneux dan Dardé, 2012)..

Selain itu juga terdapat toksoplasmosis kongenital sebagai hasil dari infeksi akuista (dapatan) ibu selama kehamilan. Dampak toksoplasmosis ke janin semakin parah tergantung pada umur kehamilan saat ibu terinfeksi. Plasenta berperan penting selama proses infeksi, karena selain sebagai barrier pelindung janin, juga sebagai jaringan target untuk multiplikasi parasit. Jika transmisi transplasental terjadi saat trimester pertama, konsekuensi ke janin dapat mengarah ke beberapa abnormalitas seperti retardasi mental, hidrosefalus, tuli, defisiensi psikomotor, katarak, kebutaan, bahkan keguguran. Selama trimester kedua, manifestasi klinis saat lahir bisa meliputi epilepsi, anemia,

tromositopenia, ruam, gangguan hati, dan pneumonitis. Tetapi jika infeksi terjadi saat trimester ketiga, pada 80% kasus gejalanya asimtomatik (Gangneux dan Dardé, 2012).

2.2.5 Pemeriksaan dan Diagnosis

Terdapat beberapa uji yang dilakukan untuk menegakkan diagnosis toksoplasmosis, beberapa pendekatan yang dilakukan meliputi teknik etiological, imunologi, dan teknik pencitraan. Namun saat ini diagnosis dapat dilakukan dengan teknologi molekuler untuk melihat asam nukleat dari parasit.

a. Diagnosis Mikroskopik

Mendeteksi *T.gondii* di sampel jaringan dan feces bisa dengan mengandalkan pemeriksaan mikroskop dengan pewarnaan Giemsa serta Haematoxylin dan Eosin (HE) yang lebih *cost-effective*. Namun pemeriksaan dengan mikroskop cahaya ini kurang sensitif, lebih memakan waktu, dan membutuhkan keahlian khusus untuk mendapatkan hasil yang diinginkan, sehingga kurang bisa diandalkan.

b. Bioassay

Mengisolasi *T.gondii* dari spesimen berupa hasil sekresi, ekskresi, cairan tubuh, kelenjar limfe, jaringan otot dan otak. Pemeriksaan *T.gondii* dengan bioassay umum digunakan pada tikus dan kucing. Namun cara ini mahal dan biasanya membutuhkan 6 minggu hingga hasil pemeriksaan keluar, sehingga tidak dapat digunakan untuk skrining skala besar.

c. Serologi

kebanyakan gejala klinis dari infeksi *T.gondii* tidak spesifik, bahkan tidak muncul sama sekali, sehingga diagnosis utama tergantung

pada tes serologi. Tes serologi memeriksa antibodi IgM, IgA, IgE, dan IgG untuk parasit *T.gondii*. Antibodi IgM dapat terdeteksi setelah 1 minggu setelah infeksi dan akan tetap bertahan selama beberapa bulan atau tahun, jadi tidak cocok untuk mendeteksi infeksi akut. Sementara antibodi IgA dianggap sebagai penanda infeksi akut. Antibodi IgE berperiode lebih pendek, sehingga memberikan indikasi infeksi yang lebih baru. Kehadiran antibodi IgG dapat memberikan diagnosis adanya infeksi, tetapi tidak memberikan informasi mengenai waktu infeksi.

d. Teknik Pencitraan

Teknik pencitraan seperti *computed tomography* (CT), *magnetic resonance imaging* (MRI), dan *ultra-sonography* (US) tidak terlalu spesifik tetapi dapat membantu menegakkan diagnosis toxoplasmosis. Pada pasien toxoplasmosis yang imunodefisiensi, terkadang terjadi encephalitis dan abses otak, sehingga CT dan MRI dapat digunakan untuk menemukan tempat lesi. CT juga terkadang digunakan untuk skrining awal, dan MRI lebih sesuai untuk menentukan tingkat kerusakan. Pada toxoplasmosis kongenital, US direkomendasikan untuk diagnosis prenatal, dan CT dapat mendeteksi hidrocefalus dan kalsifikasi otak dari toxoplasmosis pada bayi.

e. Metode molekular berdasarkan deteksi asam nukelat parasit

Metode ini digunakan untuk diagnosis toxoplasmosis selain dengan serologi konvensional. Salah satu pemeriksaan untuk melihat asam nukleat parasit adalah dengan *polymerase chain reaction* (PCR)-*based molecular techniques*. PCR adalah metode amplifikasi enzimatik in

vitro yang efisien, yang memungkinkan amplifikasi DNA spesifik dari sejumlah kecil materi dalam waktu singkat (Liu, *et al.*, 2015).

2.3 Profilin

2.3.1 Profilin *Toxoplasma gondii*

Profilin sebagai kontributor kunci pada polimerisasi aktin. Profilin bekerja dengan menukar ADP (adenosin difosfat) untuk ATP (adenosin Trifosfat) pada aktin monomer dan memberikan ATP aktin ke ujung filamen (Kucera K. *et al.*, 2010).

Parasit *Toxoplasma gondii* mempunyai protein seperti profilin. *Toxoplasma gondii* bekerja dengan menyerang sel inang menggunakan *actin-dependent gliding motility*, dan seperti halnya flagella pada bakteri, profilin inilah yang berperan dalam motilitas sebagai ligan microbial. Profilin *Toxoplasma gondii* dapat dikenali oleh TLR11 (*Toll-like receptor 11*) dan TLR12 (*Toll like receptor 12*) pada sistem kekebalan bawaan inang. TLR ini berperan dalam produksi IFN- γ dan NK sel pada sistem imunitas dengan menginduksi interleukin 12 (IL-12) dan IFN- α di sel dendrit (Plattner F. *et al.*, 2008 ; Koblansky A.A. *et al.*, 2013)

Eksperimen secara biochemical membuktikan jika TLR11 dan TLR12 berikatan secara langsung ke profilin *Toxoplasma gondii* dan dapat membentuk kompleks heterodimer. Faktor transkripsi *IFN regulatory factor 8* (IRF8) juga terbukti berperan penting dalam regulasi *TLR11-TLR12-dependent IL-12 response* di sel dendrit terhadap adanya profilin *Toxoplasma gondii* (Raetz, M. *et al.*, 2013).

Parasit yang kekurangan profilin tidak mampu menginduksi produksi tergantung TLR11 dari sitokin IL-12 secara in vitro maupun in

vivo. Sehingga, profilin adalah elemen penting bagi infeksi *Toxoplasma gondii* (Plattner, F. *et al*, 2008).

2.3.2 Profilin *Toxoplasma gondii* dan Obesitas

Hasil studi tentang *Toxoplasma gondii* terkait efek profilin terhadap ekspresi IL-6 dan TNF- α dalam kultur adiposa subkutan memperlihatkan efek paparan dosis 5, 15, dan 25 ng/ml menyebabkan peningkatan kadar IL-6 dan TNF- α . Dengan meningkatnya kadar adipositokin proinflamasi tersebut sebagai patomekanisme sindrom metabolik terkait jaringan adiposa, dapat menyebabkan disfungsi adiposit (Sudjari *et al*, 2015).

Peningkatan kadar IL-6 dan TNF- α karena paparan profilin tersebut menandakan regulasi jalur sinyal TLR11 profilin di sel lemak juga meningkat, sehingga terjadi kenaikan regulasi *down stream* jalur TLR11 lewat stimulasi aktivitas dari MyD-88 serta NF- κ B sebagai jalur sinyal utama bagi respon inflamasi akibat paparan dari substansi patogenik bagi TLRs. Kadar IL-6 yang meningkat secara signifikan, mempengaruhi pengaturan uptake *fatty acid* dari jaringan adiposa lewat penurunan ekspresi LPL (*lipoprotein lipase*). Pada penelitian Sargowo, *et al* (2005) dalam Sudjari, *et al* (2015) menyebutkan jika peningkatan ekspresi dari IL-6 ini berkorelasi positif terhadap kenaikan nilai IMT / indeks massa tubuh dan juga peningkatan inflamasi yang mengarah ke sindroma metabolik (Sudjari *et al*, 2015).

Sedangkan pada penelitian lain tahun 2008 menyebutkan jika peran TNF- α berdampak pada sensitivitas insulin seluruh tubuh melalui peningkatan asam lemak bebas/ *free fatty acid* dan produksi adipokin. TNF- α akan mendorong keadaan resistensi insulin dalam jaringan

adiposa, dan seperti diketahui sebelumnya jika keadaan resistensi insulin akan mengarah ke keadaan hiperinsulinemia dan selanjutnya menyebabkan akumulasi lemak di hati. Selain itu secara signifikan TNF- α mengubah penyimpanan lemak dan kapasitas oksidatif jaringan adiposa. Oleh karena itu, TNF- α berkontribusi pada komplikasi metabolik yang berhubungan dengan obesitas dengan mengubah fungsi jaringan adiposa dan kemampuan ekspansinya (Cawthorn, W.P. dan Sethi, J.K., 2008).

Hasil penelitian lain juga mengemukakan bahwa kadar profilin serta IL-12 pada individu obesitas lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang tidak obesitas. Hal ini disebabkan karena ekspresi profilin akan meningkat saat terjadi infeksi *Toxoplasma gondii*, dimana telah diketahui bahwa profilin ini selanjutnya akan dikenali TLR11 dan TLR 12, kemudian TLR akan menginduksi produksi sitokin proinflamatori seperti IL-12. Namun pada pemeriksaan adiponektin, menunjukkan kadar yang lebih rendah pada individu yang obesitas disertai sindroma metabolik dibandingkan dengan individu yang obesitas tanpa sindroma metabolik. Kadar adiponektin yang lebih tinggi ditemukan pada individu yang tidak obesitas (Iskandar, A., *et al.*, 2011 ; Iskandar, A., *et al.*, 2016 ; Koblansky A.A. *et al*, 2013). Hal ini karena peningkatan sitokin proinflamatori dapat menurunkan aktifitas adiponektin. Penurunan aktifitas adiponektin akan meningkatkan resiko obesitas dan resistensi insulin, karena adiponektin berperan penting pada metabolisme glukosa, menurunkan asam lemak bebas yang masuk ke hati, peningkatan oksidasi asam lemak bebas, dan pencegahan resistensi insulin serta inflamasi (Kouis *et al*, 2014).

Selain itu, pemeriksaan kadar chemerin pada kelompok yang

seropositif *Toxoplasma gondii* igG menunjukkan hasil yang lebih tinggi daripada kadar chemerin pada kelompok yang negatif *Toxoplasma gondii* igG (Iskandar, A., *et al.*, 2017). Diketahui chemerin adalah salah satu adipokin yang disekresi jaringan adiposa dan memiliki peran dalam kekebalan tubuh adaptif. Chemerin diimplikasikan sebagai regulator untuk proses adipogenesis, inflamasi, dan metabolisme glukosa. Sehingga kadar chemerin yang tinggi berhubungan dengan kejadian sindroma metabolik seperti diabetes tipe 2 dan obesitas (Roman, A.A., *et al.*, 2012).

2.4 Perlemakan Hati Non-Alkohol

2.4.1 Definisi

Non-alcoholic fatty liver disease atau NAFLD adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan kondisi steatosis atau perlemakan hati sederhana tanpa ada inflamasi, steatohepatitis non-alkohol (NASH), maupun fibrosis dan sirosis sebagai akibat NASH. Dalam kondisi steatosis, kadar trigliserida intrahepatik melebihi 5% dari volume hati atau secara histologis adalah hepatosit mengandung 5% atau lebih trigliserida intraselular (Emmanuel, A. dan Inns, S., 2014; Fabbrini, E. *et al.*, 2010).

2.4.2 Faktor Resiko

Keadaan obesitas, diabetes tipe 2, hiperglikemia, serta hipertrigliseridemia menjadi faktor resiko utama dari steatosis atau NAFLD. Terlebih pada kondisi obesitas sentral. Beberapa pasien NAFLD didapatkan tidak dalam kondisi obesitas jika dilihat dari indeks massa tubuhnya, tetapi ternyata mengalami kondisi obesitas sentral (Farrel dan Larter, 2006).

Penelitian lain menyebutkan bahwa pada hewan coba maupun manusia yang obesitas, terdapat apa yang disebut CLS (*crown-like structure*), yaitu kumpulan macrophag yang mengelilingi sel adiposit yang mati. CLS ini lebih banyak di daerah viseral (omental), serta jumlah CLS di jaringan lemak omental berkorelasi dengan tingkat keparahan lesi *fibroinflammatory* pada hati dan kandungan lemak hati (Lee, *et al.*, 2010).

2.4.3 Patogenesis

Model patogenesis dari NAFLD terdiri dari 2 tahap serangan. Pada tahap awal terjadi akumulasi berlebihan trigliserida di organ hati. Faktor pemicu utama akumulasi ialah keadaan resistensi insulin yang banyak terjadi pada orang obesitas. Dengan peran jaringan lemak serta otot secara primer, akan terjadi hiperinsulinemia. Sedangkan pada organ hati yang masih sensitif insulin, terjadi kenaikan pengambilan asam lemak bebas menuju organ hati, serta meningkatnya sintesis trigliserida hepatic yang berakibat akumulasi lemak hepatic. Asam lemak bebas akan mengganggu sinyal insulin yang semakin memperparah keadaan resistensi insulin pada penderita (Emmanuel, A. dan Inns, S., 2014).

Setelah mulai terbentuk perlemakan pada jaringan hati, terjadi serangan kedua yang mengakibatkan inflamasi serta kerusakan fungsi hati. Asam lemak bebas yang terakumulasi akan teroksidasi dan memproduksi radikal bebas yang sifatnya toksik. Sehingga mengakibatkan stress oksidatif meningkat. Hal ini mengganggu fungsi kerja jaringan hati. Faktor lain yang dapat mempengaruhi tahap kerusakan kedua ini adalah abnormalitas pada mitokondria, resistensi leptin, produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α atau IL-6, serta defek

di reseptor PPAR untuk aktivasi proliferasi peroksisom yang berpengaruh pada efek insulin (Emmanuel, A. dan Inns, S., 2014).

2.4.4 Gejala

Gejala perlemakan hati tidak spesifik. Penderita NAFLD biasanya asimtomatik, sehingga kondisi ini dapat terdeteksi saat pemeriksaan rutin kadar aminotransferase yang meningkat, atau hasil ultrasonografi organ hati yang abnormal yang awalnya dilakukan untuk tujuan lain, misal kecurigaan adanya batu empedu. Kondisi hepatomegali juga biasanya ditemukan meski kondisi hati terlihat normal. Uji pada organ hati biasanya menunjukkan abnormalitas non-spesifik. Meski kadar alanin aminotransferase dan gamma-glutamyl transpeptidase akan meningkat pada banyak kasus, tetapi dapat juga bernilai normal meski terdapat kerusakan secara histologis. Uji organ hati juga terkadang tidak dapat membedakan antara steatosis, steatohepatitis (NASH), atau sirosis (Farrel dan Larter, 2006).

2.4.5 Diagnosis

Diagnosis NAFLD harus dibuktikan dengan adanya steatosis hati pada pencitraan atau secara histologi, serta telah dipastikan bukan karena penyebab penyakit hati atau steatosis lainnya. Karena NAFLD biasanya asimtomatik, diagnosis biasanya mengikuti temuan insidental pada pemeriksaan enzim hati yang abnormal atau steatosis pada pencitraan. Tetapi jika hanya mengandalkan data enzim hati yang abnormal untuk diagnosis NAFLD, menyebabkan pasien dengan penyakit hati yang lebih signifikan malah terabaikan dan tidak mendapat intervensi

yang tepat. Pada banyak kasus ditemukan bahwa 70-80% pasien yang obesitas sentral dan 50-80% pasien diabetes melitus tipe 2 ternyata memiliki bukti NAFLD pada pencitraan. Sehingga dilakukan pendekatan baru dengan melihat faktor resiko metabolik untuk identifikasi NAFLD, daripada hanya melihat pada abnormalitas enzim hati, dan skor perlemakan hatinya dihitung dengan melihat adanya sindrom metabolik, DM tipe 2, serum insulin puasa, serum aspartate transaminase puasa, dan rasio AAR. Selain itu pada pasien NAFLD peningkatan serum feritin mencerminkan aktivitas inflamasi atau resistensi insulin yang biasanya mendasari NAFLD. Namun jika ada ketidakpastian tentang diagnosis NAFLD, tindakan biopsi hati perlu dipertimbangkan (Dyson, et al., 2013).

Ketika tanda klinis telah dicurigai, adanya perlemakan hati dapat dikonfirmasi dengan pencitraan ultrasonografi sebagai penilaian kualitatif adanya perlemakan hati. Ultrasonografi efektif digunakan dalam diagnosis perlemakan hati dimana >33% hepatosit bersifat steatotic. Metode pencitraan lain untuk deteksi perlemakan hati adalah *computed tomography* (CT) scan dan *magnetic resonance imaging* (MRI), tetapi kurang sering digunakan. MRI dan *proton magnetic resonance spectroscopy* adalah teknik pengukuran perlemakan hati non-invasif yang paling akurat. Selain itu terdapat teknik invasif yang dilakukan yaitu prosedur biopsi hati. Meski jarang diperlukan untuk diagnosis, biopsi hati merupakan penyelidikan definitif dan dapat menilai steatosis hati, cedera hepatoselular, pembengkakan, dan fibrosis (Dyson, et al., 2013).

Penilaian perlemakan hati ditentukan dari seberapa banyak hepatosit yang terisi oleh lemak atau mengandung trigliserida intraselular.

Terdapat 3 tingkatan untuk menentukan kondisi keparahan perlemakan hati non alkoholik, seperti pada **Tabel 2.1** berikut.

Tabel 2.1 Tingkatan Perlemakan Hati

Grade 1	Grade 2	Grade 3
<33% hepatosit yang mengandung trigliserida intraselular	33-66% hepatosit yang mengandung trigliserida intraselular	>66% hepatosit yang mengandung trigliserida intraselular

(Hasan,I., 2015)

2.4.6 Komplikasi

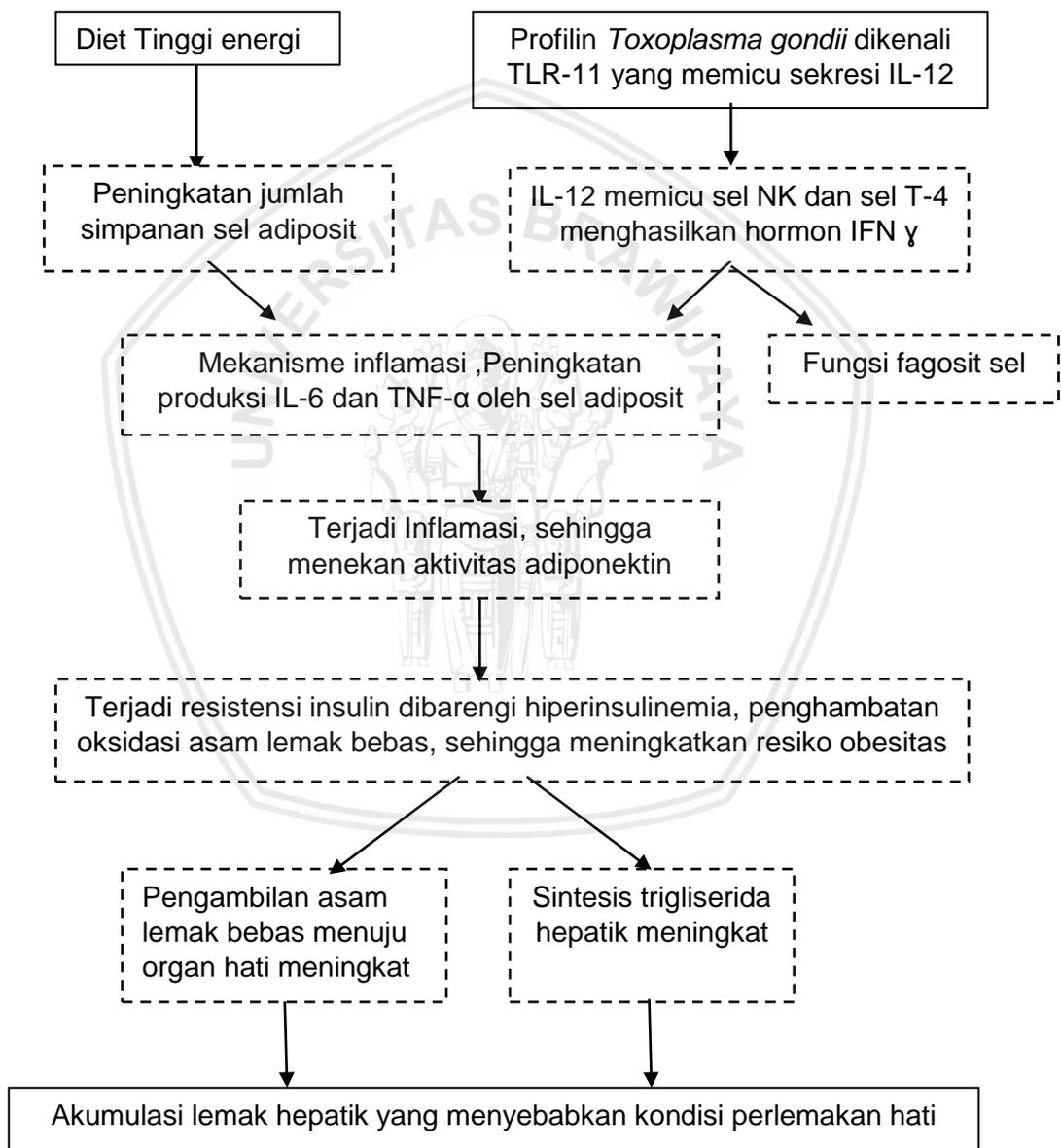
Perlemakan hati terkait dengan resistensi insulin, yang diketahui sebagai presdiposisi perkembangan gangguan metabolik seperti diabetes dan obesitas. NAFLD mempengaruhi hingga 90% pada pasien obesitas. Meskipun NAFLD asimtomatik, perkembangan NAFLD menjadi NASH bisa menyebabkan fibrosis hati, sirosis, dan akhirnya meluas menjadi kanker hati. Selain itu NAFLD dihubungkan dengan berbagai gangguan metabolik. Pada penelitian H. Lu, *et al* dilakukan meta analisis penelitian terhadap populasi eropa dan asia, ditemukan bahwa NAFLD secara signifikan memprediksi atau berkaitan dengan penyakit kardiovaskular (Ouaamari dan Minehira, 2013).

Hubungan NAFLD dengan penyakit metabolik pada anak-anak dilaporkan dalam penelitian L., Pacifico, *et al*, bahwa 21,9% anak yang obesitas memiliki kadar *tiroid stimulating hormone* (TSH) diatas nilai normal (>4 mIU/L). Nilai TSH tinggi berhubungan dengan banyak variabel metabolik seperti perlemakan hati dan resistensi insulin. Analisis regresi multivariat secara bertahap menunjukkan hubungan signifikan antara hipertirotropinemia/ peningkatan TSH dengan perlemakan hati (Ouaamari dan Minehira, 2013).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan

- : variabel yang diteliti
- : variabel yang tidak diteliti



3.1.1 Penjelasan Kerangka Konsep

Diet tinggi energi secara signifikan menyebabkan peningkatan simpanan sel adiposit tubuh. Sementara jika terjadi paparan profilin *Toxoplasma gondii*, maka akan dikenali oleh TLR11 pada sistem kekebalan bawaan inang yang memicu sekresi IL-12, lalu menyebabkan sel NK dan sel T-4 sebagai limfosit menghasilkan hormon IFN- γ sebagai bentuk perlindungan diri inang dengan aktivasi sel fagositik dan mekanisme inflamasi. Mekanisme inflamasi menyebabkan peningkatan adipositokin proinflamasi IL-6 dan TNF α yang diproduksi sel adiposit. Peningkatan IL-6 dan TNF α menghambat aktivitas adiponektin. Aktivitas adiponektin yang terganggu memicu resistensi insulin dan menghambat oksidasi asam lemak bebas, sehingga meningkatkan resiko obesitas (Yarovinsky, 2014 ; Kouis *et al.*, 2014 ; Sudjari *et al.*, 2015).

Keadaan resistensi insulin yang dipicu oleh penurunan adiponektin menyebabkan produksi insulin berlebihan atau hiperinsulinemia. Jika pada organ hati keadaanya masih sensitif terhadap insulin, maka akan memicu *uptake* asam lemak bebas berlebihan ke organ hati dan peningkatan sintesis trigleserida hepatic. Akumulasi lemak yang berlebihan ini menyebabkan perlemakan hati yang teroksidasi dan memproduksi radikal bebas yang toksik (Emmanuel dan Inns, 2014).

3.2 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan kejadian perlemakan hati antara tikus *Rattus norvegicus* strain wistar yang diberi diet normal dan yang diberi diet tinggi energi, pada paparan profilin *Toxoplasma gondii* dosis 15, 30, dan 45 $\mu\text{g/mL}$.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *post test only control group design* yang tujuannya mengetahui serta membandingkan beberapa kelompok perlakuan dengan menggunakan hewan coba tikus *rattus norvegicus strain wistar* yang dijadikan obesitas dengan diberi diet tinggi energi.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Kriteria Sampel

- 1) Kriteria Inklusi :
 - a. Tikus *rattus norvegicus strain wistar* dewasa
 - b. tidak terdapat cacat fisik
 - c. jenis kelamin jantan
 - d. Usia 3-5 bulan
 - e. Berat badan 100-150 gram

- 2) Kriteria Eksklusi :
 - a. Tikus yang mati selama perlakuan
 - b. Tikus yang tidak mau makan selama perlakuan

4.2.3 Besaran Sampel

Dalam penelitian ini dilakukan 13 perlakuan yang terdiri dari kelompok kontrol negatif (hanya diberikan pakan normal standar PAR-S), kelompok kontrol positif dengan dosis paparan profilin 15, 30, dan 45 $\mu\text{g/mL}$, serta kelompok model obesitas yang diberi diet tinggi energi dengan dosis paparan profilin 15, 30, dan 45 $\mu\text{g/mL}$. Maka, pengulangannya menurut Ferderer (1977) adalah :

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

$$(n-1)(13-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15:12$$

$$n \geq 1,25+1$$

$$n \geq 2,25 \approx 3$$

$$\text{Cadangan} = 10\% \times n$$

$$= 10\% \times 3$$

$$= 0,3 \approx 1$$

$$\text{Total sampel} = 3+1 = 4$$

Keterangan: n : jumlah sampel yang diperlukan

t : jumlah kelompok perlakuan

(Hanafiah, K. A., 2016)

Dari perhitungan ini didapatkan total sampel pada masing-masing perlakuan yaitu 4 ekor. Sehingga jumlah seluruh tikus yang digunakan pada penelitian yaitu 52 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah frekuensi dan dosis paparan profilin *Toxoplasma gondii* yang diinjeksikan, pemberian jenis diet pada tikus, dan jumlah pakan yang diberikan ke tikus.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kejadian perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar jantan.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran UB saat tahap pengadaptasian, pemeliharaan, perlakuan, dan pembedahan, serta akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UB saat tahap pembuatan preparat histologi jaringan hati tikus dan pengamatan perlemakan hati.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama 14 minggu, yaitu mulai dari bulan Maret 2017 sampai Juli 2017.

4.5 Bahan dan Alat/ Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1) Diet Normal Standar PAR-S :

Diet normal yang diberikan pada tikus dengan densitas 2.86 kkal/g.

Tabel 4.1 Komposisi Diet Normal Standar PAR-S

Bahan	Berat (g)	Energi (kkal)	KH (g)	Protein (g)	Lemak (g)	Serat (g)	Air (g)
PAR-S	750	2025	52,5	150	37,5	52,5	0
Tepung Terigu	250	823,5	193	22,5	2,5	0,75	29,5
TOTAL	1000	2857,5	245.5	172.5	40	53,25	29,5
Presentase terhadap energi			34,36%	24,14%	12,6%		

Keterangan: Komposisi di atas untuk membuat 25 butir pakan dengan pemberian per tikus sebesar 1 butir (40 g). KH dari PAR-S hanya diambil dari total serat

2) Diet Tinggi energi:

Diet tinggi energi yang diberikan pada tikus dengan densitas 3,98 kkal/g.

Tabel 4.2 Komposisi Diet Tinggi Energi

Bahan	Berat (g)	Energi (kkal)	KH (g)	Protein (g)	Lemak (g)	Serat (g)	Air (g)
Kuning telur bebek	30	115,8	0,24	5,1	10,5	0	14,1
Minyak babi	180	1623,6	0	0	180	0	0
Asam kolat	1,44	0	0	0	0	0	0
PAR-S	600	1620	42	120	30	42	0
Tepung terigu	200	666	154,4	18	2	0,6	23,6
TOTAL	1011,4	4025,4	196,64	143,1	222,5	42,6	37,7
Presentase terhadap energi			19,5%	14,2%	49,7%		

Keterangan: Komposisi di atas untuk membuat 25 butir pakan dengan pemberian per tikus sebesar 1 butir (40 g). KH dari PAR-S hanya diambil dari total serat

3) Profilin *Toxoplasma gondii* dengan dosis 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL

4) Bahan Pemeliharaan tikus :

- a. Sekam
- b. Pakan untuk diet normal standar PAR-S dan diet tinggi energi
- c. Air

5) Bahan Pembedahan Tikus : Kentamin 50 mg/ml untuk anastesi

6) Bahan Pembuatan Preparat Histologi Hati :

- a. Organ Hati Tikus
- b. Buffer Formalin 10%
- c. Paraffin
- d. Larutan Xylol
- e. Air
- f. Cat Utama Harris Hematoksilin

- g. Eosin
- h. Alkohol asam 1%
- i. Amonia Lithium Karbonat
- j. Alkohol 70%
- k. Alkohol 80%
- l. Alkohol 96%
- m. Alkohol Absolut

(IAPI, 2008).

4.5.2 Alat/ Instrumen Penelitian

1) Alat Pembuatan Pakan Hewan Coba

Pembuatan pakan hewan coba menggunakan beberapa alat seperti baskom plastik, pengaduk plastik, dan timbangan digital SF-400.

2) Alat Injeksi profilin : Spuit 1 cc

3) Alat Pemeliharaan Hewan Coba

Kandang pemeliharaan (box plastik ukuran 31x21,5x7,5 cm), botol minum plastik ukuran 60 mL, kawat penutup kandang, dan sekam.

3) Alat Pembedahan Untuk Pengambilan Sampel Hati

Spuit 5cc, gunting, scalpel, pinset, jarum, papan bedah dari lilin, dan wadah organ hati plastik ukuran R100.

4) Alat Pembuatan Preparat Histologi Hati

Tissue cassette, alat microtome, oven, pipet, pinset, pisau scalpet, bak pengecatan, objek glass/ slide, dan *cover glass*.

5) Alat Perhitungan Perlemakan Hati

Mikroskop *dot slide* Olympus BX51 dengan aplikasi *OliVIA software*, aplikasi *cell counter*, dan komputer Asus.

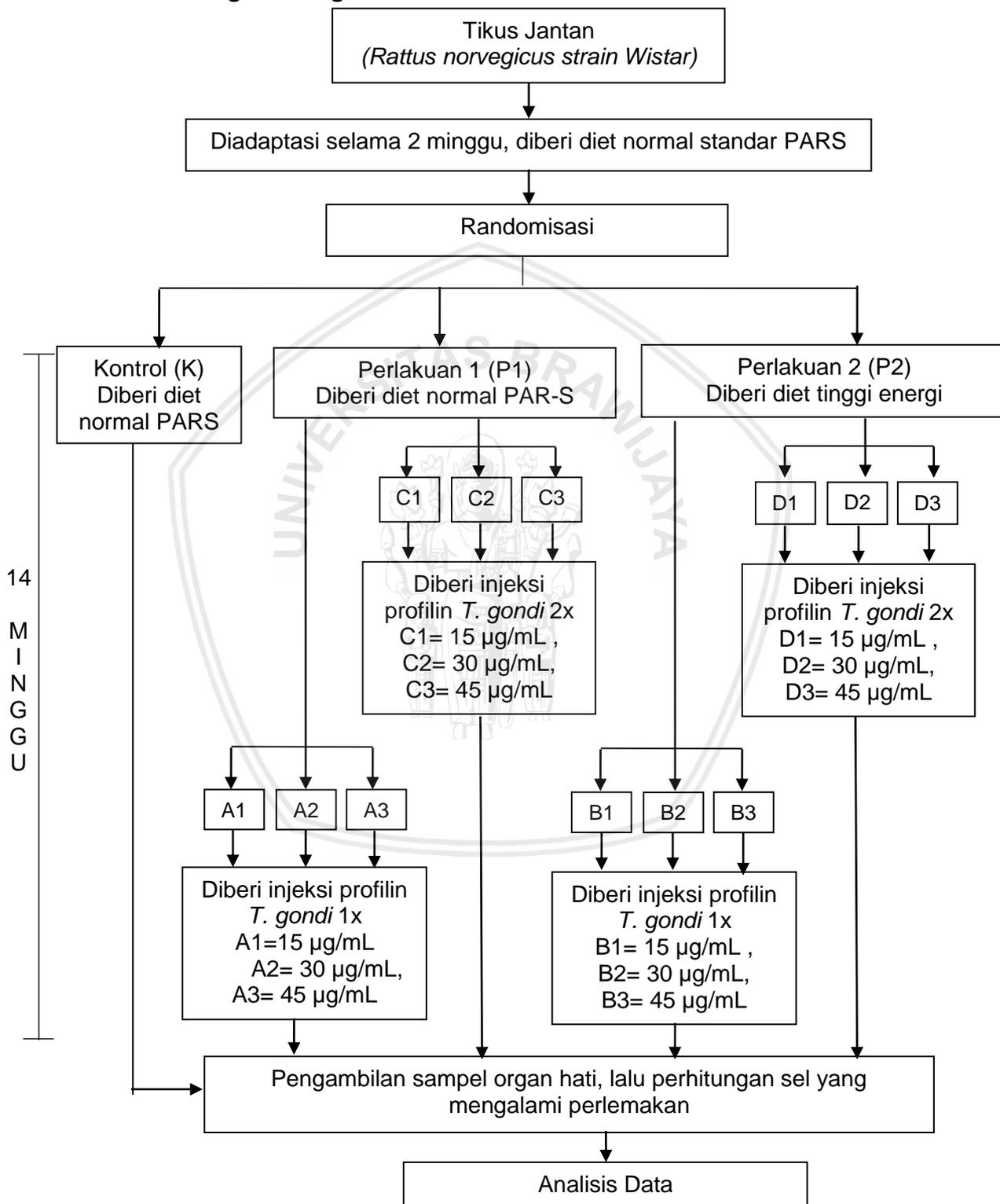
4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.3 Definisi Operasional

no	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Satuan Ukur	Skala Data
1.	Paparan Profilin <i>Toxoplasma gondii</i>	Paparan profilin <i>T.gondii</i> ke tikus <i>Rattus Norvegicus</i> Strain Wistar secara intraperitoneal, dengan dosis 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL pada kelompok perlakuan yg telah ditentukan.	µg/mL	rasio
2.	Diet Normal standar PAR-S	Diet normal standar PAR-S adalah pakan dengan densitas energi standar untuk hewan coba, sebesar 2,86 kkal/g, dengan komposisi PAR-S 75% dari produksi PT. Japfa Comfeed Tbk. dan tepung terigu 25%. Diberikan sebanyak 40 g/ hari selama 14 minggu.	kkal	rasio
3.	Diet Tinggi energi	Diet Tinggi energi adalah pakan dengan densitas energi tinggi untuk hewan coba, sebesar 3,98 kkal/g, dengan komposisi kuning telur bebek 3%, minyak babi 17,8%, asam kolat 0,1%, PAR-S 59,3% dari produksi PT. Japfa Comfeed Tbk. dan tepung terigu 19,8%. Diberikan sebanyak 40 g/hari selama 14 minggu.	kkal	rasio
4	Perlemakan Hati	Kondisi akumulasi trigliserida di hepatosit. Semua kelompok perlakuan diamati kondisi perlemakan hatinya dengan metode pengecatan HE, kemudian dilakukan perhitungan hepatosit yang mengalami perlemakan dengan mikroskop Olympus BX51 pembesaran 400x. Setelah itu dibandingkan jumlah hepatosit yang mengalami perlemakan pada masing-masing kelompok perlakuan.	%	rasio
5	Asupan Makan Tikus	Jumlah asupan makan tikus yang dihitung dengan cara menimbang berat sisa pakan setiap seminggu 2 kali, dan dinyatakan sebagai rata-rata asupan per hari per kelompok perlakuan.	g	rasio

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Langkah-Langkah Penelitian



Gambar 4.1 Langkah-Langkah Penelitian

4.7.2 Prosedur Paparan Profilin

Semua tikus kelompok perlakuan, kecuali kelompok kontrol negatif, dipapar profilin *Toxoplasma gondii* dengan cara diinjeksikan secara intraperitoneal menggunakan spuit 1 cc dengan dosis 15 µg/mL, 30 µg/mL, dan 45 µg/mL, tergantung pada masing-masing kelompok yang telah ditentukan. Kelompok A dan B dipapar profilin *t.gondii* 1 kali, dan kelompok C dan D dipapar profilin *t.gondii* 2 kali.

Profilin *T.gondii* yang dipakai untuk penelitian ini diambil dari takizoid *T.gondii* strain RH dan diperbanyak sebagai profilin rekombinan. Profilin rekombinan itulah yang digunakan pada penelitian (Yuan, F., *et al.*, 2015). Profilin *T.gondii* rekombinan dibeli dari Elabscience.

4.7.3 Prosedur Pembuatan Pakan

1) Diet Normal Standar PAR-S

- a. Mencampurkan semua bahan kering (PAR-S sebanyak 750 g dan tepung terigu sebanyak 250 g).
- b. Menambahkan air hingga pakan mudah dibentuk bulat.
- c. Membentuk pakan menjadi bulatan.
- d. Menimbang pakan masing-masing bulatan seberat 40 g (sebanyak 25 butir).

2) Diet Tinggi energi

- a. Mencampurkan semua bahan kering (PAR-S sebanyak 600 g dan tepung terigu sebanyak 200 g).
- b. Mencampurkan bahan kering dengan kuning telur bebek 30 g, minyak babi 180 g, dan asam kolat 1,44 g.
- c. Menambahkan air secukupnya, hingga mudah dibentuk.

- d. Membentuk pakan menjadi bulatan.
- e. Menimbang pakan masing-masing bulatan seberat 40 g (sebanyak 25 butir).

4.7.4 Prosedur Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Tikus yang datang diadaptasi selama 2 minggu
- b. Pakan tikus disesuaikan kelompoknya, yaitu kelompok dengan diet normal standar PAR-S dan dengan diet tinggi energi
- c. Kandang dibersihkan dan diganti sekamnya setiap dua kali/ mg
- d. Setiap minggu dilakukan penimbangan berat badan tikus
- e. Pada tanggal 30 Maret 2017 dilakukan injeksi profilin *Toxoplasma gondii* pertama secara intraperitoneal pada semua kelompok
- f. Pada tanggal 20 Juni 2017 dilakukan injeksi profilin *Toxoplasma gondii* kedua secara intraperitoneal hanya pada kel. C dan D.

4.7.5 Prosedur Pembedahan untuk Pengambilan Sampel Hati

- a. Dilakukan anastesi dengan Kentamin 50 mg sebanyak 0,4 – 0,5 ml
- b. Melakukan pembedahan untuk mengambil organ hati tikus
- c. Organ hati yang telah diambil segera diletakkan ke wadah plastik ukuran R100 yang telah diisi bufer formalin 10%
- d. Tikus yang telah dibedah dan diambil organnya segera dikuburkan

4.7.6 Prosedur Pemeriksaan Sel Hati dengan Perlemakan

1) Proses Pematangan Jaringan

- a. Jaringan sudah terfiksasi dengan bafer formalin 10% minimal selama 7 jam sebelum proses berikutnya
- b. jaringan dipilih yang terbaik sesuai lokasi yang akan diteliti

- c. Jaringan dipotong setebal \pm 2-3 mm
- d. kemudian dimasukkan ke *tissue cassette* yang diberi kode sesuai yang ditentukan peneliti

2) Metode *Processing* Jaringan

- a. Penyempurnaan fiksasi : formalin 10% 0-3 jam
- b. Dehidrasi : Alkohol 70% selama 0,5 jam
 Alkohol 95% selama 0,5 jam
 Alkohol 100% selama 0,5 jam
 Alkohol 100% selama 1 jam
 Alkohol 100% selama 1 jam
 Alkohol 100% selama 1 jam
 Alkohol 100%/ xylol selama 0,5 jam
- c. Clearing : Xylol selama 1 jam
 Xylol selama 2 jam
- d. Impregnansi : Parafin selama 2,5 jam
 Parafin selama 4 jam

3) Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan

- a. Melakukan "*embedding*" jaringan kerokan juga harus diyakini bahwa seluruh keping jaringan berada dipermukaan sehingga akan muncul secara utuh dalam pemotongan dengan mikrotom
- b. Jaringan di blok dengan parafin sesuai kode jaringan
- c. Jaringan di potong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron, dengan pisau yang tajam/ disposable
- d. Pita parafin dimekarkan dengan cara yang beragam, antara lain dengan menggunakan penangas air atau ditempelkan langsung pada kaca benda yang telah dibasahi air, kemudian diletakkan pada lempeng penghangat dengan suhu 60°C.

4) Proses Pewarnaan dengan HE (*Haematoxylin-Eosin*)

- a. Cat utama Harris Hematoksilin selama 10 hingga 15 menit
- b. Kemudian cuci di air mengalir selama 15 menit
- c. Celupkan ke alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup
- d. Celupkan kembali ke amonia lithium karbonat sebanyak 3-5 celup
bila hasilnya kurang biru
- e. Terakhir cat dengan eosin selama 10-15 menit

(IAPI, 2008).

5) Prosedur Pembacaan Preparat HE

Slide jaringan hati diamati melalui mikroskop *dot slide* Olympus BX51. Pengaturan awal mikroskop dengan lensa okuler pembesaran 10x dan lensa objektif pembesaran 4x akan memperlihatkan hepatosit yang membentuk jaringan hati. Lalu dipindahkan ke lensa objektif dengan perbesaran 400x, akan terlihat sel busa yang nampak seperti ruang kosong diantara inti dan membran hepatosit, karena lemak akan luntur dengan pewarnaan HE.

Kemudian slide dipindai dengan mikroskop *dot slide* Olympus BX51 pada bagian tertentu yang jaringannya bagus/ terlihat jelas, lalu hasil pemindaian dapat dilihat dengan aplikasi *OliVIA software*. Kemudian dilakukan pengamatan, dan hepatosit yang mengalami perlemakan dapat dihitung dengan *software cell counter*. Perlemakan hati akan ditentukan berdasarkan jumlah hepatosit yang mengandung trigliserida intrahepatik (dihitung per 100 sel atau dalam bentuk %) (Triliana, 2005 dalam Jayanti, 2011 ; Sastri dan Kadri, 2012).

4.8 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan program SPSS untuk windows versi 16. Dilakukan uji statistik dengan metode uji *one way* ANOVA untuk mengetahui perbedaan perlemakan hati pada lebih dari 2 kelompok. Sebelum dilakukan uji, perlu dipastikan bahwa data memenuhi asumsi, yaitu homogen serta distribusinya normal. Uji homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene Test Homogeneity of Variance*, kemudian dilakukan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk melihat apakah distribusi data normal. Jika terbukti bahwa data homogen dan distribusinya normal, maka dapat dilanjutkan melakukan uji *one way* ANOVA.

Setelah melakukan uji *one way* ANOVA dan terbukti H_0 ditolak ($p < 0,05$), maka kemudian dilakukan uji Post-Hoc metode *Tukey HSD*. Uji Post-Hoc adalah sebagai uji lanjutan *multiple comparisons* untuk mengetahui lebih spesifik kelompok yang manakah yang memiliki perbedaan paling signifikan, dimana dikatakan ada perbedaan yang bermakna apabila $p < 0,05$.

Selanjutnya, dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk mengetahui hubungan antara dosis profilin *Toxoplasma gondii* yang diberikan dengan perubahan berat badan tikus. Uji *Pearson* dinyatakan signifikan jika H_0 ditolak atau $p < 0,05$.

Namun jika asumsi dalam *one way* ANOVA tidak dapat terpenuhi, misalnya data tidak terdistribusi normal atau data tidak homogen, maka analisis data dilakukan dengan metode *Kruskal Wallis* sebagai uji non-parametrik. Pada uji *Kruskal Wallis* dikatakan terdapat perbedaan yang bermakna jika $p < 0,05$.

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Perkembangan Berat Badan Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Dilakukan penimbangan berat badan tikus *Rattus norvegicus* strain wistar setiap satu minggu sekali, selama 14 minggu masa perlakuan. Penimbangan berat badan pertama dilakukan pada 16 Maret 2017 dan penimbangan terakhir dilakukan pada 13 Juli 2017, sebelum tikus dibedah. Berikut data perkembangan berat badan tikus dilihat pada tabel 5.1.

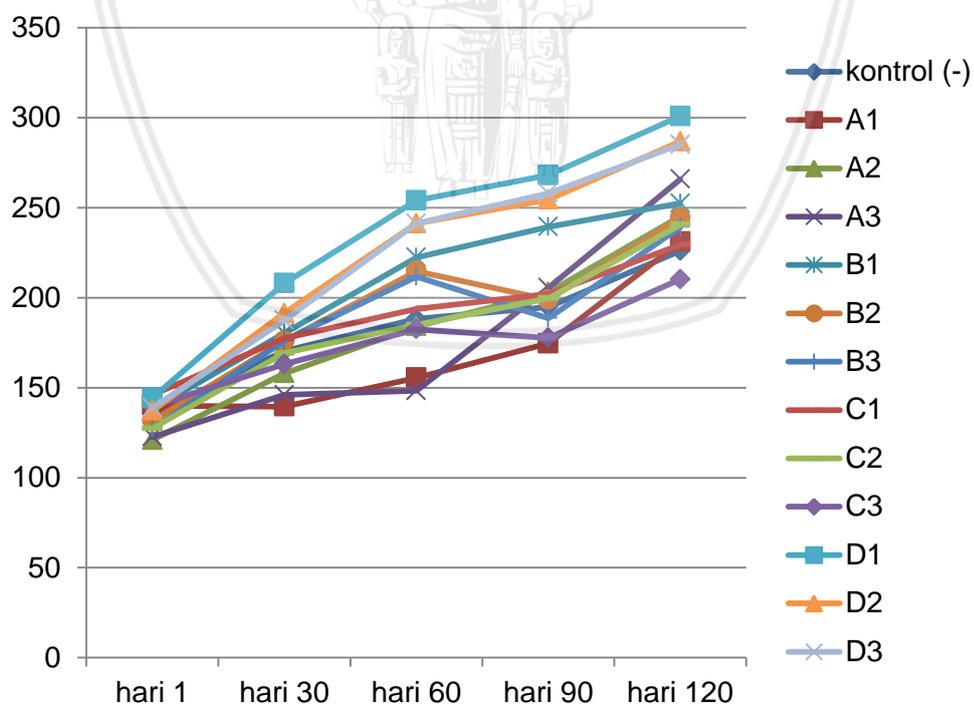
Tabel 5.1 Peningkatan Berat Badan Tikus

Kelompok	Berat Badan (g)						Perubahan Berat Badan (mean \pm SD)
	Hari 1	Hari 30	Hari 60	Hari 90	Hari 120	Rata-rata	
Kontrol (-)	135,60	170,40	188,20	194,80	226,00	183,00	90,40 \pm 21,91
A1	140,00	139,50	155,50	174,50	232,25	168,10	86,50 \pm 24,04
A2	121,00	158,00	184,00	203,00	245,25	178,25	98,00 \pm 20,56
A3	122,67	146,00	148,33	205,50	265,75	177,65	109,00 \pm 27,36
B1	138,00	180,33	222,33	239,33	252,38	197,93	97,67 \pm 39,58
B2	131,67	176,00	214,67	198,83	244,33	193,10	91,16 \pm 35,92
B3	127,33	176,00	211,67	188,67	239,17	188,57	93,50 \pm 34,33
C1	146,00	177,40	193,80	202,00	229,40	189,72	82,20 \pm 48,25
C2	127,40	169,20	184,80	199,60	240,60	184,32	113,20 \pm 60,86
C3	139,60	163,00	182,40	177,60	210,20	174,56	70,60 \pm 42,75
D1	144,20	208,00	254,00	268,00	300,80	235,00	156,60 \pm 16,10
D2	137,20	191,40	241,20	254,40	286,80	222,20	149,60 \pm 29,87
D3	138,80	187,40	241,20	258,00	285,00	222,08	146,20 \pm 24,52

Keterangan :A1 : Diet normal+1x injeksi profilin 15 μ g/mlA2 : Diet normal+1x injeksi profilin 30 μ g/mlA3 : Diet normal+1x injeksi profilin 45 μ g/mlB1 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 15 μ g/mlB2 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 30 μ g/mlB3 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 45 μ g/mlC1 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 15 μ g/mlC2 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 30 μ g/mlC3 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 45 μ g/mlD1 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 15 μ g/mlD2 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 30 μ g/mlD3 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 45 μ g/ml

Dari **tabel 5.1** diatas dapat dilihat jika pada setiap kelompok perlakuan, semua tikus mengalami perubahan berat badan yang bermacam-macam. Rata-rata berat badan terbesar adalah pada kelompok yang diberi diet tinggi energi dengan injeksi 2 kali profilin dosis 15 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok D1). Sedangkan rata-rata berat badan terendah adalah kelompok yang diberi diet normal dengan injeksi 1 kali profilin dosis 15 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok A1).

Pada **tabel 5.1** juga menunjukkan perubahan berat badan masing-masing kelompok yang juga berbeda. Perubahan berat badan tertinggi adalah kelompok yang diberi diet tinggi energi dengan injeksi 2 kali profilin dosis 15 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok D1). Sedangkan perubahan berat badan yang paling rendah adalah pada kelompok yang diberi diet normal dengan injeksi 2 kali profilin dosis 45 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok C3).

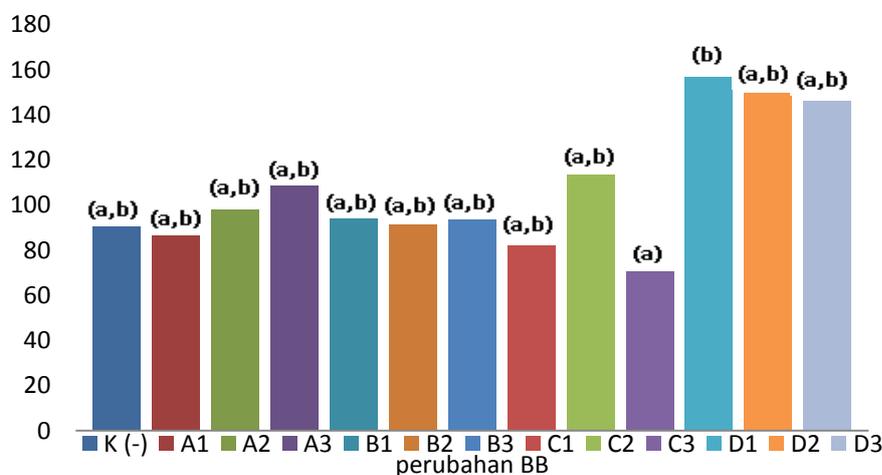


Gambar 5.1 Grafik Peningkatan Berat Badan Tikus

Pada uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* untuk perubahan berat badan tikus, didapatkan nilai $p= 0,200$. Maka, jika $p > 0,05$ dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene Test Homogeneity of Variance*, yang menunjukkan nilai $p= 0,641$. Sehingga antar kelompok mempunyai varian yang sama/ homogen.

Selanjutnya, karena asumsi uji *one-way Anova* pada perubahan berat badan tikus telah terpenuhi, maka uji *one-way Anova* dapat dilakukan. Hasil uji menunjukkan bahwa nilai signifikansi $p= 0,004$ atau $p < 0,05$. Maka H_0 ditolak, yang artinya paling tidak terdapat 2 perbedaan perubahan berat badan pada tikus yang diinjeksi profilin *Toxoplasma gondii* dosis 15, 30, dan 45 $\mu\text{g/mL}$ dengan diberi diet normal dan diet tinggi energi.

Setelah diketahui bahwa ada pengaruh yang signifikan atas perlakuan antar kelompok terhadap perubahan berat badan tikus, maka uji lanjutan *multiple comparisons* dilakukan dengan Post Hoc metode *Tukey HSD*. Berdasarkan hasil uji, diketahui kelompok perlakuan mana saja yang berbeda signifikan, yaitu antara kelompok yang diberi diet normal dengan injeksi 2 kali profilin dosis 45 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok C3) dengan kelompok yang diberi diet tinggi energi dengan injeksi 2 kali profilin dosis 15 $\mu\text{g/ml}$ (kelompok D1), dengan nilai $p= 0,022$.



Gambar 5.2 Grafik Perbedaan Peningkatan Berat Badan Tikus antar Kelompok Perlakuan

5.2 Hubungan antara Dosis Profilin *Toxoplasma gondii* dengan Perkembangan Berat Badan Tikus

Dilakukan uji korelasi *Pearson* untuk melihat hubungan antara dosis pemberian profilin *Toxoplasma gondii* dengan perubahan berat badan tikus yang diberi diet normal maupun diet tinggi energi. Berikut hasil uji *Pearson* pada setiap kelompok perlakuan dilihat pada **tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Hasil Uji Korelasi Dosis Profilin dengan Perkembangan Berat Badan Tikus setiap Kelompok perlakuan

Perubahan BB	Dosis Profilin
kel. diet normal, 1x injeksi	$p= 0,399$
kel. diet tinggi energi, 1x injeksi	$p= 0,981$
kel. diet normal, 2x injeksi	$p= 0,733$
kel. diet tinggi energi, 2x injeksi	$p= 0,492$

Pada seluruh kelompok perlakuan $p > 0,05$ maka H_0 diterima, atau tidak terdapat hubungan antara dosis profilin *Toxoplasma gondii* dengan perubahan berat badan tikus.

5.3 Rata-rata Asupan Makan serta Zat Gizi pada Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Perhitungan asupan makan tikus dilakukan 2 kali setiap minggu dengan cara menimbang sisa makanan. Terdapat 2 macam diet yang diberikan, yaitu diet normal standar PAR-S dengan densitas 2,86 kkal/g serta diet tinggi energi dengan densitas 3,98 kkal/g. Tikus diberi makan sebanyak 40 gram per hari selama 14 minggu masa perlakuan sesuai diet untuk masing-masing kelompok.

Perhitungan asupan zat gizi dihitung dengan mengkonversikan kandungan zat gizi pakan ke nilai energi, karbohidrat, protein, dan lemak untuk masing-masing jenis diet. Data rata-rata asupan dan zat gizi tikus per hari pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada **tabel 5.3**.

Tabel 5.3 Rata-rata Asupan Makan dan Zat Gizi Tikus per Hari

Kelompok	Rata-rata Asupan Makan				
	Jumlah (g)	Energi (kkal)	KH (g)	Protein (g)	Lemak (g)
Kontrol (-)	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
A1	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
A2	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
A3	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
B1	40,00	151,32	5,81	1,27	7,33
B2	40,00	144,53	5,55	1,22	7,00
B3	40,00	149,08	5,73	1,26	7,22
C1	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
C2	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
C3	40,00	114,40	7,72	1,44	0,22
D1	40,00	140,75	5,41	1,19	6,81
D2	40,00	142,70	5,48	1,20	6,91
D3	40,00	144,15	5,54	1,21	6,98

Keterangan:

A1 : Diet normal+1x injeksi profilin 15µg/ml

A2 : Diet normal+1x injeksi profilin 30µg/ml

A3 : Diet normal+1x injeksi profilin 45µg/ml

B1 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 15µg/ml

B2 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 30µg/ml

B3 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 45µg/ml

C1 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 15µg/ml

C2 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 30µg/ml

C3 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 45µg/ml

D1 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 15µg/ml

D2 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 30µg/ml

D3 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 45µg/ml

Asupan jumlah makan yang terendah adalah pada kelompok yang diberi diet tinggi energi dengan injeksi 2 kali profilin dosis 15µg/ml (kelompok D1). Sedangkan kelompok yang diberi diet normal cenderung selalu menghabiskan makanannya setiap hari (kelompok A1, A2, A3, C1, C2, C3). Sementara asupan energi tertinggi adalah kelompok yang diberi diet tinggi energi dengan injeksi 1 kali profilin dosis 15µg/ml (kelompok B1) dengan total 151,32 kkal per hari.

Pada uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* untuk data asupan makan dan zat gizi, nilai probabilitas pada rata-rata asupan makan, energi, karbohidrat, protein, dan lemak adalah $p = 0,000$, namun syarat data terdistribusi normal adalah jika $p > 0,05$. Maka, disimpulkan data tidak terdistribusi normal.

Jika data tidak terdistribusi normal, maka dilakukan uji non paramterik, yaitu uji *Kruskal Wallis*. Pada uji *Kruskal Wallis*, didapatkan hasil yaitu nilai

probabilitas rata-rata asupan makan, asupan energi, karbohidrat, protein, dan lemak adalah $p = 0,000$. Sehingga dapat dikatakan bahwa ada perbedaan yang signifikan pada rata-rata asupan makan, asupan energi, asupan karbohidrat, asupan protein, dan asupan lemak tikus di masing-masing kelompok perlakuan.

5.4 Kejadian Perlemakan Hati pada Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar

Pengamatan sel hati tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar di masing-masing kelompok perlakuan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 400x pada 4 lapang pandang yang dianggap mewakili 100 sel. Kemudian menghitung hepatosit yang mengalami perlemakan dengan *software cell counter* pada masing-masing lapang pandang. Dikatakan terjadi perlemakan jika hepatosit mengandung 5% atau lebih trigliserida intrahepatik pada total 4 lapang pandang tersebut. Data jumlah sel hati yang mengalami perlemakan pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada **tabel 5.4**.

Tabel 5.4 Persentase Sel Hati yang Mengalami Perlemakan

Kelompok	n	Rata-rata % perlemakan hati tiap kelompok
Kontrol (-)	5	1,20%
A1	4	0,50%
A2	4	1,25%
A3	5	2,25%
B1	6	3,33%
B2	6	2,80%
B3	6	2,80%
C1	5	2,40%
C2	5	1,75%
C3	5	3,00%
D1	5	3,60%
D2	5	2,75%
D3	5	2,00%

Keterangan:

A1 : Diet normal+1x injeksi profilin 15 μ g/ml

A2 : Diet normal+1x injeksi profilin 30 μ g/ml

A3 : Diet normal+1x injeksi profilin 45 μ g/ml

B1 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 15 μ g/ml

B2 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 30 μ g/ml

B3 : Diet tinggi energi+1x injeksi profilin 45 μ g/ml

C1 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 15 μ g/ml

C2 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 30 μ g/ml

C3 : Diet normal+ 2x injeksi profilin 45 μ g/ml

D1 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 15 μ g/ml

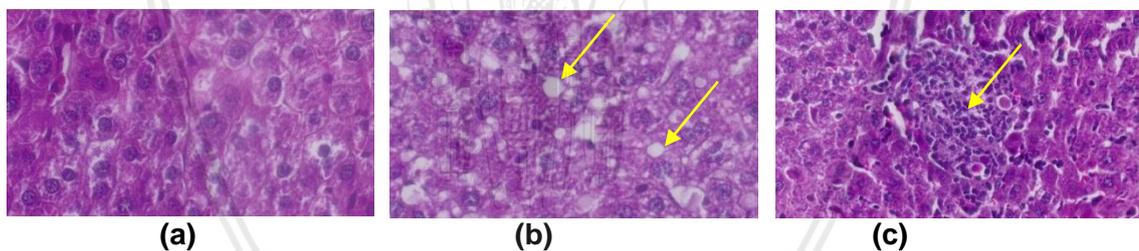
D2 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 30 μ g/ml

D3 : Diet tinggi energi+ 2x injeksi profilin 45 μ g/ml

Uji normalitas *Kolmogorov-smirnov* menunjukkan nilai signifikansi $p=0,001$. Syarat data dikatakan terdistribusi normal jika nilai $p > 0,05$. Maka, disimpulkan data tidak terdistribusi normal.

Pada uji normalitas data tidak terdistribusi normal, sehingga uji *one way ANOVA* tidak dapat dilakukan. Maka uji yang dilakukan adalah uji non paramterik *Kruskal Wallis*. Pada uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai $p=0,711$. Sehingga kesimpulannya tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada persentase perlemakan hati pada ketiga belas kelompok perlakuan.

Hasil pengamatan jaringan hati yang mengalami perlemakan akan menunjukkan trigliserida intrahepatik pada hepatosit yang terlihat seperti ruang kosong diantara inti dan membran hepatosit. Gambaran histologis hati dengan pengecatan HE dan perbesaran 400x dapat dilihat pada **gambar 5.3**.



Gambar 5.3 Gambaran Histologis Hati
(a) jaringan hati normal; (b) hepatosit yang mengalami perlemakan, (b) nampak trigliserida intrahepatik (tanda panah); (c) inflamasi pada jaringan hati. Terjadi infiltrasi limfosit (tanda panah) (H&E, x400)

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek paparan profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kejadian perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar jantan yang dibagi kedalam 13 kelompok perlakuan. Pada penelitian ini, hewan coba diberikan 2 jenis diet, yaitu diet tinggi energi dan diet normal standar PAR-S, untuk melihat apakah ada perbedaan pada jumlah asupan makan dan energi yang dikonsumsi. Hal ini karena asupan energi yang dikonsumsi juga akan mempengaruhi kejadian obesitas pada tikus (Oetomo, K.S., 2011) selain karena paparan profilin *T.gondii* itu sendiri. Berdasarkan hasil penelitian, terbukti bahwa paparan profilin *T.gondii* tidak berpengaruh pada kejadian perlemakan hati tikus di ketigabelas kelompok perlakuan.

Profilin sendiri adalah protein pengikat aktin yang ditemukan pada organisme eukariotik, salah satunya pada protozoa *Toxoplasma gondii*, yang terlibat dalam perkembangan sel, sitokinesis, transportasi membran, dan motilitas sel (Krishnan dan Moens, 2009). Pada tubuh inang, profilin *T.gondii* dapat dikenali oleh TLR11 (*Toll-like receptor 11*) dari struktur *acidic loop* nya yang khas, kemudian hal ini memicu respon sekresi sitokin proinflamatori interleukin 12 (IL-12) pada makrofag. Sekresi IL-12 mempengaruhi sel NK dan sel T-4 memproduksi hormon interferon gamma (IFN- γ) untuk mengaktifkan sistem kekebalan tubuh inang lewat aktivasi sel fagositik dan mekanisme inflamasi (Kucera, *et al.*, 2010; Yarovinsky, 2014). Inflamasi pada jaringan adiposa dapat mengarah ke disfungsi adiposa dan tingginya sitokin proinflamatori akan

menekan aktivitas adiponektin, sehingga hal ini meningkatkan resiko akumulasi berlebihan lemak tubuh atau obesitas (Kouis *et al*, 2014; Sudjari *et al*, 2015).

Kondisi obesitas berkaitan dengan gangguan metabolik dan berbagai komplikasi, salah satunya perlemakan hati. Penelitian tahun 2005 oleh Adams L.A., *et al* menyatakan jika hampir pada seluruh individu yang obesitas cenderung mengalami perlemakan hati (Ricci, 2012). Mekanisme obesitas dapat menyebabkan perlemakan hati, karena pada tubuh penderita obesitas mengalami *chronic low grade inflammation* yang menyebabkan keadaan resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan hiperinsulinemia yang akan mengarah ke peningkatan pengambilan asam lemak bebas menuju hati dan juga peningkatan sintesis trigliserida hepatic, sehingga terjadi akumulasi lemak pada jaringan hati. Semakin lama akumulasi lemak semakin banyak sehingga terjadi perlemakan hati (de Luca dan Olefsky, 2008; Emmanuel, A. dan Inns, S., 2014).

Menurut hasil pengukuran pada **tabel 5.1** dan **tabel 5.4** terlihat bahwa rata-rata berat badan dan persentase perlemakan hati terendah yaitu pada kelompok A1 (Diet normal standar PAR-S dengan 1 kali injeksi profilin *T.gondii* dosis 15µg/ml), sedangkan rata-rata berat badan dan persentase perlemakan hati tertinggi ada pada kelompok D1 (Diet tinggi energi dengan 2 kali injeksi profilin *T.gondii* dosis 15µg/ml). Sehingga dapat dilihat bahwa pemberian injeksi profilin *T.gondii* sebanyak 2 kali dengan dosis 15µg/ml dan diet tinggi energi mampu meningkatkan berat badan serta persentase perlemakan hati.

Seperti yang telah dibahas sebelumnya, profilin *T.gondii* yang diinjeksikan akan dikenali oleh TLR11 pada sistem kekebalan bawaan inang, kemudian memicu respon inflamasi dengan mempengaruhi sel lemak untuk meningkatkan sintesis IL-6 dan TNF-α sebagai sitokin proinflamatori (Kucera, *et al.*, 2010;

Sudjari *et al*, 2015). Sehingga frekuensi injeksi profilin *T.gondii* 2 kali pada tikus, akan semakin meningkatkan respon inflamasi dalam tubuh daripada yang hanya diinjeksikan 1 kali. Kemudian ditambah dengan cadangan lemak yang lebih banyak karena pemberian diet tinggi energi, maka sel lemak yang mensintesis sitokin proinflamatori juga semakin banyak. Respon inflamasi yang lebih besar akan semakin meningkatkan resiko disfungsi adiposit dan akumulasi lemak dalam tubuh maupun dalam organ hati (Kouis *et al*, 2014; Sudjari *et al*, 2015).

Namun disisi lain, untuk dapat dikatakan bahwa terdapat perlemakan hati, sampel harus memenuhi 5% atau lebih persentase trigliserida intrahepatik (Emmanuel, A. dan Inns, S., 2014). Sedangkan pada **tabel 5.4**, rata-rata persentase perlemakan hati pada seluruh kelompok tidak ada yang mencapai 5%. Sehingga disimpulkan bahwa tidak terjadi perlemakan hati pada seluruh kelompok perlakuan.

Pada uji *Kruskal Wallis* persentase perlemakan hati juga menunjukkan nilai signifikansi $>0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada persentase perlemakan hati pada ketiga belas kelompok perlakuan. Hal ini mungkin saja terjadi karena pengaruh variabel lain selain dosis dan frekuensi injeksi, yaitu jenis diet yang diberikan.

Secara teori, pemberian diet tinggi energi akan lebih berefek pada peningkatan berat badan dan persentase perlemakan hati daripada diet normal, dengan asumsi awal bahwa asupan makan seluruh kelompok sama. Hal ini sejalan dengan jurnal *review* tahun 2010 yang menyatakan bahwa pemberian diet tinggi energi dalam jangka waktu tertentu dapat meningkatkan trigliserida intrahepatik yang berkontribusi langsung terhadap perkembangan NAFLD (Sullivan, S., 2010). Tetapi selama 14 minggu masa perlakuan, pada minggu ke

12, 13, dan 14 terlihat jika terjadi penurunan jumlah asupan makan beberapa tikus pada kelompok yang diberi diet tinggi energi (kelompok B dan D). Kondisi ini menyebabkan berat badan tikus tersebut menurun di akhir minggu intervensi. Sehingga hal ini tentu menurunkan kejadian perlemakan hati pada tikus dengan diet tinggi energi, karena seperti diketahui sebelumnya bahwa pencetus utama terjadinya perlemakan pada organ hati adalah keadaan obesitas itu sendiri. Maka dari itu, hasil analisis persentase perlemakan hati antar kelompok perlakuan menjadi tidak signifikan.

Faktor lainnya juga diduga menyebabkan tikus tidak mengalami perlemakan hati karena berat badan yang kurang, yaitu faktor stress. Penelitian membuktikan jika asupan makan dan berat badan tikus dapat turun dengan cepat saat tikus mengalami stress setiap hari (Jeong *et al.*, 2013). Tikus mudah mengalami stress akibat berbagai prosedur perlakuan yang diberikan, termasuk ketika memindahkan tikus, baik secara langsung maupun saat berada dalam kandang (Balcombe *et al.*, 2004). Selain itu suara-suara disekitar kandang dan isolasi sosial juga dapat memicu stress (Ellacott *et al.*, 2010).

Menurut studi pada populasi obesitas oleh Huang, J. *et al* (2018), menemukan bahwa individu yang seropositif infeksi *T.gondii* mengalami peningkatan serum lipid, asam urat, dan gula darah puasa, sehingga hal ini menyebabkan resiko mengalami NAFLD pada individu yang seropositif infeksi *T.gondii* lebih tinggi daripada yang seronegatif. Kemungkinan kondisi tikus yang belum mengalami biomarker metabolik tersebut menyebabkan tikus tidak mengalami perlemakan hati dan pada uji *Kruskal Wallis* persentase perlemakan hati tikus menjadi tidak signifikan antar kelompok perlakuan.

Selain akumulasi trigliserida intrahepatik, tanda lain yang khas ditemukan pada NAFLD adalah infiltrasi sel-sel inflamasi seperti eosinofil, neutrofil, sel Kupffer, dan terutama limfosit yang jumlahnya paling banyak. Infiltrasi dari sel-sel ini menunjukkan adanya inflamasi pada daerah tersebut (Gao dan Tsukamoto, 2016; Takahashi dan Fukusato, 2014). Hal ini sejalan dengan penelitian Gadd, *et al.*, (2014) yang menunjukkan bahwa infiltrasi limfosit T yang signifikan memiliki korelasi dengan keparahan penyakit pada pasien dengan NAFLD, sehingga diduga limfosit T memicu perkembangan dari NAFLD.

Selain menghitung sel hati yang mengalami perlemakan, pada penelitian ini juga dilihat apakah ada infiltrasi limfosit pada sampel jaringan hati. Hasilnya, sebagian besar sampel jaringan hati pada tikus yang diinjeksi profilin *T.gondii* menunjukkan adanya infiltrasi limfosit yang menandai adanya inflamasi disana.

Limfosit berperan dalam sistem imunitas tubuh untuk merespon antigen asing. Limfosit akan terus menerus bersirkulasi di daerah tertentu, dan hanya akan aktif ketika terjadi kontak langsung dengan antigen dari patogen. Sehingga limfosit harus mendatangi jaringan dimana antigen tersebut ditemukan (von A dan Mackay, 2000 dalam Shetty, *et al.*, 2008). Hal inilah yang menyebabkan infiltrasi limfosit terlihat pada sampel jaringan hati pada tikus yang diinjeksi profilin *T.gondii*. Infiltrasi limfosit di jaringan hati ini menunjukkan organ hati mengalami inflamasi. Jaringan hati yang mengalami inflamasi diduga sebagai salah satu tanda perkembangan selanjutnya dari NAFLD (Takahashi dan Fukusato, 2014).

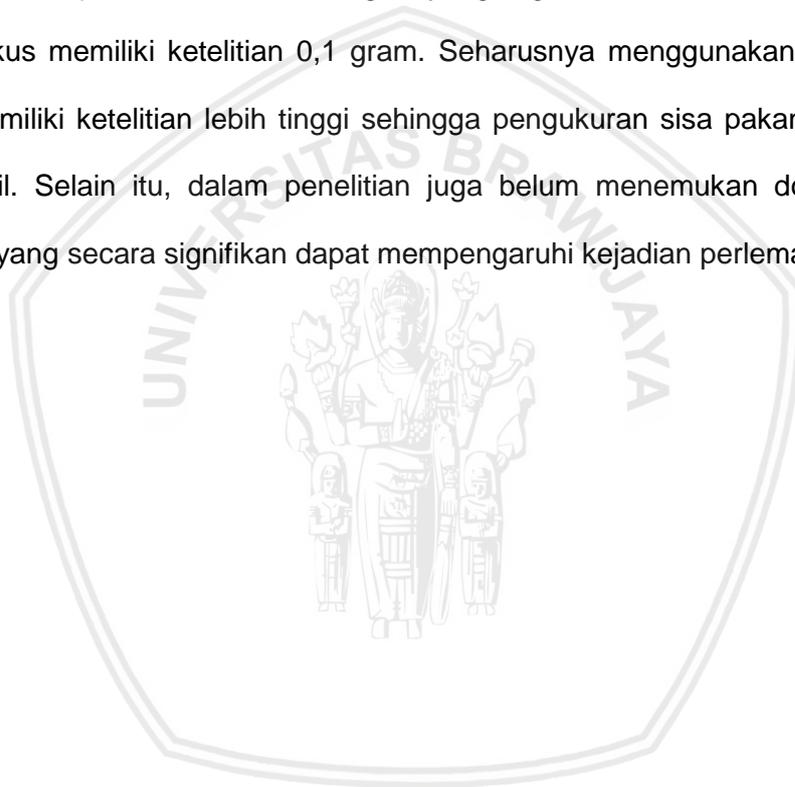
6.2 Implikasi terhadap Bidang Gizi Kesehatan

Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa profilin *Toxoplasma gondii* tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kejadian perlemakan hati. Maka

dibutuhkan penelitian lebih lanjut lagi terkait dosis paparan profilin *T.gondii* yang dapat mempengaruhi pembentukan perlemakan hati maupun penambahan waktu penelitian agar pengaruh paparan profilin *T.gondii* dapat dicermati lebih jauh.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Dalam penelitian ini, timbangan yang digunakan untuk mengukur sisa pakan tikus memiliki ketelitian 0,1 gram. Seharusnya menggunakan timbangan yang memiliki ketelitian lebih tinggi sehingga pengukuran sisa pakan bisa lebih mendetail. Selain itu, dalam penelitian juga belum menemukan dosis profilin *T.gondii* yang secara signifikan dapat mempengaruhi kejadian perlemakan hati.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisa serta pembahasan terhadap penelitian yang telah dilakukan, maka disimpulkan bahwa paparan profilin *Toxoplasma gondii* tidak berpengaruh terhadap kejadian perlemakan hati pada tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar, namun dapat memicu terjadinya inflamasi pada jaringan hati.

7.2 Saran

Mengingat kekurangan serta keterbatasan dalam penelitian ini, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

1. Penyebab lain terjadinya perlemakan hati.

Kemungkinan terdapat variabel lain yang menyebabkan kejadian perlemakan hati pada tikus, misalnya jenis tikus pada penelitian, atau kaitan antara diet yang diberikan dengan respon imunitas terhadap profilin *Toxoplasma gondii*.

2. Dosis profilin *Toxoplasma gondii* yang diberikan.

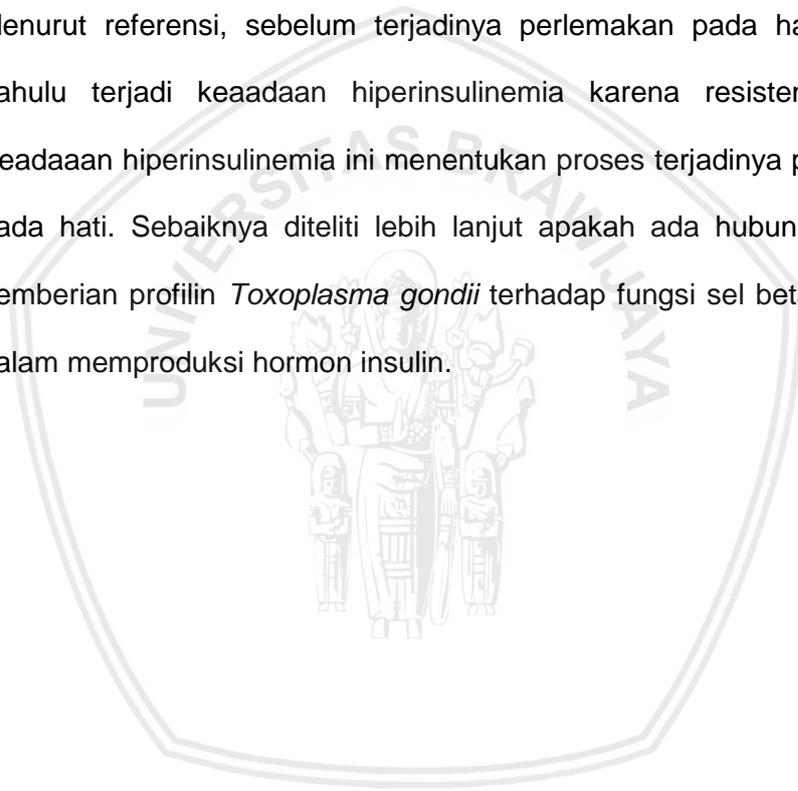
Diteliti lebih lanjut tentang dosis profilin yang bisa meningkatkan kejadian perlemakan hati. Karena menurut analisa data, dosis profilin *Toxoplasma gondii* yang diinjeksikan tidak memberikan efek terhadap kejadian perlemakan hati.

3. Waktu penelitian.

Waktu penelitian sebaiknya lebih lama, sehingga dapat dicermati lebih jauh terkait efek injeksi profilin *Toxoplasma gondii* terhadap kejadian perlemakan hati. Karena membutuhkan proses yang panjang untuk terbentuknya perlemakan pada jaringan hati.

4. Kejadian resistensi insulin pada hewan coba.

Menurut referensi, sebelum terjadinya perlemakan pada hati, terlebih dahulu terjadi keadaan hiperinsulinemia karena resistensi insulin. Keadaan hiperinsulinemia ini menentukan proses terjadinya perlemakan pada hati. Sebaiknya diteliti lebih lanjut apakah ada hubungan antara pemberian profilin *Toxoplasma gondii* terhadap fungsi sel beta pankreas dalam memproduksi hormon insulin.



DAFTAR PUSTAKA

- Balcombe, J.P., Barnard, N.D., Sandusky, C. Laboratory Routines Cause Animal Stress. *Contemp Top Lab Anim Sci.* 2004. 43 (6) : 42-51.
- Cawthorn, W.P. dan Sethi, J.K. TNF- α dan Adipocyte Biology. *FEBS Lett.* 2008. 582 (1) : 117-131
- de Luca, C. dan Olefsky, J.M. Inflammation and Insulin Resistance. *FEBS Lett.* 2008. 582 (1) : 97-105
- Dubey, J.P., dan Jones, J.L. Toxoplasma gondii Infection in Humans and Animals in the United States. *International Journal for Parasitology.* 2008. 38 : 1257-1278
- Dyson, J.K., Anstee, Q.M., McPherson, S. Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Practical Approach to Diagnosis and Staging. *Frontline Gastroenterology.* 2013. 0 : 1-8
- Ellacott, K.L.J., Morton, G.J., Woods, S.C., Tso, P., Schwartz, M. Assessment of Feeding Behavior in Laboratory Mice. *Cell Metab.* 2010. 12 (1) : 10-17
- Emmanuel, A dan Inns, S. Gastroenterologi And Hepatology Lecture Notes. tanpa tahun. *Gastroenterologi Dan Hepatologi.* Laviani, K dan Ayuningtyas, T (penerjemah). 2014. Penerbit Erlangga, Jakarta
- Gadd, V.L. Skoien, R., Powell, E.E., Fagan, K.J., Winterford, C., Horsfall, L., Irvine, K., *et al.* The Portal Inflammation Infiltrate and Ductular Reaction in Human Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology.* 2014. 59 : 1393-1405
- Gangneux, F.R., dan Dardé, M.L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2012. 25 (2) : 264-296
- Gao, B. dan Tsukamoto, H. Inflammation in Alcoholic and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Friend or Foe?. *Gastroenterology.* 2016. 150 (8) : 1704-1709
- Guh, D.P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C.L., Anis., A.H. The Incidence of Co-Morbidities Related to Obesity and Overweight: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Public Health.* 2009. 9 : 88
- Hainer, V., Zamrazilova, H., Kunesova, M., Bendlova, B., Hainerova, I,A. 2015. Obesity and Infection: Reciprocal Causality. *Physiol. Res.* 64 (Suppl. 2) : S105 - S119
- Hanafiah, K. A. 2016. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi edisi Ketiga.* Jakarta : PT.RajaGravindo Persada

- Hasan, I. 2015. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam edisi V*. Dalam Aru, W.S., Bambang, S., Idrus, A., Marcellus, S.K., Siti, S (penyunting). Interna Publishing, Jakarta
- Huang, J., Zhang, H., Liu, S., Wang, M., Wan, B., Velani, B., Zhu, Y., *et al.* Is *Toxoplasma gondii* Infection Correlated with Nonalcoholic Fatty Liver Disease?- a Population Based Study. *BMC Infectious Disease*. 2018. 18 : 629
- IAPI. 2008. *Pedoman Penanganan Bahan Pemeriksaan untuk Histopatologi*. Jakarta : Ikatan Dokter Spesialis Patologi Indonesia (IAPI)
- International Food Policy Research Institute. 2016. *Global Nutrition Report 2016: From Promise to Impact: Ending Malnutrition by 2030*. International Food Policy Research Institute, Washington DC. hal. 21-41
- Iskandar, A., Indra, M.R., Satuman, Firani, N.K., Wihastuti, T.A. The Levels of *Toxoplasma gondii* Profilin and Adiponectin in Obese Patients Complicated With or Without Metabolic Syndrome as Compared to Non Obese Patients. *Asian Pac. J Trop Dis*. 2016. 6 (4) : 265-268
- Iskandar, A., Indra, M.R., Satuman. 2011. *Profilin Sebagai Biomarker Disfungsi Adiposit (Studi Hubungan Disfungsi Adiposit Dengan Infeksi Toxoplasma gondii pada Individu Obese)*. Laporan Penelitian Hibah Bersaing. Universitas Brawijaya
- Iskandar, A., Sriwedari, K., Wulanda, I.A., Indra, M.R., Hartojo, Firani, N.K., Olivianto, E. The Level of Chemerin and Adypocyte Fatty Acid Binding Protein in *Toxoplasma gondii* Seropositive Obese Individuals. *Asian Pac. J Trop Biomed*. 2017. 7 (2) : 107-109
- Jayanti. 2011. *Pengaruh Perbedaan Lama Pemberian Diet Kolesterol Terhadap Perlemakan Hati (Fatty Liver) Pada Tikus Putih (Rattus Norvegicus)*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Jeong, J.Y., Lee, D.H., Kang, S.S. Effects of Chronic Restraint Stress on Body weight, Food Intake, and Hypothalamic Gene Expressions in Mice. *Endocrinology and Metabolism*. 2013. 28 : 288-296
- Karam, J.G., dan McFarlane, S.I. 2007. Secondary Causes of Obesity. *Therapy*. 4 (5) : 641-650
- Kemenkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementrian Kesehatan RI, Jakarta, hal. 261-263
- Kemenkes RI. 2016. *Profil Kesehatan Indonesia tahun 2016*. Kementrian Kesehatan RI, Jakarta, hal.198
- Koblansky, A.A., Jankovic, D., Oh, H., Hieny, S., Sungnak, W., Mathur, R., Hayden, M.S., *et al.* Recognition of Profilin by Toll-Like Receptor 12 is

- Critical for Host Resistance to *Toxoplasma gondii*. *Immunity*. 2013. 38 (1) : 119-130
- Kouis, P., Pampaka, D., Panayiotou, A.G. Adipose Tissue, Metabolic Syndrome, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease – A Short Review. *EMJ Hepatol*. 2014. 1 : 62 – 70
- Krishnan, K. dan Moens, P.D.J. Structure and Functions of Profilins. *Biophys Rev*. 2009. 1 : 71-81
- Kucera, K., Koblansky, A.A., Saunders, L.P., Frederick K.B., De La Cruz, Ghosh, S., Modis, Y. Structure-Based Analysis of *Toxoplasma gondii* Profilin: A Parasite-Specific Motif is Required for Recognition by TIR-Like Receptor 11. *Journal of Molecular Biology*. 2010. 403, 616-629
- Laser Stone and Endoscopy Centre. 2017. *Obesity Related Conditions*. <http://www.laserstonesurgery.org/2017/05/25/obesity-related-conditions/>
- Lee, M.J., Wu, Y., Fried, S.K. Adipose Tissue Remodeling in Pathophysiology of Obesity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010. 13 (4) : 371 – 376
- Liu, Q., Wang, Z.D., Huang, S.Y., Zhu, X.Q. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. *Parasit and vector*. 2015. 8: 292
- National Cancer Institute. 2017. *Obesity and Cancer*. www.cancer.gov
- Oetomo, K.S. 2011. *Pengendalian dan pengobatan Obesitas*. UB Press, Malang
- Ouaamari, A.E. dan Minehira, K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Its Mechanism and Complications. *International Journal of Endocrinology*. 2013. 2013:969748
- Plattner, F., Yarovinsky, F., Romero, S., Dirdy, D., Carlier, M.F., Sher, A., Favre, D.S. *Toxoplasma* Profilin is Essential for Host Cell Invasion and TLR11 Dependent Induction of an Interleukin-12 Response. *Cell Host and Microbe Article*. 2008. 3 : 77-87
- Raetz, M., Kibardin, A., Sturge, C.R., Pifer, R., Li, H., Burstein, E., *et al*. Cooperation of TLR12 and TLR11 in the IRF8-Dependent IL-12 Response to *Toxoplasma gondii* Profilin. *The Journal of Immunology*. 2013. 191:4818-4827
- Reeves, G.M., Mazaheri, S., Snitker, S., Langenberg, P., Giegling, I., Hartmann, A.M., *et al*. A Positive Association between *T.gondii* Seropositivity and Obesity. *Original Research Article*. 2013. 1 (73) : 1- 6
- Ricci, M. 2012. *Fatty Liver Disease*. Scientific Literature Review. Research Diets, Inc., New Brunswick. hal. 1-2
- Roman, A.A., Parlee, S.D., Sinal, C.J. Chemerin : a Potential Endocrine Link Between Obesity and Type 2 Diabetes. *Endocrine*. 2012. 42 (2) : 243-251
- Sargowo, D. 2015. *Disfungsi Endotel*. UB Press, Malang
- Sastri dan Kadri. Pengaruh Diet Tinggi Minyak Sawit Terhadap Sel Hepatosit Tikus. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2012. 1 (3) : 125-128

- Segula, D. Complications of Obesity in Adults: A Short Review of the Literature. *Malawi Medical Journal*. 2014. 26 (1) : 20-24
- Shetty, S., Lalor, P.F., Adams, D.H. Lymphocyte Recruitment to the Liver; Molecular Insights into the Pathogenesis of Liver Injury and Hepatitis. *Toxicology*. 2008. 254 (3) : 136-146
- Sudjari, Susanto, H., dan Indra, R. Studi Adiposopati in Vitro Efek Induksi Profilin Terhadap Ekspresi Il-6 Dan Tnf- α Sebagai Kandidat Prediktor Disfungsi Adiposit Akibat Infeksi *Toxoplasma Gondii* pada Kultur Adiposit Subkutan. *Research Journal Of Life Science*. 2015. 1 (1) : 8-15.
- Sullivan, S. Implications of Diet on Nonalcoholic fatty Liver Disease. *Curr Opin Gastroenterol*. 2010. 26 (2) : 160-164
- Takahashi, Y dan Fukusato, T. Histopathology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/ Nonalcoholic Steatohepatitis. *World Journal of Gastroenterology*. 2014. 20 (42) : 15539-15548
- World Health Organization. 2017. *10 Facts on Physical Activity*. www.who.int/features/factfiles/physical_activity/en/to
- World Health Organization. 2017. *Obesity And Overweight*. Fact Sheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/
- Yarovinsky, F. InnateImmunity to *toxoplasma gondii* Infection. *Nat Rev Immunol*. 2014. 14 (2) : 109-121
- Yuan, F., Liu, Z.Z., Zhang, B., Cao, J.P., Zheng, K.Y., Wang, D.G. Prokaryotic Expression and Immunoreactivity Analysis on Profilin of *Toxoplasma gondii*. *Chinese Journal of Parasitology & Parasitic Diseases*. 2015. 33 (1) : 21-24
- Yuliatwati, I., dan Nasronudin. Pathogenesis, Diagnostic, and Management of Toxoplasmosis. *Indonesian Journal of Tropicaland Infectious Disease*. 2015. 5 (4) : 100-106

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Perkembangan Berat Badan Tikus

Uji Normalitas Perkembangan Berat Badan Tikus

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Perubahan BB	.068	65	.200*	.982	65	.461

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

Uji Homogentitas Perkembangan Berat Badan Tikus

Test of Homogeneity of Variances

Perubahan BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.887	12	52	.565

Uji One Way ANOVA Perkembangan Berat Badan Tikus

ANOVA

Perubahan BB	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	45193.937	12	3766.161	2.901	.004
Within Groups	67500.617	52	1298.089		
Total	112694.554	64			



Uji Post Hoc Tukey HSD Perkembangan Berat Badan Tikus

Perubahan BB

Tukey HSD

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Diet Normal + Injeksi 2x Profilin 45 µg/ml	5	70.6000	
Diet Normal + Injeksi 2x Profilin 15 µg/ml	5	82.2000	82.2000
Diet Normal + Injeksi 1x Profilin 15 µg/ml	4	86.5000	86.5000
Kontrol	5	90.4000	90.4000
Diet Tinggi Energi + Injeksi 1x Profilin 30 µg/ml	6	91.1667	91.1667
Diet Tinggi Energi + Injeksi 1x Profilin 45 µg/ml	6	93.5000	93.5000
Diet Tinggi Energi + Injeksi 1x Profilin 15 µg/ml	6	97.6667	97.6667
Diet Normal + Injeksi 1x Profilin 30 µg/ml	4	103.2500	103.2500
Diet Normal + Injeksi 1x Profilin 45 µg/ml	4	109.0000	109.0000
Diet Normal + Injeksi 2x Profilin 30 µg/ml	5	113.2000	113.2000
Diet Tinggi Energi + Injeksi 2x Profilin 45 µg/ml	5	146.2000	146.2000
Diet Tinggi Energi + Injeksi 2x Profilin 30 µg/ml	5	149.6000	149.6000
Diet Tinggi Energi + Injeksi 2x Profilin 15 µg/ml	5		156.6000
Sig.		.055	.090

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Uji Korelasi Dosis Profilin dengan Perubahan Berat Badan Tikus

Correlations

		dosis profilin
Perubahan BB kel. diet normal, 1x injeksi	Pearson Correlation	.300
	Sig. (2-tailed)	.399
	N	10
Perubahan BB kel. diet tinggi energi, 1x injeksi	Pearson Correlation	-.006
	Sig. (2-tailed)	.981
	N	20
Perubahan BB kel. diet normal, 2x injeksi	Pearson Correlation	-.096
	Sig. (2-tailed)	.733
	N	15
Perubahan BB kel. diet tinggi energi, 2x injeksi	Pearson Correlation	-.193
	Sig. (2-tailed)	.492
	N	15

Lampiran 2. Analisis Asupan Makan dan Zat Gizi Tikus

Uji Normalitas Asupan Makan dan Zat Gizi Tikus

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rata-Rata Asupan Makan	.347	66	.000	.656	66	.000
Asupan Energi	.289	66	.000	.771	66	.000
Asupan Karbohidrat	.311	66	.000	.800	66	.000
Asupan Protein	.270	66	.000	.805	66	.000
Asupan Lemak	.322	66	.000	.704	66	.000

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Kruskal Wallis Asupan Makan dan Zat Gizi Tikus

	Rata-Rata Asupan Makan	Asupan Energi	Asupan Karbohidrat	Asupan Protein	Asupan Lemak
Chi-Square	42.945	50.674	55.688	55.738	50.674
Df	12	12	12	12	12
Asymp. Sig.	.000	.000	.000	.000	.000

a. Kruskal Wallis Test

Lampiran 3. Analisis Persentase Perlemakan Hati Tikus

Uji Normalitas Persentase Perlemakan Hati Tikus

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perlemakan.hati	.125	13	.200	.965	13	.821

a. Lilliefors Significance Correction

Uji Kruskal Wallis Persentase Perlemakan Hati Tikus

	persentase.perle makan.hati
Chi-Square	8.907
Df	12
Asymp. Sig.	.711

a. Kruskal Wallis Test

Lampiran 4. Surat Bukti Kelayakan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

No. 134 / EC / KEPK / 04 / 2017

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS BRAWIJAYA, SETELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN DENGAN

JUDUL : Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* terhadap Profil Lipid, Aktivitas Radikal Bebas, dan Kadar Adipositokin pada Tikus *Rattus Norvegicus* Strain Wistar yang Diberi Diet Tinggi Kalori.

PENELITI UTAMA : dr. Agustin Iskandar, M.Kes.,Sp.PK

ANGGOTA : 1. M. Kaviyarsan 10. Parveen Anandhan
2. Agung Nurwahyudi 11. Ahmad Adib
3. Dio Tri Agysta Putra
4. Zulkifar Ramadhan
5. Fathi Nabila Alim
6. Lanisa Hapsari
7. Florentina R. Eka R.
8. Mira Raissa Santosa
9. Jivanathan A/L Baskaren

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran - Universitas Brawijaya Malang

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Catatan :

Keterangan Laik Etik Ini Berlaku 1 (Satu) Tahun Sejak Tanggal Dikeluarkan Pada Akhir Penelitian, Laporan Pelaksanaan Penelitian Harus Diserahkan Kepada KEPK-FKUB Dalam Bentuk Soft Copy. Jika Ada Perubahan Protokol Dan / Atau Perpanjangan Penelitian, Harus Mengajukan Kembali Permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol)





KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

Jalan Veteran Malang - 65145, Jawa Timur - Indonesia
Telp. (62) (0341) 551611 Ext. 168; 569117; 567192 - Fax. (62) (0341) 564755
http://www.fk.ub.ac.id e-mail : kep.fk@ub.ac.id

Nomor : 305 /UN10.7/UPT.KEPK/2017
Lampiran : --
Perihal : Penambahan Anggota Penelitian

31 OCT 2017

Yth. dr. Agustin Iskandar, M.Kes.,SpPK
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menanggapi surat dr. Agustin Iskandar, M.Kes.,SpPK tanggal 27 Oktober 2017 perihal permohonan penambahan anggota kelompok penelitian pada,

Judul : Efek Paparan Profilin *Toxoplasma gondii* Terhadap Profil Lipid, Aktivitas Radikal Bebas, dan Kadar Adipositokin pada Tikus Rattus Norvegicus Strain Wistar yang Diberi Diet Tinggi Kalori.
Peneliti : dr. Agustin Iskandar, M.Kes.,SpPK, dkk
No. Ket. Laik Etik : 134 / EC / KEPK / 04 / 2017

Pada prinsipnya kami menyetujui perubahan tersebut. Dengan demikian pada *ethical clearance* yang sudah kami terbitkan bisa dilampirkan tambahan nama anggota peneliti sebagaimana yang Saudara ajukan a.n. :

1. Muhammad Nurul Huda
2. Safiera Acmelia Agung Putri
3. Mashita Khairina Nida
4. Aditya Khrisnanda Wiguna Partha

Demikian, semoga bermanfaat.

Ketua,



Prof. Dr. dr. Moch. Istiadjid ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.
NIK. 160746683

