

**PENGARUH PEMBERIAN DIET *HIGH FAT HIGH FRUCTOSE*
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI JANTUNG PADA TIKUS
SPRAGUE DAWLEY JANTAN**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Gizi**



Oleh:

Diah Novida Oktaviani

NIM 155070307111020

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

MALANG

2019

DAFTAR ISI

BAB I PENDAHULUAN

- 1.1 Latar Belakang **Error! Bookmark not defined.**
- 1.2 Rumusan Masalah **Error! Bookmark not defined.**
- 1.3 Tujuan..... **Error! Bookmark not defined.**
 - 1.3.1 Tujuan Umum **Error! Bookmark not defined.**
 - 1.3.2 Tujuan Khusus..... **Error! Bookmark not defined.**
- 1.4 Manfaat **Error! Bookmark not defined.**
 - 1.4.1 Manfaat Akademik..... **Error! Bookmark not defined.**
 - 1.4.2 Manfaat Praktisi..... **Error! Bookmark not defined.**

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

- 2.1 Obesitas **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.1 Definisi **Error! Bookmark not defined.**
 - 2.1.2 Patofisiologi..... **Error! Bookmark not defined.**
- 2.2 Hewan Coba Tikus Putih Sprague Dawley Model Obesitas **Error! Bookmark not defined.**
- 2.3 High Fat High Fructose Diet (HFHF) **Error! Bookmark not defined.**
- 2.4 Diet Normal Standar AIN-93M..... **Error! Bookmark not defined.**
- 2.5 Anatomi dan Histologi Jantung **Error! Bookmark not defined.**
- 2.6 Hubungan Obesitas dengan Inflamasi **Error! Bookmark not defined.**
- 2.7 Hubungan HFHF dengan inflamasi, hipertrofi, fibrosis..... **Error! Bookmark not defined.**

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

- 3.1 Kerangka Konsep..... **Error! Bookmark not defined.**
- 3.2 Penjelasan Kerangka Konsep **Error! Bookmark not defined.**

3.3 Hipotesa Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

4.2 Populasi dan Sampel**Error! Bookmark not defined.**

4.2.1 Kriteria Populasi.....**Error! Bookmark not defined.**

4.2.2 Kriteria sampel.....**Error! Bookmark not defined.**

4.2.2.1 Kriteria Inklusi**Error! Bookmark not defined.**

4.2.2.2 Estimasi Besar Sampel**Error! Bookmark not defined.**

4.2.2.3 Prosedur Randomisasi Sampel.....**Error! Bookmark not defined.**

4.3 Variabel Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba **Error! Bookmark not defined.**

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Pakan Diet Normal..... **Error! Bookmark not defined.**

4.5.3 Alat dan Bahan Pakan Diet High Fat High Fructose (HFHF)**Error! Bookmark not defined.**

4.5.4 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histopatologi Jantung. **Error! Bookmark not defined.**

4.5.5 Alat dan Bahan Pengukuran Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear, Fibrosis dan Hipertrofi **Error! Bookmark not defined.**

4.6 Definisi Operasional**Error! Bookmark not defined.**

4.7 Prosedur Penelitian.....**Error! Bookmark not defined.**

4.7.1 Persiapan Hewan Coba.....**Error! Bookmark not defined.**

4.7.2 Pembuatan Pakan Normal**Error! Bookmark not defined.**



4.7.3 Pembuatan Pakan HFHF (*High Fat High Fructose*) **Error! Bookmark not defined.**

4.7.4 Pembuatan Preparat Histopatologi**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.1 Pengambilan Jantung ..**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.2 Pemotongan Jaringan..**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.2.1 Parafinasi.....**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.3 Deparafinisasi.....**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.4 Pewarnaan HE**Error! Bookmark not defined.**

4.7.4.5 Pewarnaan *Masson Trichome***Error! Bookmark not defined.**

4.7.5 Pemeriksaan Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear dan Hipertrofi**Error! Bookmark not defined.**

4.7.6 Pemeriksaan Fibrosis**Error! Bookmark not defined.**

4.7.7 Pengumpulan Data.....**Error! Bookmark not defined.**

4.8 Analisa Data**Error! Bookmark not defined.**

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Asupan Pakan dan Zat Gizi pada Tikus Percobaan **Error! Bookmark not defined.**

5.2 Perubahan Berat Badan Tikus.....**Error! Bookmark not defined.**

5.3 Pengaruh diet HFHF terhadap Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear Miokardium Tikus.....**Error! Bookmark not defined.**

5.4 Pengaruh diet HFHF terhadap Fibrosis Miokardium Tikus **Error! Bookmark not defined.**

5.5 Pengaruh diet HFHF terhadap Hipertrofi Miokardium Tikus **Error! Bookmark not defined.**

BAB VI PEMBAHASAN

6. 1 Rata – Rata Asupan Pakan Diet Normal AIN-93M dan Diet HFHF **Error! Bookmark not defined.**



6.2 Pengaruh pemberian diet HFHF terhadap Histopatologi Jantung
Error! Bookmark not defined.

6.3 Keterbatasan Penelitian**Error! Bookmark not defined.**

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan60

7.2 Saran61

DAFTAR PUSTAKA**Error! Bookmark not defined.**

DAFTAR LAMPIRAN **Error! Bookmark not defined.**7



ABSTRAK

Oktaviani, D.N. 2019. **Pengaruh Pemberian Diet HFHF (*High Fat High Fructose*) Terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Pada Tikus *Sprague Dawley* Jantan.** Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes., SpPA. (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si, MP.

Obesitas sering dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis yang dapat menyebabkan kerusakan pada jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet HFHF (*High Fat High Fructose*) terhadap gambaran histopatologi Jantung pada Tikus *Sprague Dawley* Jantan. Penelitian ini adalah studi eksperimental menggunakan *randomized control grup posttest design*. Subjek penelitian adalah tikus *Sprague Dawley* yang dipelihara selama 17 minggu di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok yang diberi diet normal standar AIN-93 dan diet HFHF (*High Fat High Fructose*) dengan jumlah total 36 tikus. Gambaran histopatologi jantung meliputi jumlah sel inflamasi mononuklear, hipertrofi dan fibrosis. Analisis data menggunakan *Independent T-test*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan jumlah sel inflamasi mononuklear ($p=0,00$) dan hipertrofi ($p=0,00$). Jumlah sel inflamasi mononuklear pada diet normal standar AIN-93M sebesar $40,42 \pm 4,12$ lebih rendah dibandingkan dengan diet HFHF (*High Fat High Fructose*) sebesar $48,81 \pm 5,05$. Demikian pula dengan ukuran sel pada diet normal standar AIN-93M sebesar $507,53 \pm 37,59$ lebih rendah dibandingkan dengan diet HFHF (*High Fat High Fructose*) sebesar $539,52 \pm 23,76$. Pada diet HFHF (*High Fat High Fructose*) didapatkan pula adanya fibrosis. Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian diet HFHF mempengaruhi gambaran histopatologi jantung yang ditandai dengan peningkatan sel inflamasi mononuklear, hipertrofi dan adanya fibrosis.

Kata Kunci : Obesitas, diet HFHF (*High Fat High Fructose*), Histopatologi Jantung

ABSTRACT

Oktaviani, D.N. 2019. **The Effect Of HFHF Diet (*High Fat High Fructose*) to Cardiac Histopathology of Male Sprague Dawley Rat.** Final Project, Courses Nutrition Health Faculty Of Medicine University Of Brawijaya. Supervisor: 1) dr. Kenty Wantri Anita, M.Kes., SpPA. (2) Rahma Micho Widyanto, S.Si, MP

Obesitas is often associated with chronic inflammatory conditions that can cause damage to the cardiac. This research is aimed to know the description of effect of HFHF diet (*High Fat High Fructose*) to cardiac histopathology of male *Sprague Dawley* rat. Experimental study using *randomized control group posttest design* was this type. This research is experimental studies using randomized control group posttest design. The subject of research is the rat *Sprague Dawley* maintained for 17 weeks in the laboratory Bioscience Brawijaya University are divided into 2 groups, the Group given standard normal diet AIN-93M and diet (*High Fat High Fructose*) with the total 36 rats. The description of the histopathology the cardiac includes the amount of inflammatory cell mononuclear, hypertrophy and fibrosis. Data analysis using Independent T-test. The results showed there is a difference of inflammatory cell number mononuclear ($p = 0.00$) and hypertrophy ($p = 0.00$). Inflammatory cell number mononuclear in standard normal diet AIN-93M of 40.42 ± 4.12 lower compared with diet HFHF (*High Fat High Fructose*) of 48.81 ± 5.05 . Similarly, the size of the cells on normal diet 93M-standard AIN of 507.53 ± 37.59 lower compared with diet HFHF (*High Fat High Fructose*) of 539.52 ± 23.76 . HFHF diet (*High Fat High Fructose*) also brings about the presence of fibrosis. Conclusion of this research is the awarding of HFHF diet affects the image of the histopathology of the heart which is characterized by an increase in inflammatory cell mononuclear, hypertrophy and fibrosis.

Key words: Obesity, HFHF diet (*High Fat High Fructose*), Histopathology of the cardiac

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas merupakan masalah kesehatan utama yang telah mencapai proporsi epidemi bukan hanya pada masa anak-anak dan dewasa melainkan juga terjadi pada usia remaja (Zamboni, 2012). Berdasarkan penelitian epidemiologi terjadi peningkatan prevalensi obesitas di seluruh dunia. Pada tahun 2016, lebih dari 1,9 milyar orang dewasa yang berusia 18 tahun keatas mengalami overweight dan 650 juta dinyatakan mengalami obesitas (WHO, 2017). Sedangkan di Indonesia, menurut Riskesdas (2013), prevalensi obesitas tertinggi pada laki-laki > 18 tahun sebesar (19,7%) dan perempuan > 18 tahun sebesar 32,9%.

Obesitas didefinisikan sebagai kondisi patologis yang ditandai dengan penimbunan lemak yang berlebihan dalam tubuh yang dapat mempengaruhi kesehatan individu (Maria, 2009). Obesitas merupakan faktor risiko yang signifikan sebagai faktor predisposisi terjadinya sindrom metabolik seperti hipertensi, dislipidemia, dan resistensi insulin. Sindrom metabolik meningkatkan adanya penyakit kronis seperti Diabetes Melitus tipe 2 dan aterosklerosis. Obesitas dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis pada jaringan adiposa obesitas. Sitokin yang dikeluarkan sel imun dan adipokines jaringan adiposa meningkatkan inflamasi jaringan adiposa dan selanjutnya menginduksi resistensi insulin. Jaringan adiposa selain sebagai organ penyimpanan Triglicerida, namun jaringan adiposa juga berperan sebagai zat bioaktif tertentu yang disebut adipokines (Rahmawati, 2014). Zat bioaktif atau adipokines diantaranya yaitu *plasmaniogen ativator inhibitor-1* (PAI-1), *tumor*

necrosis factor-alpha (TNF- α), resistin, leptin, adiponektin. Zat-zat ini berperan dalam homeostasis berbagai proses fisiologis (Sanchez *et al.*, 2011)

Diet tinggi fruktosa pada manusia akan menyebabkan peningkatan berat badan dan munculnya penyakit degeneratif. Pengaruh fruktosa terhadap berbagai organ akan memicu timbulnya berbagai gejala sindrom metabolik antara lain resistensi insulin, peningkatan tekanan darah, obesitas sentral, dislipidemia, perlemakan hati, inflamasi, stres oksidatif, disfungsi endotel, dan diabetes melitus tipe 2 (Prahastuti, 2011). Hal ini sejalan dengan penelitian Bocarsly (2012) bahwa diet tinggi fruktosa menyebabkan peningkatan berat badan pada hewan coba secara signifikan dibandingkan dengan sukrosa. Selain diet tinggi fruktosa, diet tinggi lemak juga digunakan untuk induksi obesitas pada hewan coba (Rismawati, *et al.*, 2012). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dan karbohidrat menginduksi peningkatan yang signifikan dalam stres oksidatif dan inflamasi (Sanchez *et al.*, 2011). Fruktosa berbeda dengan glukosa, dimana fruktosa tidak menstimulasi insulin atau leptin (dua faktor penting yang berperan dalam mengatur asupan energi dan penimbunan lemak tubuh). Insulin merupakan mediator pelepasan Nitrit Oksida (NO) endotelial sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke otot skeletal dan peningkatan serapan glukosa oleh sel. Sedangkan leptin berfungsi untuk menurunkan asupan makanan dan pengeluaran kelebihan energi. Oleh karena itu, subjek yang diberi fruktosa mengeluh lebih cepat lapar dan makan lebih banyak kalori sepanjang hari dibandingkan yang hanya diberi makan pati sehingga diet tinggi fruktosa cepat meningkatkan berat badan.

Pemberian fruktosa juga meningkatkan produksi superoksida yang dapat memicu kerusakan endotel. Disfungsi endotel juga merupakan efek dari

ekspresi molekul inflamasi yaitu *Intercellular Adhesion Molecule 1* (ICAM1) yang meningkat pada dosis dan lama pemberian. Mekasime ini mungkin berperan dalam penurunan ekspresi eNOS, yang akan menghasilkan NO. NO bisa mencegah *upregulation* ICAM1. Disfungsi endotel juga bisa disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif. Stres oksidatif pada mekanisme obesitas dapat menghasilkan ROS dalam reaksi oksidasi. Selain fruktosa, diet tinggi lemak juga menghasilkan ROS. Regulasi oksidasi asam lemak dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme miokardium dan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini dapat menyebabkan peningkatan stres pada retikulum plasmik sarco (endo), yang mengakibatkan kalsium (Ca^{2+}) terganggu, dan gangguan kontraksi otot jantung (Sahroui *et al.*, 2016).

Akumulasi lemak pada miokardium telah berimplikasi pada kemunduran fungsi dan efisiensi jantung termasuk fibrosis. Adiposit (sel lemak) melepaskan banyak hormon dan faktor lain yang beredar melalui sinyal tubuh salah satunya pada jantung. Peningkatan asam lemak bebas seperti pada obesitas dilaporkan menginduksi inflamasi sel mononuklear. Hal ini, dapat diketahui bahwa asupan makronutrien dapat menyebabkan stres oksidatif dan perubahan proinflamasi dalam plasma dan sel mononuklear. Kondisi pro oksidatif dan pro inflamasi pada obesitas mungkin diakibatkan oleh asupan makronutrien secara kronik. Bukti – bukti menunjukkan bahwa sel mononuklear berkontribusi terhadap meningkatnya sitokin proinflamasi serta makrofag berfungsi mengatur aktifitas sitokin pro inflamasi pada individu obes sehingga ditemukan peningkatan sel mononuklear. Diketahui bahwa makrofag yang teraktifasi mensekresikan beragam sitokin dan kemokin inflamasi yang akan mengganggu sinyal insulin. Maka obesitas selain merupakan faktor risiko terjadinya sindrom metabolik, juga sebagai penyakit inflamasi kronik yang

berhubungan dengan ukuran sel yang berkorelasi dengan resistensi insulin (Mukhtar, 2012).

Berdasarkan fakta yang didukung dengan merujuk pada sumber yang ada maka, penelitian mengenai pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap histopatologi jantung pada tikus *Sprague Dawley* perlu dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* Jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap gambaran histopatologi jantung pada tikus *Sprague Dawley*?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap histopatologi jantung pada tikus *Sprague Dawley* Jantan

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui jumlah asupan akibat pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dan diet normal AIN-93M pada histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* . Jantan
2. Untuk mengetahui sel inflamasi mononuklear akibat pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dan diet normal AIN-93M pada histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* Jantan
3. Untuk mengetahui hipertrofi akibat pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dan diet normal AIN-93M pada histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* Jantan

4. Untuk menganalisa perbedaan sel inflamasi dan hipertrofi akibat pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dan diet normal AIN-93M pada histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* Jantan
5. Untuk mengetahui perbedaan fibrosis akibat pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dan diet normal AIN-93M pada histopatologi jantung tikus *Sprague Dawley* Jantan

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Akademik

Memberikan informasi terkait pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap gambaran histopatologi jantung pada tikus *Sprague Dawley* Jantan

1.4.2 Manfaat Praktisi

1. Dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya tentang pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) terhadap hubungannya dengan obesitas dan histopatologi jantung pada tikus *Sprague Dawley*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah pengurangan konsumsi makanan tinggi lemak dan fruktosa terkait hubungannya dengan obesitas dan histopatologi jantung

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

2.1.1 Definisi

Obesitas merupakan faktor resiko terjadinya sindrom metabolik termasuk intoleransi glukosa, hiperetensi, dislipidemia, obesitas sentral, *fatty liver* dan resistensi insulin. Sindrom metabolik dapat meningkatkan risiko penyakit kronis seperti diabetes mellitus tipe 2 dan aterosklerosis. Obesitas didefinisikan sebagai akumulasi jaringan adiposa yang dapat merusak kesehatan seperti adanya kelebihan berat badan yang dapat di nilai oleh Indeks Massa Tubuh (BMI). BMI sering digunakan untuk pengukuran berat badan. Seseorang dikatakan memiliki BMI normal apabila nilai BMI 18,5 – 25 kg/m². Seseorang yang dikatakan obesitas memiliki indeks BMI >30 kg/m² sedangkan orang yang kelebihan berat badan (*overweight*) memiliki BMI antara 25 kg/m² dan 30 kg/m² (Kumar, 2015). Berikut terdapat klasifikasi obesitas menurut WHO dan guideline Asia-Pasifik (Lim *et al.*, 2017) :

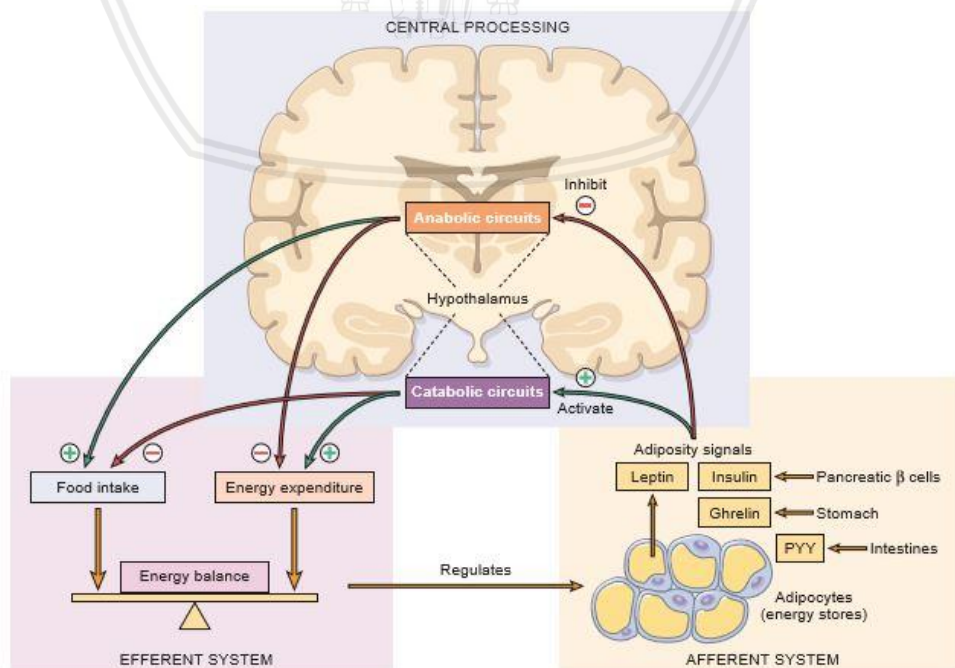
Tabel 2.1 Klasifikasi Obesitas Menurut WHO Dan Asia-Pasifik

	WHO (BMI)	Asia-Pasifik (BMI)
Underweight	< 18,5	< 18,5
Normal	18,5 – 24,9	18,5 – 22,9
Overweight	25 – 29,9	23 – 24,9
Obesitas	≥ 30	≥ 25

Obesitas dikaitkan dengan banyak perubahan struktural dan kegagalan fungsional terutama jika perubahan ini berlangsung dalam waktu yang lama. Jaringan adiposa adalah suatu organ yang mengeluarkan adipokines (Rahmawati, 2014). Terdapat berbagai macam adipokin dan mediator kimia lain seperti interleukin 6 (IL-6), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *plasminogen aktivator inhibitor-1*, resistin, *lipoprotein lipase*, *acylation stimulating protein*, estrogen, leptin, angiotensinogen, dan insulin yang ada pada peningkatan konsentrasi pada pasien obesitas (Matthew, 2008).

2.1.2 Patofisiologi

Pada obesitas terdapat mekanisme neurohumoral yang berhubungan dengan genetik, nutrisi, lingkungan, dan sinyal psikologi yang memicu respon metabolik melalui stimulasi pusat-pusat yang terletak di hipotalamus. Berikut mekanisme neurohumoral yang mengatur keseimbangan energi.



Gambar 2.1.2 Pengaturan keseimbangan energi. Jaringan adiposa menghasilkan sinyal aferen yang mempengaruhi aktivitas hipotalamus, yang merupakan pengatur utama nafsu makan dan rasa kenyang. Sinyal – sinyal ini mengurangi asupan makanan dengan menghambat sirkuit anabolik, dan meningkatkan pengeluaran energi melalui katabolik (Kumar *et al.*, 2015)

Pengaturan keseimbangan energi memiliki tiga komponen utama yaitu (1) sistem aferen merupakan sistem yang dihasilkan oleh jaringan adiposa yang mempengaruhi aktivitas hipotalamus, yang mana sistem ini merupakan pusat regulator nafsu makan dan kenyang. Sistem aferen memiliki komponen utama yaitu insulin, leptin, ghrelin dan peptida YY. Pada sistem aferen tiga komponen penting yang mengatur nafsu makan dan rasa kenyang adalah leptin, adiponektin dan hormon usus.; (2) sistem hipotalamus, dimana sistem hipotalamus merupakan pusat yang mengintegrasikan sinyal aferen dan memicu sinyal eferen, yang berisi neuron pertama yaitu *pro-opiomelanocortin* (POMC) dan *Cocaine and Amphetamine-Regulated Transcripts* (CART), dimana neuron POMC/CART berfungsi meningkatkan pengeluaran energi dan penurunan berat badan melalui produksi *Melanocortin Receptors 3 dan 4* (MC3/4R), kemudian pada neuron kedua berfungsi untuk memproduksi tiroid yang mengeluarkan hormon *Thyroid Stimulating Hormone* (TSH) dan melepaskan hormon *Corticotropin* (CRH) yang meningkatkan laju metabolisme basal dan metabolisme anabolik, dengan demikian dapat menyebabkan penurunan berat badan. Sebaliknya, pada neuron NPY/AgRP mempromosikan asupan makan (efek orexigenik) dan berat badan, melalui aktivasi reseptor Y1/5 di neuron sekunder. Neuron – neuron sekunder tersebut kemudian melepaskan orexin yang merangsang nafsu makan ; (3) sinyal eferen

adalah sinyal yang mengontrol keseimbangan energi, dimana asupan makanan dan pemakaian energi berpengaruh terhadap keseimbangan energi (Kumar, *et al.*, 2015).

Selain itu pada keadaan obesitas terjadi gangguan keseimbangan adipositokin. Sel adiposit berusaha mempertahankan kesimbangan energi dengan melepaskan *Interleukin 6 (IL-6)*, *Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α)* dan *Monocyte Chemotatic Protein-1 (MCP-1)*. Pelepasan sitokin menandai awal terjadinya inflamasi. Proses lipolisis yang tinggi dapat menyebabkan jumlah stress oksidatif yang dihasilkan tinggi. Stress oksidatif yang meningkat juga menyebabkan resistensi insulin dimana dapat meningkatkan glukosa dan peningkatan oksidasi asam lemak (Ebong *et al.*, 2013). Adanya gangguan metabolik, resistensi insulin dan kerusakan sel menyebabkan terjadinya disfungsi endotel, aterosklerosis sampai terjadinya penyakit kardiovaskuler. Efek metabolik dan adiposit yang berlebih dapat mengarah pada pengembangan diabetes tipe 2, dislipidemia terkait dengan obesitas, tekanan darah tinggi dan osteoarthritis. Patofisiologi mekanisme dan penyakit yang terkait tersebut merupakan kontributor utama untuk obesitas yang berhubungan dengan penyakit jantung (Gadde *et al.*, 2018)

2.1.3 Etiologi

Obesitas adalah penyebab penyakit kronis yang menyebabkan penyakit multifaktor yang berkembang dari interaksi faktor – faktor sosial, perilaku, psikologis, metabolik, selular, dan molekuler dan sebagai peningkatan akumulasi lemak tubuh (Sanzhez *et al.*, 2011).

Pada dasarnya obesitas adalah akumulasi berlebihan dari triasilgliserol dalam jaringan lemak yang merupakan hasil dari asupan energi yang berlebihan dibandingkan dengan penggunaan energi (Rahmawati, 2014). Faktor risiko terjadinya obesitas dapat disebabkan karena LDL meningkat, HDL menurun, atau lebih sering terjadinya pada laki-laki. Jika pada perempuan lebih sering terjadinya ketika masa menopause.

Pola hidup tidak sehat dikarenakan stres, dimana stres ini bisa emosional, berkaitan dengan pekerjaan, sosial, kultural, herediter dan stres fisik. Selama stres, kolesterol serum meningkat yang menunjukkan hubungan antara stres dengan meningkatnya tekanan darah. Selain itu, pada obesitas juga terjadinya ketidakseimbangan energi karena terjadi keseimbangan energi positif yang ditandai oleh kelebihan asupan energi dan pengeluaran yang berkurang. Terdapat 3 faktor risiko yaitu tidak dapat berubah, dapat berubah dan baru. Faktor risiko tidak dapat berubah seperti usia, jenis kelamin, riwayat keluarga. Dapat berubah : merokok, hipertensi, dislipidemia, Diabetes Mellitus (DM), obesitas, dan sindrom metabolik, stres, diet lemak tinggi kalori, inaktivitas fisik. Sedangkan faktor risiko baru seperti inflamasi, stres oksidatif, homosistein (Levi *et al.*, 2009).

Faktor lain, penyebab obesitas seperti kadar adiponektin yang rendah. Pada kondisi normal, adiposit (jaringan lemak) mensekresikan salah satu jenis adipokin, yaitu adiponektin dalam kadar normal hingga cukup tinggi dalam darah. Namun, pada kondisi obesitas, kadar adiponektin menurun disebabkan oleh adanya obesitas sentral. Adiponektin erat kaitannya dengan risiko terjadinya *Cardiovascular Disease* (CVD) karena merupakan faktor anti-aterosklerosis atau dapat

menekan atau menghambat terjadinya aterosklerosis. Selain itu, kadar adiponektin rendah (hipoadiponektinemia) akan menyebabkan resistensi insulin, inflamasi, dan disfungsi endotel. Semua dampak tersebut merupakan penyebab awal terjadinya CVD terkait obesitas (Kim *et al.*, 2016)

2.2 Hewan Coba Tikus Putih Sprague Dawley Model Obesitas

Hewan percobaan merupakan hewan yang digunakan dalam suatu penelitian biologis dan medis yang dipilih berdasarkan syarat dasar dalam penelitian (Ridwan, 2013). Tikus digunakan karena mempunyai kemiripan dengan manusia dalam hal fisiologi, anatomi, nutrisi, patologi, metabolisme dan penelitian mengenai kadar kolesterol (Harini dan Astirin, 2009). Berikut klasifikasi spesies *Rattus norvegicus* (Pribadi, 2008).

Tabel 2.2 Klasifikasi Tikus (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi	Tikus
Kerajaan	Hewan
Filum	Chordata
Sub-Filum	Vertebrata
Kelas	Mamalia
Ordo	Rodentia
Famili	-
Genus	Muriade
Spesies	<i>Rattus norvegicus</i>

Hewan percobaan dalam penelitian ini adalah hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague Dawley*. Tikus *Sprague Dawley* (SD) adalah tikus albino yang pertama kali dihasilkan oleh Robert S. Sprague Dawley didapatkan dari pembiakan tikus wistar. Tikus *Sprague Dawley* digunakan secara ekstensif untuk mengembangkan model binatang pada suatu penelitian dengan kondisi seperti diabetes, obesitas, kanker dan penyakit kardiovaskular (Brower *et al.*, 2015). Tikus *Sprague Dawley* (SD) tidak dapat hidup 3,5 tahun dan tikus ini dapat tumbuh hingga dewasa dengan berat badan mencapai 250-300 gram untuk tikus betina dan 450-520 gram untuk tikus jantan (Maria *et al.*, 2015). Tikus *Sprague Dawley* digunakan dalam penelitian karena tikus *Sprague Dawley* jantan memiliki sedikit pengaruh terhadap perubahan hormonal (Marini dan Astirin, 2009).



Sumber: Maria *et al.*, 2015

Gambar 2.2 Tikus Sprague Dawley usia 2-3 bulan

2.3 High Fat High Fructose Diet (HFHF)

Lemak merupakan suatu golongan senyawa-senyawa yang tidak larut dalam air atau larutan yang mengandung campuran air, tetapi lemak dapat larut dalam pelarut organik seperti heksan (Wina, 2013). Fungsi lemak yaitu sebagai sumber energi, isolator dalam menjaga keseimbangan suhu tubuh

dan pelarut vitamin A,D,E,K. Di dalam tubuh, lemak menghasilkan energi dua kali lebih banyak dibandingkan dengan karbohidrat dan protein, yaitu 9 kkal/gram lemak yang dikonsumsi (Sartika, 2008). Asupan lemak yang tinggi atau diet *High Fat* (HF) dapat mengakibatkan faktor risiko terjadinya kelebihan berat badan sehingga hal ini dapat berpengaruh terhadap terjadinya obesitas (Silva *et al.*, 2014). Diet tinggi lemak dapat menghasilkan ROS. Produksi ROS yang meningkat dapat menyebabkan terjadinya kerusakan endotel dan OS sistemik terutama oksida nitrat (NO), serta faktor kontraktile endotelium yang menyebabkan terjadinya penyakit aterosklerosis (Rahmawati, 2014).

Dalam metabolisme asam lemak, Asam lemak berlebih dari diet tinggi lemak dapat mengakibatkan oksidasi asam lemak bebas. Asam lemak bebas (*free fatty acid* / FFA) merupakan sumber energi utama miokardium. Asam lemak ditranspor ke miokardium berikatan dengan albumin untuk mengatasi daya larutnya yang rendah dalam larutan *aqueous* seperti plasma darah. Transpor dari kompartmen mikrovaskuler ke dalam mitokondria sel otot jantung melewati sarkolema merupakan kombinasi difusi pasif dan ikatan dengan protein. (Van der Vusse GJ *et al.*, 2000). Baik *Fatty Acid Translocase* (FAT), atau plasma membran *Fatty Acid Binding Protein* (FABP). Protein spesifik 88-kDa FAT yang disebut CD36 banyak diekspresikan pada otot skelet dan otot jantung dan merupakan bentuk FAT yang dominan pada otot jantung. Pada manusia, defisiensi CD36 telah dilaporkan pada individu dengan hipertrofi atau disfungsi otot jantung, menunjukkan pentingnya metabolisme asam lemak pada jantung normal dan adanya gangguan metabolisme asam lemak pada hipertrofi dan gagal jantung. Ketika melewati sarkolema, *nonesterified fatty acids* berikatan dengan FABP dan kemudian mengalami esterifikasi menjadi *Fatty Acyl-CoA* oleh *Fatty Acyl-CoA synthase* (FACS). Studi terbaru menunjukkan terdapat protein FABP dan FACS yang

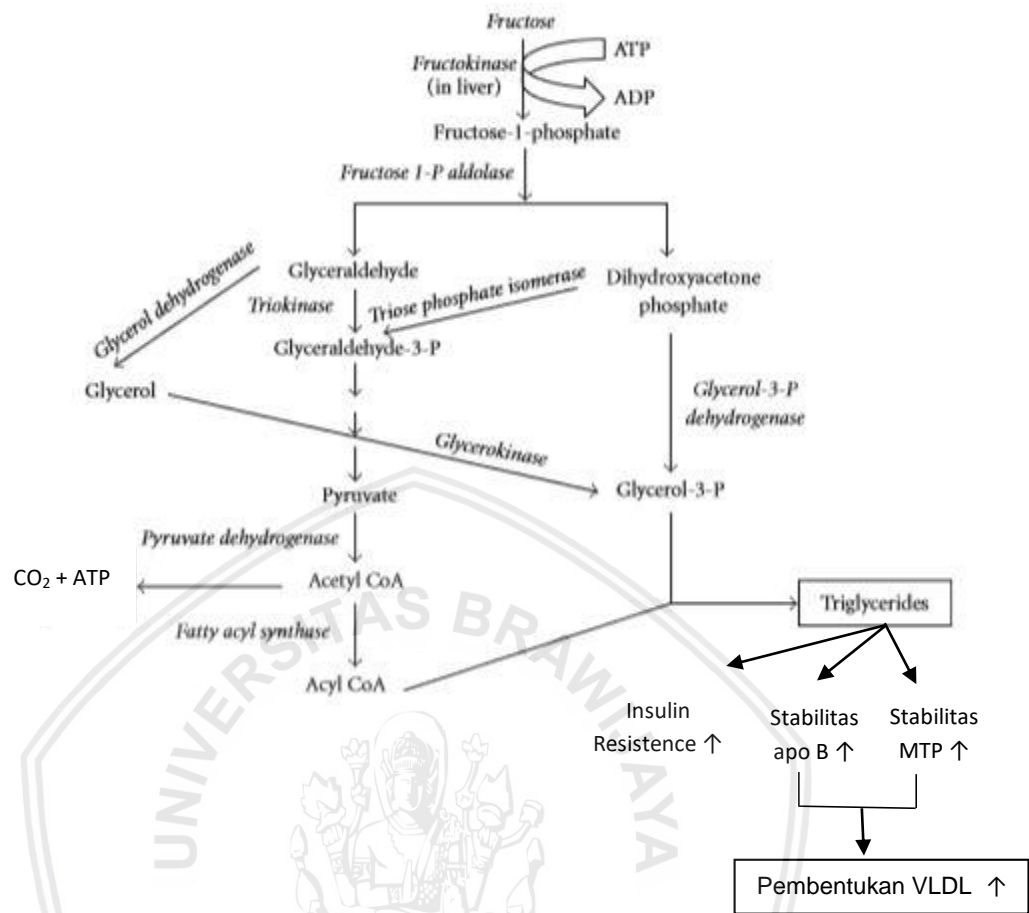
berhubungan dengan CD36 pada sisi sistolik membran sarkolema, jadi meningkatkan kemungkinan asam lemak yang diangkut melewati membran dapat segera mengalami esterifikasi menjadi *fatty acyl-CoA* (Schaffer JE , 1990). Peningkatan oksidasi asam lemak dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara penyerapan dan oksidasi sehingga menghasilkan peningkatan deposisi lipid yang berpotensi toksik di jantung. Akumulasi lemak pada miokardium telah berimplikasi pada kemunduran fungsi dan efisiensi jantung termasuk fibrosis. Regulasi oksidasi asam lemak dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme miokardium dan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Hal ini dapat menyebabkan peningkatan stres pada retikulum plasmik sarco (endo), yang mengakibatkan kalsium (Ca^{2+}) terganggu, dan gangguan kontraksi otot jantung (Sahroui *et al.*, 2016).

Sedangkan fruktosa adalah suatu monosakarida yang terdiri dari 6 karbon (heksosa) dan mengandung gugus karbonil sebagai keton (Prahastuti, 2011). Fruktosa digunakan secara komersial sebagai pemanis pengganti (sirup jagung fruktosa) glukosa atau sukrosa (Lozano et al, 2016).

Metabolisme glukosa dan fruktosa berbeda. Glukosa langsung masuk ke proses glikogenesis, dimana glukosa dipecah disimpan dalam bentuk glikogen. Sedangkan fruktosa, prosesnya bukan glukogenesis tetapi glukoneogenesis, dimana fruktosa dapat dipecah menjadi asam lemak (gliserol) dan fosfat (dehidroaseton fosfat). Asam lemak dan fosfat dikonversi menjadi asetil CoA dimana dalam sistem pernafasan inilah yang akan menghasilkan ATP (energi). Selain menjadi asetil CoA juga dikonversi menjadi gliserol 3-P. Asetil CoA dan gliserol 3-P juga dapat meningkatkan produksi

trigliserida. Hal tersebut dapat menyebabkan peningkatan trigliserida serum setelah mengonsumsi fruktosa (Giacco dan Brownlee, 2016).





Sumber: Panchal dan Brown, 2011 ; Prahastuti, 2011

Gambar 2.3 Metabolisme Fruktosa

Fruktosa diabsorbsi di usus halus dan masuk ke hati melalui vena porta. Sebanyak 50-70% fruktosa yang diabsorbsi, dimetabolisme di hati dan sisanya dikeluarkan melalui ginjal. Fruktosa masuk ke hepatosit melalui transporter Glut2 (Tappy & Le, 2010). Di hati, fruktosa akan di-fosforilasi menggunakan ATP menjadi fruktosa-1-fosfat oleh enzim fruktokinase, kemudian dipecah menjadi gliseraldehid dan dihidroaseton fosfat oleh *fructose 1-P aldolase*. Dihidroksiateton fosfat yang selanjutnya diubah oleh enzim gliserol-3-fosfat dehidrogenase menjadi gliserol-3-fosfat, yang merupakan bahan baku sintesis triasilgliserol. Triasilgliserol merupakan cadangan energi yang ditimbun dalam jaringan lemak (Firani, N.K. 2017)

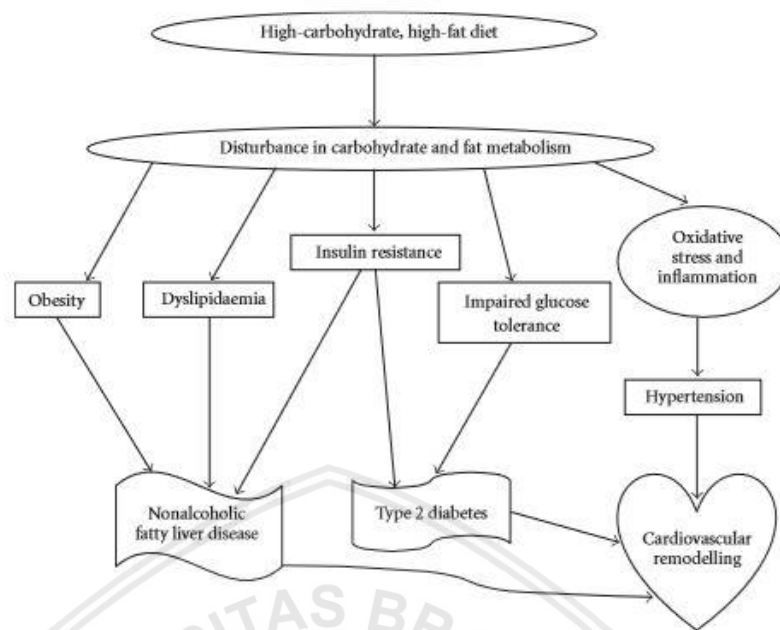
Gliseraldehid dan dihidroksiaseton fosfat akan diubah menjadi asetil CoA. Gliseraldehid oleh enzim triokinase dan dihidroksiaseton fosfat oleh enzim *triosefosfat isomerase* akan dikonversi menjadi gliseraldehid 3-fosfat lalu menjadi piruvat. Oleh enzim *piruvate dehidrogenase*, piruvat akan dikonversi menjadi asetil CoA yang masuk ke dalam rantai pernafasan dan menghasilkan adenosin trifosfat (ATP).

Gliseraldehid dan dihidroksiaseton fosfat juga akan diubah menjadi gliserol 3-fosfat. Gliseraldehid akan diubah menjadi gliserol oleh enzim gliseroldehidrogenase dan pada akhirnya menjadi gliserol 3-fosfat oleh enzim gliserol kinase. Sedangkan dihidroksiaseton fosfat dikatalis oleh enzim gliserol 3-fosfat dehidrogenase menghasilkan gliserol 3-fosfat. Gliserol dan asetilCoA dapat menghasilkan trigliserida. Hal ini dapat menyebabkan peningkatan trigliserida serum setelah mengonsumsi fruktosa. Stimulasi pembentukan trigliserida selain menyebabkan peningkatan resistensi insulin juga menyebabkan peningkatan stabilitas apo B dan microsomal *triglyceride transfer protein* (MTP) sehingga pembentukan VLDL meningkat (Prahastuti, 2011).

Berbeda dengan glukosa, diet tinggi fruktosa tidak menstimulasi insulin atau leptin (dua faktor penting yang berperan dalam mengatur asupan energi dan penimbunan lemak tubuh). Insulin merupakan mediator pelepasan nitrit oksida (NO) endothelial sehingga terjadi peningkatan aliran darah ke otot skeletal dan peningkatan serapan glukosa oleh sel. Sedangkan leptin berfungsi untuk menurunkan asupan makanan dan pengeluaran kelebihan energi. Oleh karena itu, subjek yang diberi diet tinggi fruktosa lebih cepat lapar dan makan lebih banyak kalori dibandingkan yang diberi makan pati sehingga diet tinggi fruktosa cepat meningkatkan berat badan (Prahastuti, 2011). Pemberian fruktosa juga meningkatkan produksi superoksida yang dapat

memicu kerusakan endotel. Disfungsi endotel juga merupakan efek dari ekspresi molekul inflamasi yaitu *Intercellular Adhesion Molecule 1* (ICAM1) yang meningkat pada dosis dan lama pemberian. Mekanisme ini mungkin berperan dalam penurunan ekspresi eNOS, yang akan menghasilkan NO. NO bisa mencegah *upregulation* ICAM1. Disfungsi endotel juga bisa disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif. Stres oksidatif diinduksi oleh fruktosa melalui peningkatan konsentrasi asam urat intrasel dan pembentukan *Advanced Glycation Endproducts* (AGEs).

Beberapa studi membuktikan bahwa konsumsi tinggi fruktosa atau *high fructose* menyebabkan akumulasi dari jaringan adiposa, inflamasi sistemik, obesitas, stres oksidatif, dan resistensi insulin dalam jaringan tubuh (Pereira *et al.*, 2017). Adanya hubungan antara peningkatan konsumsi tinggi fruktosa atau *high fructose* dan obesitas dapat mengakibatkan peningkatan kalori yang berlebih sehingga menimbulkan kegemukan dan penyakit metabolik seperti *Cardiovascular Disease* (CVD), Diabetes Meliitus Tipe 2 dan sindrom metabolik (Rippe and Angelopoulos, 2016). Sebuah penelitian menunjukkan bahwa diet tinggi lemak dan tinggi karbohidrat menginduksi peningkatan yang signifikan dalam stress oksidatif dan peradangan pada orang obesitas (Sanzhez *et al.*, 2011)



Sumber: Panchal dan Brown, 2011

Gambar 2.4 High-carbohydrate, High-Fat Menginduksi Sindrom Metabolik

Kombinasi dari fruktosa dan lemak dapat menyebabkan hiperinsulinemia, resistensi insulin, toleransi glukosa, peningkatan timbunan lemak pada perut, dan inflamasi. Pada tikus yang diberi diet tinggi lemak tinggi fruktosa dapat menunjukkan adanya hipertrofi jantung, inflamasi jantung dan fibrosis (Panchal dan Brown, 2011).

2.4 Diet Normal Standar AIN-93M

Diet normal AIN-93M adalah diet normal yang digunakan untuk pemeliharaan hewan coba sehari-hari yang tidak menimbulkan efek pada tubuh hewan coba. Berikut ini adalah komposisi diet normal AIN-93M yang menggunakan kasein sebagai sumber protein :

Tabel 2.3 Bahan Diet Normal Standar AIN-93M

Nama Bahan	g/kg
Pati Jagung	456,692
Pati jagung dextrinized (90-94% tertasakarida	155
Sukrosa	100
Minyak kedelai	40
Serat	50
Kasein ($\geq 85\%$ protein)	140
L-Cystine	1,8
Mineral mix (AIN-93G-MX)	35
Vitamin mix (AIN-93-VX)	10
Kolin bitartrate	2,5
	8

Sumber: Reeves *et al.*, 1997

Tabel 2.4 Komposisi Vitamin dan Mineral Mix Setiap kg Bahan

Komposisi vitamin dan mineral	Jumlah/ kg mix
Kalsium karbonat anhidros	357,00 g
Kalium fosfat monobasic	250,00 g
Kalium sitrat	28,00 g
NaCl	74,00 g
Kalium sulfat	46,60 g
Magnesium oksida	24,00 g
Zat besi	6,06 g
Zinc karbonat	1,65 g
Si	1,45 g
Mn	0,63 g
Kromium	0,30 g
Asam boric	0,275 mg
Fluoride	81,5 mg
Nikel karbonat	31,8 mg
Lithium klorida	17,4 mg
Selenium	10,25 mg
Iodium	10 mg
Mo	7,95 mg
Vanadate	6,6 mg
Sukrosa	209,806 g

Sumber: Reeves *et al.*, 1997

Berikut adalah komposisi zat gizi yang terkandung dalam diet normal AIN-93M

a. Karbohidrat

Karbohidrat yang digunakan dalam diet AIN-93 adalah pati jagung dan sukrosa. Pati jagung yang digunakan adalah *dextrinized cornstarch* yang terdiri dari 90-94% tetrasakarida. Pati jagung dipilih sebagai sumber karbohidrat terbesar karena hasil dari evaluasi diet AIN-76A menyatakan bahwa penggunaan sukrosa sebagai sumber karbohidrat dapat menyebabkan komplikasi pada tikus, yaitu hiperlipidemia, *hepatic lesions*, dan peningkatan kebutuhan *copper* (Reeves *et al.*, 1997 ; Reeves *et al.*, 1993)

b. Protein

Protein yang digunakan dalam diet AIN-93 adalah kasein. Kasein merupakan sumber protein terbesar dalam diet AIN-93 yaitu 200 g/lg. Kasein mengandung sedikit *sulfur amino acid*, sehingga pada diet AIN-93 ditambahkan *L-Cystine* sebagai sumber *sulfur amino acid* (Reeves *et al.*, 1997 ; Reeves *et al.*, 1993).

c. Lemak

Rekomendasi jenis lemak yang penting ditambahkan dalam diet AIN-93 adalah asam linoleat (*n-6*) dan asam linolenat (*n-3*). , Minyak kedelai mengandung 14% SAFA, 23% MUFA, 51 asam linoleat dan 7% asam linolenat, sehingga minyak kedelai dianjurkan sebagai sumber lemak pada AIN-93. Setelah dilakukan penelitian maka kebutuhan minimal hewan coba adalah asam linoleat 12 g/kg dan asam linolenat 2 g/kg. Hal tersebut apabila diterapkan pada minyak kedelai yang

mengandung sebesar 30 g/kg diet (Reeves *et al.*, 1997; Reeves *et al.*, 1993).

d. Antioksidan

Sumber lemak yang digunakan dalam diet AIN-93 adalah minyak kedelai yang merupakan bahan makanan yang mengandung tinggi PUFA, sehingga membutuhkan antioksidan yang lebih banyak untuk mencegah terjadinya oksidasi lipid. Antioksidan yang dipakai dalam diet AIN-93 adalah tertiary-butylhydroquinone karena sangat efektif untuk mencegah terjadinya oksidasi. Dalam konsidi normal antioksidan yang digunakan sebesar 200 mg/kg minyak (Reeves *et al.*, 1997; Reeves *et al.*, 1993).

e. Serat

Serat yang terkandung dalam AIN-93 yaitu 50 g/kg. Kandungan serat tetap diperhatikan karena dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan *microflora* dalam saluran pencernaan (Reeves *et al.*, 1993)

f. Vitamin

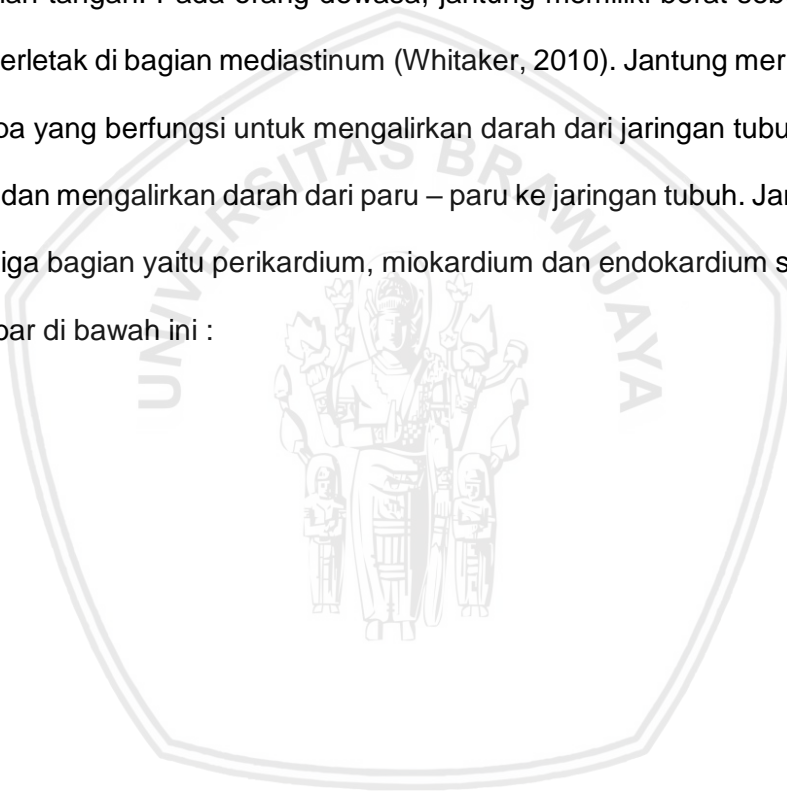
Vitamin merupakan salah satu zat gizi yang mudah mengalami oksidasi sehingga perlu dilindungi selama proses persiapan dan penyimpanan diet. Riboflavin dan vitamin K-1 adalah vitamin yang mudah mengalami degradasi karena cahaya yang kuat sehingga dalam pembuatan dietnya dianjurkan untuk menggunakan ruangan dengan pencahayaan yang tidak terlalu kuat. (Reeves *et al.*, 1997)

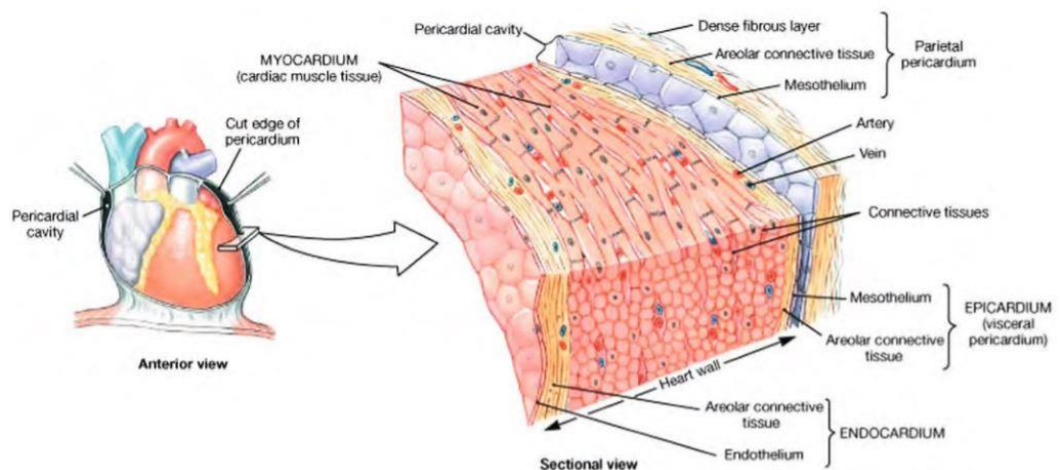
g. Mineral

Terdapat perubahan pada diet AIN-93 dibandingkan dengan AIN-76 meliputi penurunan fosfor dan Mn, mengubah bentuk dan jumlah selenium dan menambahkan unsur boron, nikel, *lithium* (Reeves *et al.*, 1993).

2.5 Anatomi dan Histologi Jantung

Jantung adalah organ yang berongga dan memiliki ukuran sebesar kepalan tangan. Pada orang dewasa, jantung memiliki berat sebesar 300 gr dan terletak di bagian mediastinum (Whitaker, 2010). Jantung merupakan otot pompa yang berfungsi untuk mengalirkan darah dari jaringan tubuh ke paru – paru dan mengalirkan darah dari paru – paru ke jaringan tubuh. Jantung terdiri dari tiga bagian yaitu perikardium, miokardium dan endokardium seperti pada gambar di bawah ini :





Gambar 2.5 Anatomi jantung. Jantung terdiri dari 3 bagian yaitu epikardium, miokardium yang terdiri dari otot jantung, dan endokardium bagian dalam. Pada sel – sel otot jantung memungkinkan sel-sel untuk transmisi langsung dari satu sel ke sel lainnya (Weinhaus dan Roberts, 2005)

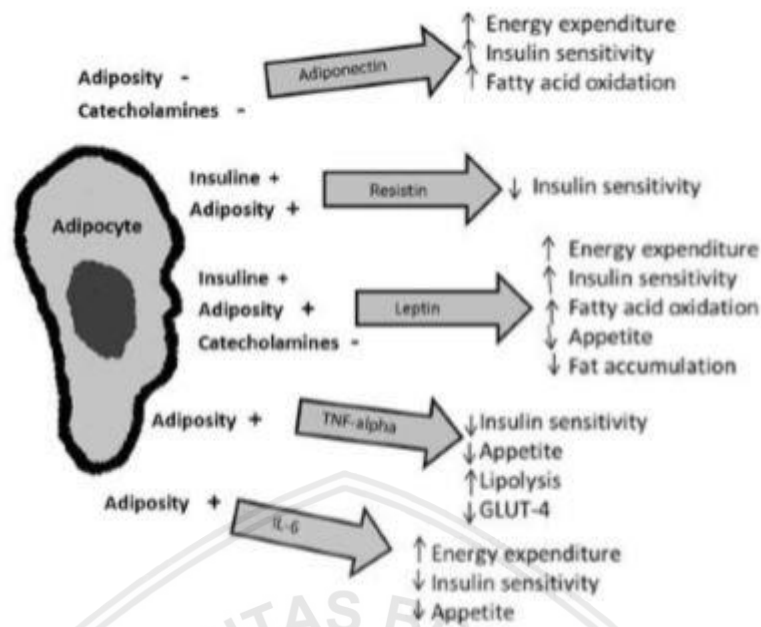
- 1) Perikardium, jantung diselubungi oleh selaput luar yang disebut perikardium. Perikardium terdiri dari lapisan tipis fibroelastik jaringan ikat yang mendukung mesothelium dan lapisan luas jaringan adiposa yang berfungsi untuk menghubungkan lapisan fibroelastik ke miokardium. Pada bagian perikardium membentuk pari-etal perikardium yang mengandung lapisan serat kolagen dan elastin digunakan untuk memberikan tingkat elastisitas parietal perikardium.
 - 2) Miokardium merupakan lapisan tengah yang terdiri dari jaringan otot – otot jantung yang berfungsi sebagai pompa darah melalui jantung
 - 3) Endokardium merupakan lapisan dalam jantung yang berfungsi membentuk jaringan ikat pada sel endotel
- (Weinhaus dan Roberts, 2005)

Bagian jantung terdiri dari 4 ruang yaitu ventrikel kanan, ventrikel kiri, atrium kanan, dan atrium kiri. Pada atrium kanan darah mengalir melalui vena kava superior, vena kava inferior dan sinus koronarius. Atrium kiri menerima darah kaya akan oksigen dari paru melalui vena pulmonalis. Ventrikel kanan menerima darah dari atrium kanan kemudian dipompakan ke paru melalui arteri pulmonalis. Sedangkan ventrikel kiri menerima darah dari atrium kiri dan kemudian dipompakan ke seluruh tubuh melalui aorta.(Shah *et al.*, 2009).

Pada tikus yang diberi diet tinggi lemak akan menyebabkan terjadinya obesitas. Obesitas bisa disebabkan karena kadar adiponektin yang rendah akan mengakibatkan terjadinya inflamasi dan disfungsi endotel (Kim *et al.*, 2016).

2.6 Hubungan Obesitas dengan Inflamasi

Obesitas dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis. Jaringan adiposa tidak hanya pada organ penyimpanan trigliserida, tetapi sebuah penelitian telah menunjukkan peran jaringan *white* adiposa sebagai penghasil zat bioaktif tertentu yang disebut adipokines. Selain zat adipokines, juga ditemukan beberapa mediator inflamasi seperti Interleukin-6 (IL-6), TNF- α , leptin, resistin. Zat – zat biokatif ini berperan dalam berbagai homeostatis berbagai proses fisiologis. Berikut gambar yang menunjukkan *adipokines* dan perannya.



Gambar 2.6 Gambar ini menunjukkan *adipokines* utama dan perannya. Jaringan adiposa menghasilkan beberapa *adipokines* yang memberi efek metabolik, baik di pusat maupun di jaringan perifer. Produksi *adipokines* ini diatur oleh insulin, catecholamines, dan adipositas. TNF-alpha: Tumor Necrosis Factor-Alpa; IL-6: Interleukin (Sanchez *et al.*, 2011)

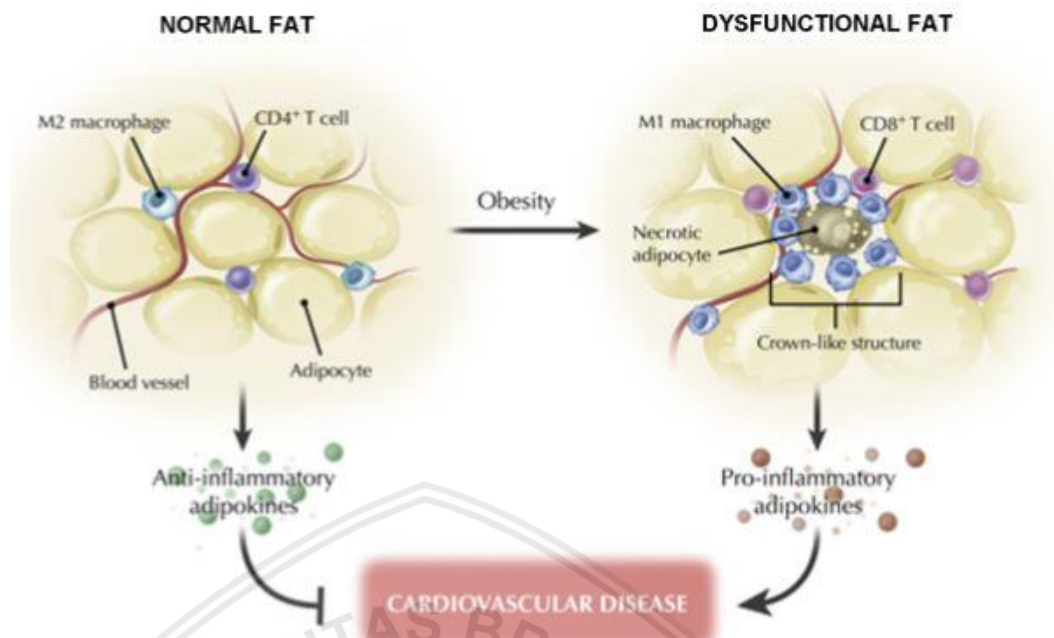
Pada gambar ini, jaringan adiposa menghasilkan beberapa adipokines yang memberi efek terjadinya metabolik, baik di pusat maupun di jaringan perifer (Sanchez *et al.*, 2011)

Peranan adipokines dan homeostasis metabolik yaitu :

- 1) Leptin. Obesitas dikaitkan dengan adanya peningkatan kadar leptin. Dalam peradangan, leptin bekerja langsung pada makrofag untuk meningkatkan aktivitas fagosit, dan produksi sitokin proinflamasi serta memberikan efek pada T-sel, monosit, neutrofil, dan sel endotel. Leptin juga merangsang proliferasi dan migrasi sel otot polos, sehingga mendukung perkembangan dari aterosklerosis (Sanchez *et al.*, 2011)

- 2) TNF- α merupakan salah satu sitokin yang terlibat dalam respon inflamasi dan dikaitkan dengan perkembangan resistensi insulin, obesitas, dan diabetes. Hal ini diproduksi oleh monosit, limfosit, jaringan adiposa, dan otot yang berperan dalam patogenesis sindrom metabolik terkait obesitas (Sanchez *et al.*, 2011)
- 3) Interleukin 6 (IL- 6) memberikan pertahanan inflamasi dan kerusakan jaringan. Hal ini dihasilkan oleh makrofag dan adiposit, sel-sel sistem kekebalan tubuh, fibroblas, sel endotel, dan otot rangka. IL-6 mempengaruhi toleransi glukosa melalui peraturan negatif visfatin, selain itu, anatagonis sekresi adiponektin, dan dalam hewan coba dapat meningkatkan kadar trigliserida meningkatkan glukoneogenesis dan glikogenolisis dan menghambat glikogenesis (Sanchez *et al.*, 2011)
- 4) Resistin adalah adipokine yang diproduksi oleh adiposit matang dan makrofag yang telah diketahui bahwa resistin terlibat dalam hubungan obesitas dan resistensi insulin. Resistin berhubungan dengan inflamasi karena berkorelasi dengan IL-6 (Fonseca, 2007)
- 5) Adiponektin, peranannya dalam sindrom metabolik dapat meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi aliran asam lemak bebas dan meningkatkan oksidasi. Adiponektin menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang tinggi karena menghambat adhesi monosit ke sel endotel, menghambat ekspresi TNF- α , meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO) pada sel endotel (Sanchez *et al.*, 2011)

Berikut terdapat hubungan obesitas, inflamasi dengan sindrom metabolik seperti penyakit kardiovaskuler :



Gambar 2.7 Obesitas terkait perubahan komposisi jaringan adiposa. Obesitas dapat mendorong perubahan jaringan adiposa dan mendorong transisi ke fenotip disfungsi secara metabolik. Ketika tubuh mengalami obesitas, adiposit mengalami hipertrofi karena peningkatan trigliserida. Jaringan adiposa yang disfungsi secara metabolik diindikasikan dengan struktur histologis seperti makrofag M1 teraktivasi yang mengelilingi adiposit nekrotik dan sel T CD4⁺. Adipokin antiinflamasi, seperti adiponektin diproduksi oleh jaringan adiposa tanpa lemak, sedangkan faktor proinflamasi diproduksi pada subjek yang mengalami obesitas (Nakamura *et al.*, 2014).

Obesitas menyebabkan peningkatan ekspresi proinflamasi *adipokine* dan penurunan proinflamasi ekspresi anti-inflamasi *adipokine*. Ketidakseimbangan *adipokine* menyebabkan terjadinya disfungsi metabolik sistemik dan penyakit kardiovaskuler (Nakamura *et al.*, 2014)

2.7 Hubungan HFHF dengan inflamasi, hipertrofi, fibrosis

Diet tinggi lemak akan menyebabkan terjadinya obesitas. Obesitas dapat disebabkan karena kadar adiponektin yang rendah akan mengakibatkan

terjadinya inflamasi dan disfungsi endotel (Kim *et al.*, 2016). Konsumsi tinggi fruktosa dan lemak dapat menyebabkan penimbunan lemak visceral sehingga menyebabkan obesitas. Keadaan obesitas akan menyebabkan terjadinya peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α dimana sitokin proinflamasi tersebut menyebabkan terjadinya inflamasi pada jantung. proses inflamasi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan pada organ jantung seperti Hipertrofi, fibrosis dan peningkatan sel inflamasi mononuklear. Selain itu kondisi obesitas juga terjadi peningkatan stres oksidatif, dimana hal tersebut juga menyebabkan terjadinya inflamasi pada jantung. Selain obesitas kondisi resistensi insulin dan intoleransi glukosa karena konsumsi HFHF juga dapat menyebabkan meningkatnya stress oksidatif yang pada akhirnya berpengaruh proses inflamasi pada jantung.

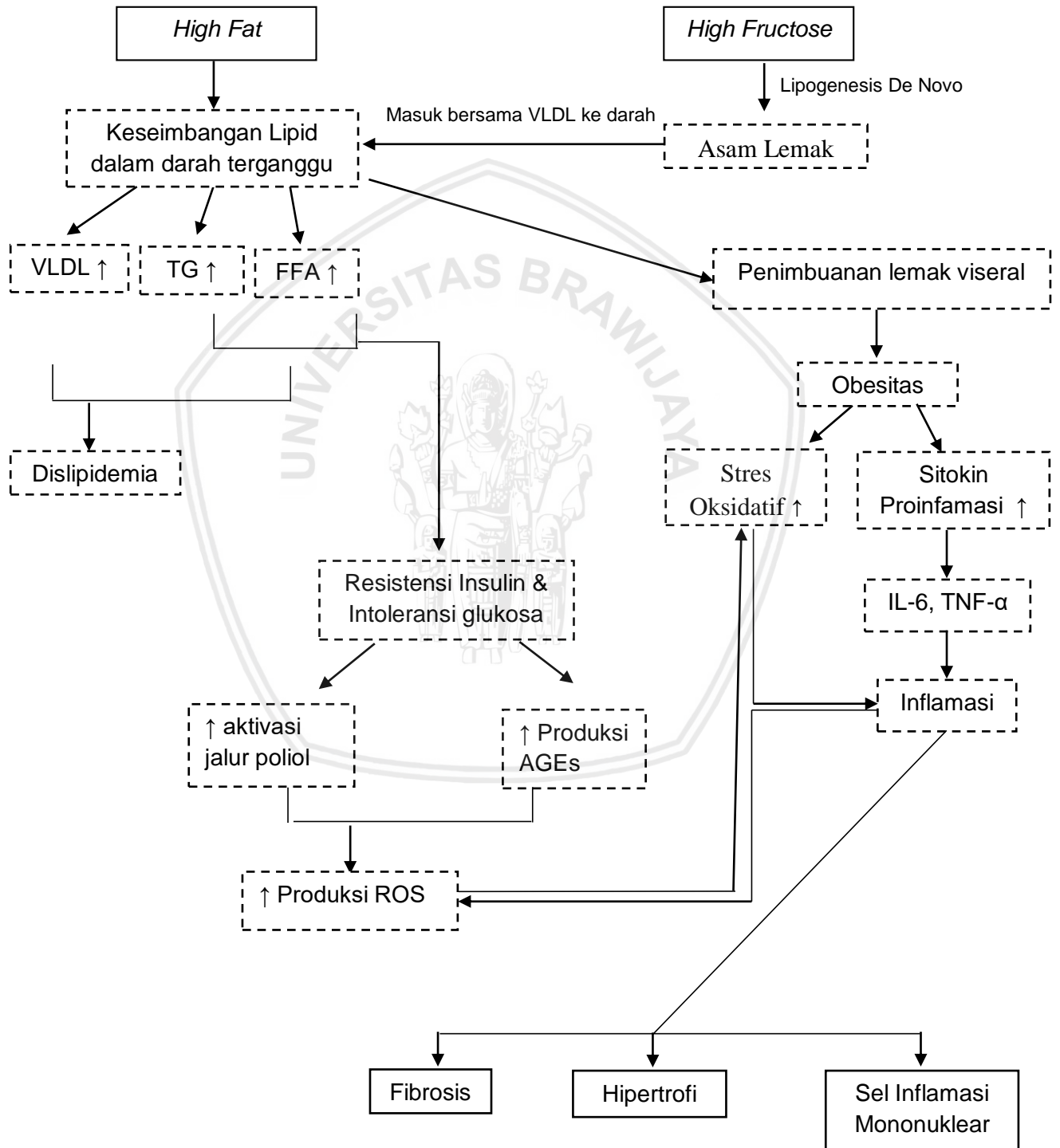
Selain itu, resistensi insulin dan intoleransi glukosa juga dapat menyebabkan kerusakan sel pada jantung melalui mekanisme aktivasi jalur poliol, dan peningkatan pembentukan AGEs. Aktivasi jalur poliol dapat menyebabkan *turn over* NADPH sehingga terjadi penurunan rasio NADPH sitosol terhadap NADP $^{+}$ yang dikenal sebagai keadaan *pseudohipoksia*. Selain itu NADPH juga diperlukan sebagai faktor GSH untuk menetralkan oksidan intraselular, dengan demikian akan mengakibatkan stres oksidatif yang besar. Sedangkan AGEs terbentuk dari reaksi non enzimatis glukosa dan juga dari peningkatan oksidasi asam lemak di sel endotel dan jantung dengan protein. Protein plasma yang telah dimodifikasi dengan AGEs akan berikatan dengan reseptor AGEs dimana ikatan ini akan menginduksi produksi ROS (Giacco dan Brownlee, 2016).

1.

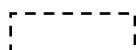
BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



= Variabel yang tidak diukur

 = Variabel yang diukur

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Fruktosa diabsorpsi di usus halus dan masuk ke hati melalui vena porta. Di hati, fruktosa akan difosforilasi menjadi fruktosa 1-fosfat oleh enzim *fruktokinase*, kemudian dipecah menjadi gliseraldehid dan dihidroaseton fosfat oleh *hepatic aldose*. Dihidroaseton fosfat dan gliseraldehid ini akan diubah menjadi asetil-CoA yang masuk ke dalam rantai pernafasan menghasilkan adenosin trifosfat (ATP), atau membentuk gliserol dan menghasilkan trigliserida. Hal ini menyebabkan peningkatan trigliserida serum setelah mengonsumsi fruktosa (Johnson *et al.* 2009). Sebagian fruktosa yang dimetabolisme di hati dikonversi menjadi asam lemak melalui proses *Lipogenesis De Novo*. Asam lemak ini dilepaskan ke dalam aliran darah bersama VLDL. Hal ini menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan komponen lipid darah sehingga terjadi dislipidemia (Panchal & Brown, 2011).

Konsumsi lemak yang tinggi juga dapat menyebabkan kondisi dislipidemia yang ditandai dengan tingginya konsentrasi trigliserida (TG), VLDL dan FFA. Berdasarkan hasil beberapa penelitian diduga bahwa FFA dan TG yang tinggi menyebabkan terjadinya resistensi insulin dan intoleransi glukosa (Lavier *et al.* 2011). Resistensi insulin dan intoleransi glukosa dapat menyebabkan kerusakan sel pada jantung melalui mekanisme aktivasi jalur poliol, dan peningkatan pembentukan AGEs.

Aktivasi jalur poliol dapat menyebabkan *turn over* NADPH sehingga terjadi penurunan rasio NADPH sitosol terhadap NADP⁺ yang dikenal sebagai keadaan *pseudohipoksia*. Selain itu NADPH juga diperlukan sebagai faktor GSH untuk menetralkan oksidan intraselular, dengan demikian akan mengakibatkan stres oksidatif yang besar. Sedangkan AGEs terbentuk dari reaksi non enzimatis

glukosa dan juga dari peningkatan oksidasi asam lemak di sel endotel dan jantung dengan protein. Protein plasma yang telah dimodifikasi dengan AGEs akan berikatan dengan reseptor AGEs dimana ikatan ini akan menginduksi produksi ROS (Giacco dan Brownlee, 2016).

Konsumsi tinggi fruktosa dan lemak dapat menyebabkan penimbunan lemak visceral sehingga menyebabkan obesitas. Keadaan obesitas akan menyebabkan stres oksidatif dan peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF- α dimana sitokin proinflamasi tersebut menyebabkan terjadinya inflamasi pada jantung. Kondisi inflamasi akan distimulasi untuk melepaskan radikal bebas sehingga terjadi peningkatan stres oksidatif yang memperparah kejadian inflamasi. Proses inflamasi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan pada organ jantung seperti Hipertrofi, fibrosis dan peningkatan sel inflamasi mononuklear (Panchal & Brown, 2011).

3.3 Hipotesa Penelitian

Pemberian diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi jantung pada tikus Sprague Dawley Jantan.

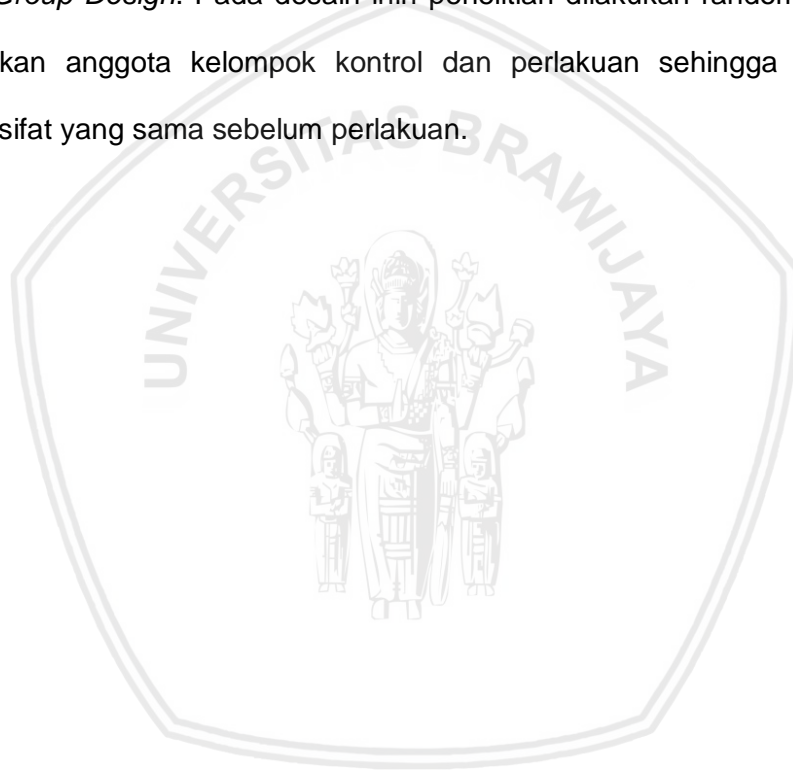
- 1.

BAB IV

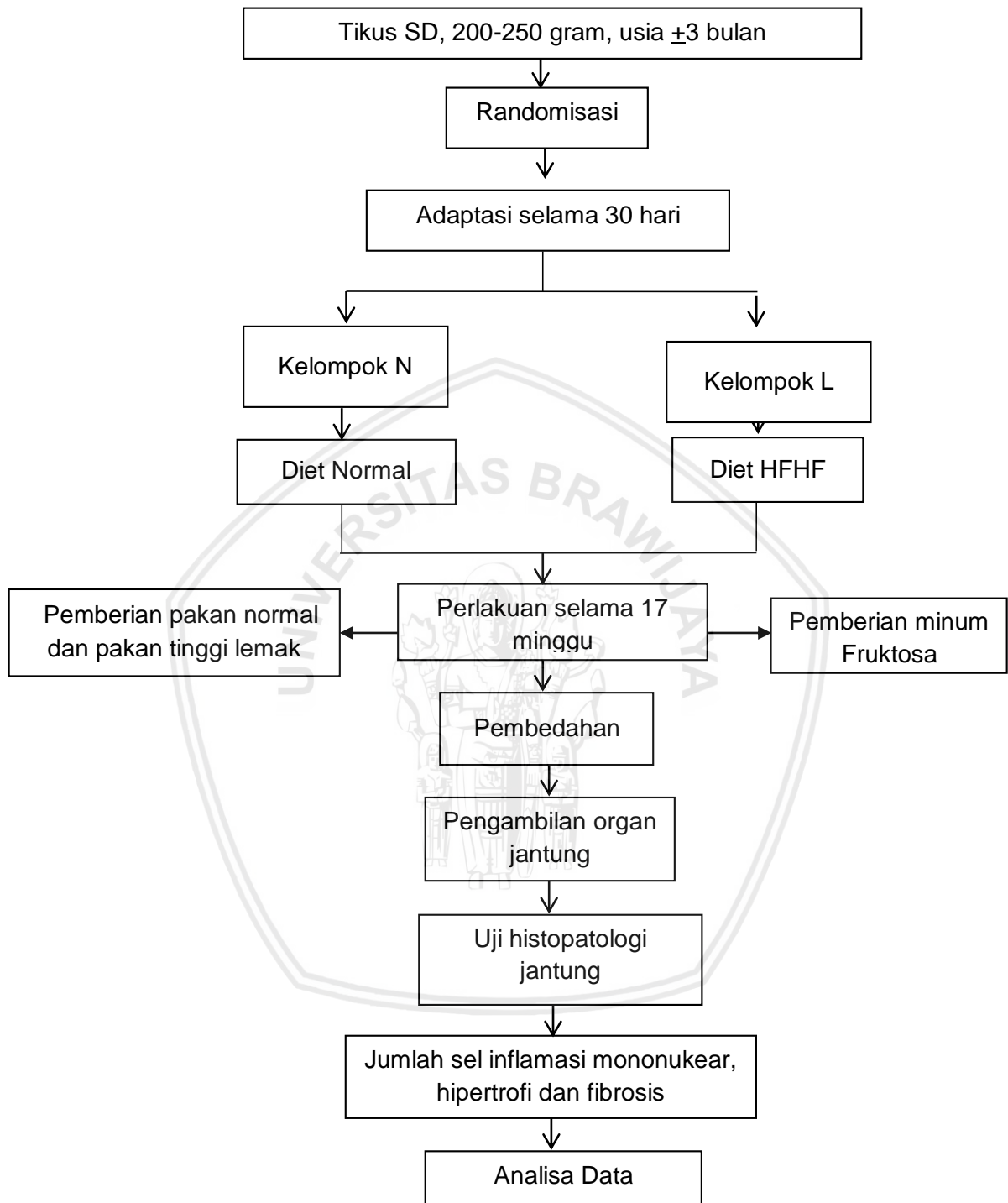
METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah penelitian *True Experimental* pada hewan coba Tikus Sprague Dawley dengan menggunakan desain penelitian *Rancangan Acak Kelompok* (RAK) dengan pendekatan *Randomized Post Test Control Group Design*. Pada desain ini penelitian dilakukan randomisasi untuk menentukan anggota kelompok kontrol dan perlakuan sehingga diharapkan memiliki sifat yang sama sebelum perlakuan.



Skema Alur Penelitian



Gambar 4.1 Skema Alur Penelitian

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Kriteria Populasi

Hewan uji yang digunakan adalah tikus Sprague Dawley jenis kelamin jantan dengan umur ± 3 bulan, berat 200-250 gram, dengan jumlah tikus sebanyak 36 ekor. Penelitian ini dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan yaitu

- a. Kelompok N : Kelompok yang diberikan diet normal AIN-93M
- b. Kelompok L : Kelompok yang diberikan diet HFHF (*High Fat High Fructose*)

4.2.2 Kriteria sampel

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

- Tikus Sprague Dawley
- Warna bulu putih
- Umur ± 3 bulan
- Berat badan 200 – 250 gram
- Tikus sehat dengan anggota badan lengkap dan mata jernih

4.2.2.2 Estimasi Besar Sampel

Dalam penelitian ini estimasi jumlah sampel yang digunakan pada masing-masing kelompok dihitung menggunakan rumus Frederer :

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

Perhitungan sampel :

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

$$[(n-1)(2-1)] \geq 15$$

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

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Untuk menghindari *lose of sample*, maka dilakukan koreksi dengan,

Cadangan = 10% x n

$$= 10\% \times 16$$

$$= 1,6 \approx 2$$

Total Sampel = 16 + 2 = 18

Keterangan :

n = jumlah sampel yang diperlakukan

t = jumlah kelompok perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan jumlah hewan coba untuk setiap kelompok adalah 18 ekor, sehingga penelitian ini menggunakan 36 tikus yang dibagi dalam 2 kelompok perlakuan.

4.2.2.3 Prosedur Randomisasi Sampel

Prosedur randomisasi sampel dilakukan dengan menggunakan metode *simple random sampling* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk menentukan kelompok normal dan kelompok lemak. Selanjutnya dilakukan pengelompokan sampel pada setiap perlakuan menggunakan metode Rancangan Acak Kelompok (RAK) berdasarkan berat badan.

4.3 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian diet HFHF (*High-Fat High-Fructose*)
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah sel inflamasi mononuklear, hipertrofi dan fibrosis pada miokardium Tikus *Sprague Dawley*
- c. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah jenis tikus, usia tikus, jenis kelamin tikus, berat badan awal tikus, pakan tikus, dan kondisi lingkungan.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi :

- Pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang
- Pembuatan preparat histopatologi Jantung dan analisa data di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang
- Pembuatan diet HFHF (*High Fat High Fructose*) di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Waktu :

Penelitian ini dilakukan selama 4 bulan dalam rentan waktu bulan September 2017 – Februari 2018

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Hewan Coba

Alat yang digunakan untuk penelitian ini yaitu kandang tikus berupa bak plastik dan tutup berukuran 45 cm x 35,5 cm x 14,5 cm dengan spesifikasi 1 kandang untuk 1 tikus. Bak plastik diberti tutup dari anyaman kawat berukuran 36,5 cm x 28 cm x 15,5 cm. Alat lainnya yang diperlukan adalah botol air minum, timbangan, sarung tangan, dan masker. Sedangkan bahan yang diperlukan yaitu air minum dan sekam. .

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Pakan Diet Normal

Alat yang diperlukan untuk membuat pakan diet normal adalah mangkok plastik, timbangan, gelas ukur, nampan, dan oven. Bahan yang digunakan untuk pakan diet normal adalah *cornstarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*.

4.5.3 Alat dan Bahan Pakan Diet High Fat High Fructose (HFHF)

Alat yang diperlukan untuk membuat pakan diet tinggi lemak adalah mangkok, plastik, timbangan, gelas ukur, nampan, dan sarung tangan. Bahan yang dibutuhkan adalah *constarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *fructosa*, *lard*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*.

Alat yang digunakan untuk pembuatan diet tinggi fruktosa adalah timbangan, gelas ukur, kertas saring, tabung erlenmeyer, labu ukur, gelas beaker, dan pipet. Bahan yang dibutuhkan adalah fruktosa dan air.

4.5.4 Alat dan Bahan Pembuatan Preparat Histopatologi Jantung

Alat yang diperlukan adalah mikroskop cahaya, okuler mikrometer, object gelas, cover gelas, tissue cassette, rotary microtome, oven, staining jar, staining rack, tissue texture processor, kertas saring, histoplast, dan parafin dispenser. Bahan yang diperlukan adalah organ jantung, aquades, larutan formalin 10% untuk fiksasi, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol absolut, etanol, xilol, pewarna *Hematosiklin Eosin* dan *Masson Trichrome*.

4.5.5 Alat dan Bahan Pengukuran Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear, Fibrosis dan Hipertrofi

Alat yang diperlukan adalah mikroskop cahaya, dotslide, dan program cell counter. Bahan yang diperlukan adalah organ jantung.



4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.6 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Hasil ukur	Skala
1.	Sel inflamasi mononuklear	Sel inflamasi mononuklear adalah sel yang menginfiltrasi miokardium seperti limfosit.. Di hitung pada 10x lapang pandang dengan pembesaran 400x	Sel	Rasio
2.	Fibrosis	Kondisi pembentukan jaringan ikat fibrosa yang berlebihan. Di analisa secara deskriptif	Ada / Tidak ada	Ordinal
3.	Hipertrofi	Organ jantung yang mengalami hipertrofi. Di ukur dengan pembesaran 1000x dengan total 10 sel pada beberapa lapang pandang	μm^2	Rasio
4.	Pakan HFHF	Pakan yang diberikan setiap hari dengan komposisi : <i>constarch, dextrinnise cornstarch, sucrose, fructosa, lard, soybean oil, casein</i> , tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, <i>l-cystine, coline bitartrate</i> . Dengan nilai kandungan 29,39% karbohidrat, 51,64% lemak, dan 21,81% protein dan larutan fruktosa sebesar 30%	Gram	Nominal
5.	Pakan normal AIN-93M	Pakan yang diberikan setiap hari dengan komposisi : <i>cornstarch, dextrinnise cornstarch, sucrose, soybean oil, casein</i> , tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, <i>l-cystine, coline bitartrate</i> . Dengan	Gram	Nominal

		nilai kandungan 42,87% karbohidrat, 25,81% lemak, dan 31,32% protein.		
6.	Asupan	Asupan makanan (gram) yang diberikan selama 24 jam kemudian dikonversikan menjadi asupan energi dalam kkal	Kkal	Rasio

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

1. Pemilihan hewan coba sesuai dengan kriteria yaitu tikus putih *Sprague Dawley* jantan dengan berat 200-250 gr sebanyak 36 ekor.
2. Sebelum penelitian dilakukan, tikus diadaptasikan selama 30 hari untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru dengan dimasukkan pada kandang, diberikan pakan normal, dan minum. Pemberian makan dan minum sebanyak 1 kali dalam sehari. Pemberian makan diletakkan di atas tutup kandang, sedangkan minum diberikan secara oral. Tikus diberikan perlakuan berupa pakan HFHF selama 17 minggu.

4.7.2 Pembuatan Pakan Normal

Diet normal dibuat dengan mencampurkan bahan – bahan dengan komposisi *cornstarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*. Dengan kandungan 42,87 % karbohidrat, 25,81% lemak, dan 31,32% protein. Pemberian pakan sebanyak 1 kali dalam sehari dengan diletakkan di atas tutup kandang. Diet pakan normal ini diberikan pada kelompok N saat masa perlakuan.

4.7.3 Pembuatan Pakan HFHF (*High Fat High Fructose*)

Diet tinggi lemak dibuat dengan mencampurkan bahan-bahan dengan komposisi *constarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *fructosa*, *lard*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*. Diet tinggi fruktosa dibuat dengan komposisi fruktosa 30% (dilarutkan dalam air). Dengan nilai gizi 29,39% karbohidrat, 51,64% lemak, dan 21,81% protein. Pemberian pakan sebanyak 1 kali dalam sehari pada kelompok L saat masa perlakuan.

4.7.4 Pembuatan Preparat Histopatologi

4.7.4.1 Pengambilan Jantung

Pengambilan organ jantung dilakukan saat melakukan pembedahan. Tikus didekapitasi dan diambil jantungnya. Jantung yang sudah diambil kemudian dibersihkan dengan aquades, kemudian difiksasi dengan formalin 10% bufer fosfat selama minimal 7 jam untuk dibuat sediaan histopatologi dengan pewarnaan HE (Hematosiklin- Eosin).

4.7.4.2 Pematangan Jaringan

1. Setelah difiksasi, organ dipotong dengan ketebalan 2-3 mm dan dimasukkan ke kaset. Tuliskan kode sesuai dengan kode pada organ.
2. Potongan jaringan tersebut selanjutnya diproses secara manual yaitu potongan jaringan selanjutnya dimasukkan ke dalam 3 tabung alkohol 96% masing – masing 90 menit.
3. Masukkan ke dalam 3 tabung larutan xylol masing – masing 45 menit

4. Kemudian lakukan impregnasi ke dalam paraffin cair dengan suhu 60-70°C selama \pm 50-60 menit



4.7.4.2.1 Parafinasi

1. Jaringan diambil untuk diblok menggunakan parafin
2. Setelah itu dilakukan parafinasi, jaringan dipotong dengan mikrotom dengan ketebalan 3-5 mikron.

4.7.4.3 Deparafinisasi

1. Potongan jaringan kemudian dilakukan proses deparafinisasi untuk menghilangkan parafin pada jaringan yang dicat dengan cara diletakkan dalam oven selama 30 menit pada suhu 50-70°C.
2. Setelah dioven, jaringan dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol, masing-masing selama 20 menit.
3. Kemudian dimasukkan ke dalam 4 tabung alkohol bertingkat, masing-masing 3 menit.

4.7.4.4 Pewarnaan HE

1. Potongan jaringan dimasukkan ke dalam hematosiklin selama 10-15 menit
2. Cuci dengan air mengalir selama 15 menit
3. Masukkan ke dalam alkohol asam 1% sebanyak 2-5 celup
4. Masukkan ke dalam amonia lithium karbonat sebanyak 3-5 celup
5. Masukkan ke dalam eosin selama 10-15 menit
6. Kemudian dimasukkan ke dalam 4 tabung alkohol bertingkat yaitu alkohol 80%, alkohol 90%, dan alkohol 96%, masing-masing selama 3 menit

7. Setelah dioven, jaringan dimasukkan ke dalam 2 tabung larutan xylol, masing-masing selama 15 menit.
8. Selanjutnya adalah proses mounting, yaitu pemasangan deckglass dengan menggunakan entelan sebagai perekat
9. Preparat histologi siap diamati dengan mikroskop cahaya

(IAPI, 2008)

4.7.4.5 Pewarnaan *Masson Trichome*

1. Deparafinasi
2. Panaskan larutan Bouin's di *water bath* 56-64°C di lemari asam/area yang berventilasi bagus
3. Teteskan 5-10 tetes ke jaringan selama 60 menit
4. Cuci satu kali di *tap water*
5. Cuci satu kali di aquades
6. Campur weight A + weight B dengan rasio 1 : 1. Kemudian warnai jaringan 5 – 10 menit. jaga jangan sampai kering
7. Cuci slide di air mengalir selama 2 menit
8. Cuci slide di akuades
9. Teteskan 5-10 tetes larutan *acid fuchsin* ke jaringan selama 5-15 menit
10. Cuci slide di akuades
11. Bedakan bagian jaringan yang diwarnai dengan 5-10 tetes larutan *phosphomolybdic* selama 10-15 menit atau setelah "kolagen tidak berwarna merah" ± 5 menit

12. Tanpa dicuci, teteskan 5-10 tetes larutan *anilin blue* ke jaringan selama 5-10 menit
13. Cuci slide dengan akuades
14. Teteskan 5-10 tetes larutan acetic acid 1% ke jaringan selama 3-5 menit
15. Dehidrasi dengan cepat di 2 perubahan, alkohol 95% diikuti alkohol absolut
16. Clearing xilol

(IAPI, 2008)

4.7.5 Pemeriksaan Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear dan Hipertrofi

Sel inflamasi mononuklear diamati dan diihitung pada 10x lapang pandang dengan pembesaran 400x. Hipetrofi diamati dan diukur menggunakan *closed polygon* dan dengan pembesaran 1000x dengan total 10 sel pada beberapa lapang pandang.

4.7.6 Pemeriksaan Fibrosis

Fibrosis diamati dengan menggunakan mikroskop cahaya pembesaran 200x. Hasil pemeriksaan diamati dan dianalisa secara deskriptif.

4.7.7 Pengumpulan Data

1. Data asupan diperoleh dengan mengurangi penimbangan berat pakan yang diberikan dengan hasil penimbangan sisa makanan yang diberikan pada tikus setelah 24 jam pemberian. Data asupan tersebut kemudian dikonversikan menjadi asupan energi dalam kkal
2. Hasil jumlah sel inflamasi mononuklear, fibrosis dan hipertrofi pada jantung kelompok N dan kelompok L didapatkan setelah proses pembedahan dengan pemeriksaan secara histopatologi.

4.8 Analisa Data

Data dalam hasil penelitian jumlah sel inflamasi mononuklear dan hipertrofi pada jantung diuji dengan menggunakan analisis statistik menggunakan program SPSS 16.0. Analisis Statistik yang digunakan adalah uji normalitas, karena data terdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji *Independent T-Test*.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Asupan Pakan dan Zat Gizi pada Tikus Percobaan

Asupan pakan yang dikonsumsi oleh tikus dihitung per-24 jam dengan mengurangi jumlah pakan yang telah diberikan dengan sisa pakan yang ada dalam kandang yang ditimbang setiap 2 hari sekali. Asupan pakan tikus percobaan kemudian dikonversikan ke nilai energi, protein, lemak, dan karbohidrat pada masing-masing kelompok diet. Rata-rata asupan pakan energi, protein, lemak, dan karbohidrat dapat dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.1 Rata – Rata Asupan \pm SD Pakan dan Zat Gizi per Hari

	P1	P2	P
	Mean \pm SD	Mean \pm SD	
Pakan (gram)	12,28 \pm 1,68	6,66 \pm 1,09	0,000
Minum <i>Fructose</i> (ml)	-	30,42 \pm 3,53	-
Energi (kkal)	51,71 \pm 7,09	68,74 \pm 6,17	0,000
Protein (gram)	4,04 \pm 0,55	1,84 \pm 0,30	0,000
Lemak (gram)	1,48 \pm 0,20	1,94 \pm 0,31	0,000
Karbohidrat	5,54 \pm 0,75	11,68 \pm 1,08	0,000

Rata – rata asupan pakan dan minum pada kelompok diet HFHF lebih besar dibandingkan dengan rata-rata asupan pakan minum normal yaitu sebesar

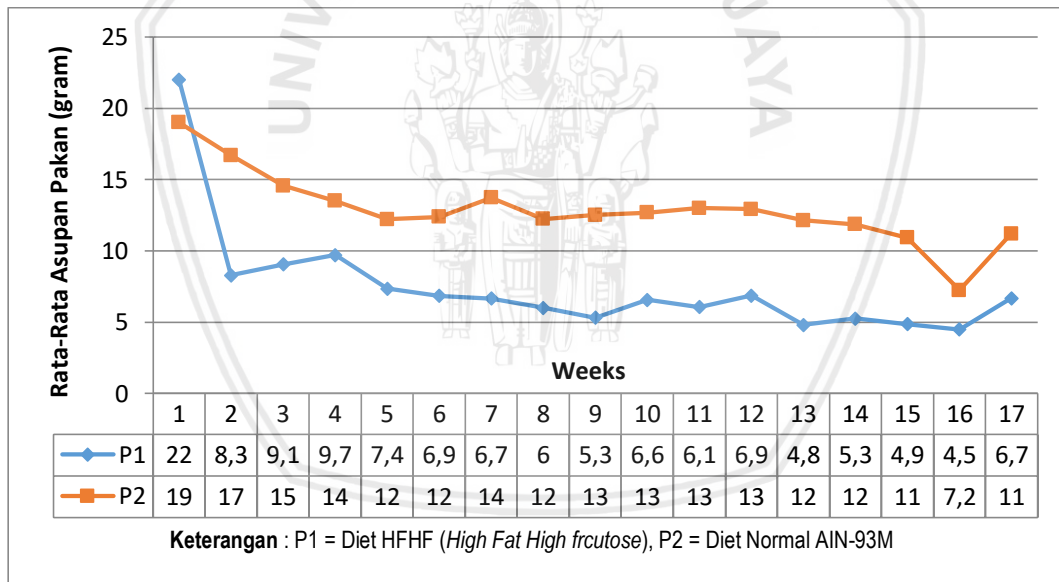
6,66 ± 1,09 dan 30,42 ± 3,53 gram dari total pakan per hari yang diberikan, sehingga rata-rata asupan energi pada tikus kelompok diet HFHF lebih tinggi yaitu sebesar 68,74 ± 6,17 kkal. Berdasarkan hasil analisa *independent t-test* pada tabel



5.2 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara asupan energi kelompok diet normal dengan kelompok diet HFHF dengan nilai $p=0,00$.

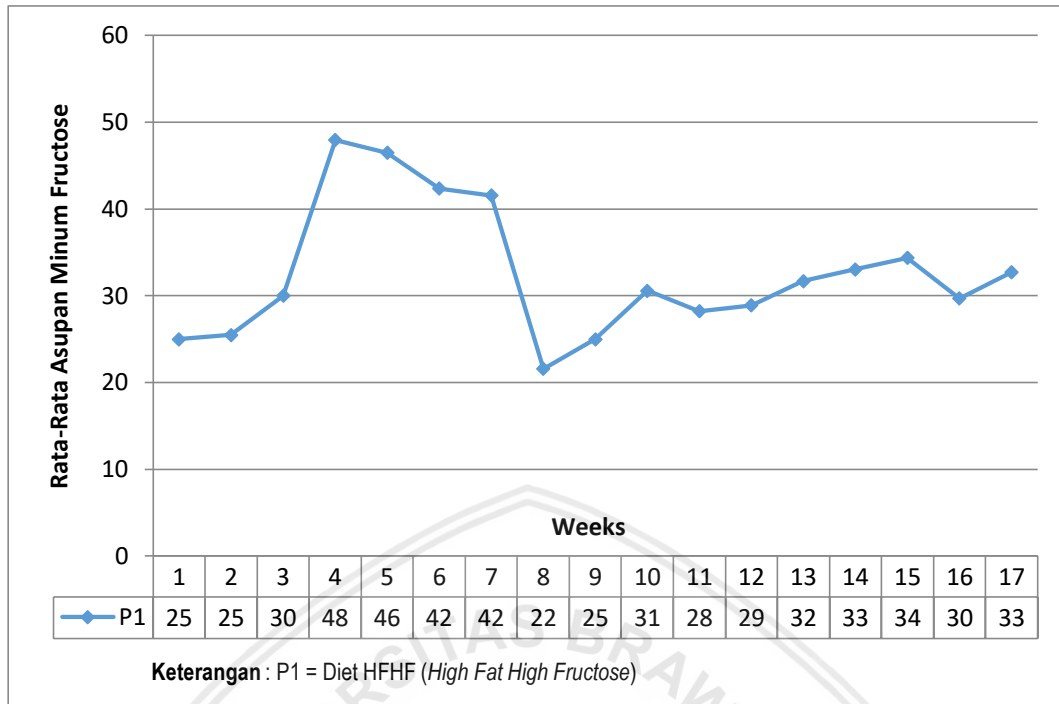
Bahan yang digunakan dalam pakan diet normal *cornstarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*. Sedangkan pada pakan diet HFHF bahan yang digunakan adalah *constarch*, *dextrinnise cornstarch*, *sucrose*, *fructosa*, *lard*, *soybean oil*, *casein*, tepung putih telur, agar, mineral dan vitamin mix AIN, *I-cystine*, *coline bitartrate*.

Berikut yaitu grafik rata-rata asupan pakan tikus selama 17 minggu perlakuan :



Gambar 5.1 Grafik Rata – Rata Asupan Pakan

Berikut yaitu rata-rata asupan minum fruktosa yang dikonsumsi selama 17 minggu perlakuan:



Gambar 5.2 Grafik Rata – Rata Asupan Minum Fruktosa

5.2 Perubahan Berat Badan Tikus

Penimbangan berat badan tikus dilakukan setiap 7 hari (1 minggu) sekali dalam kurun waktu 17 minggu. Perkembangan berat badan tikus selama penelitian dapat dilihat pada tabel 5.3

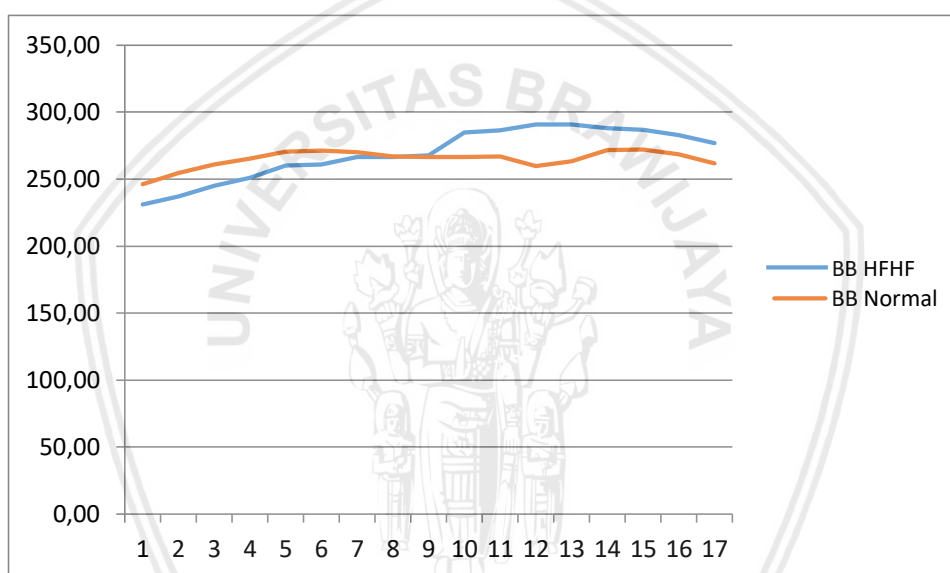
Tabel 5.2 Perubahan Berat Badan Tikus

Kelompok Perlakuan	P1	P2
BB datang (Mean ± SD)	244,19 ± 33,07	240,24 ± 30,71
BB awal (aklimatisasi) (Mean ± SD)	246.10 ± 19.10	245.58 ± 22.05
BB akhir (Mean ± SD)	261.92 ± 29.29	276.92 ± 35.65
Perubahan BB(Mean ± SD)	15.8 ± 23.7	31.3 ± 26.3

Keterangan: P1 = Diet Normal AIN-93M, P2 = Diet HFHF

Pada tikus kelompok diet normal terjadi peningkatan berat badan hingga mencapai 255,20 gram, sedangkan pada kelompok diet HFHF terjadi peningkatan berat badan hingga 271,61 gram pada akhir penelitian. Berdasarkan uji *independent t-test* pada berat badan akhir tikus percobaan didapatkan hasil $p=0.22$ ($\alpha>0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antara berat badan tikus kelompok normal dan kelompok diet HFHF.

Berikut adalah grafik perkembangan berat badan tikus mulai minggu 1 hingga akhir penelitian (minggu 17).



Gambar 5.3 Grafik Rata – rata Berat Badan Hewan Coba per Minggu

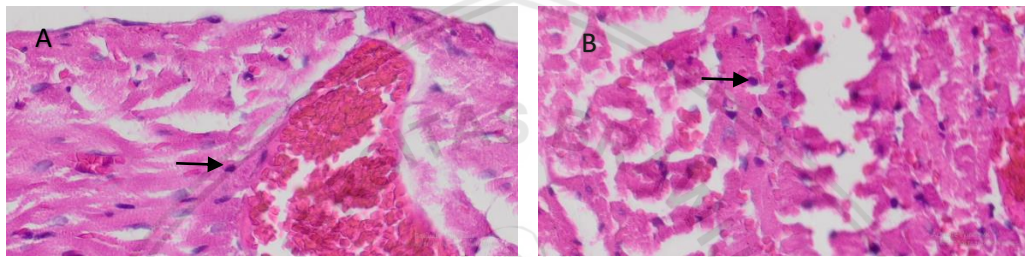
5.3 Pengaruh diet HFHF terhadap Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear Miokardium Tikus

Inflamasi tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.3

Tabel 5.3 Jumlah Sel Inflamasi Mononuklear

	P1	P2	<i>p-value*</i>
	Mean ± SD	Mean ± SD	
Sel inflamasi mononuklear	40,42 ± 4,12	48,81 ± 5,05	0,000

Keterangan: P1 = Diet Normal, P2 = Diet HFHF



Gambar 5.4 Histologi miokardium tikus *Sprague Dawley* pada (A) diet normal standar AIN-93M dan (B) diet *High Fat High Fructose* (HFHF), tampak sel inflamasi mononuklear (→), dengan menggunakan pengecatan HE (Hematosiklin- Eosin), pembesaran 400x.

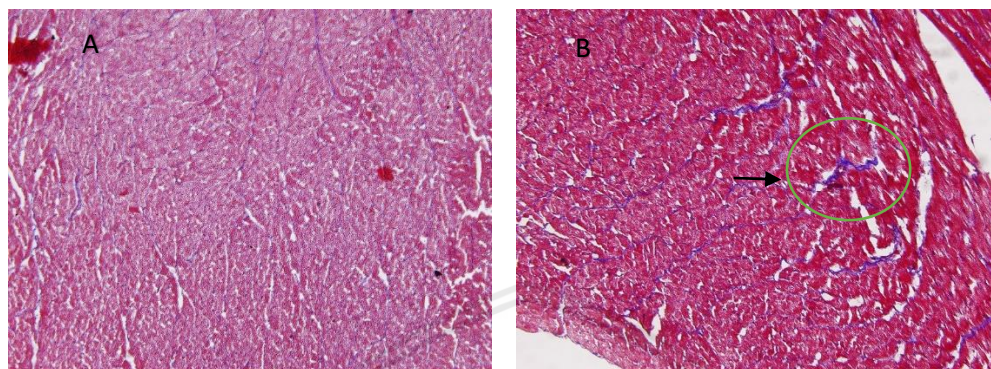
Keterangan :

→ : sel inflamasi mononuklear

Berdasarkan hasil analisa *independent t-test* pada tabel 5.4 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok diet normal dengan kelompok diet HFHF dengan nilai $p=0,00$. Gambar 5.4 menunjukkan adanya inflamasi kronis yang ditandai dengan adanya limfosit dengan inti bulat.

5.4 Pengaruh diet HFHF terhadap Fibrosis Miokardium Tikus

Fibrosis tikus percobaan pada masing masing kelompok perlakuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 5.5



Gambar 5.5 Histologi miokardium tikus *Sprague Dawley* pada (A) diet normal standar AIN-93M dan (B) diet *High Fat High Fructose* (HFHF). Histologi miokardium pada *High Fat High Fructose* (HFHF tampak fibrosis (→), dengan menggunakan pengecatan *Masson Trichome* (MT), pembesaran 200x.

Keterangan :

→ : fibrosis

Berdasarkan hasil pengamatan pada perbesaran 200x dapat diketahui bahwa tikus yang diberi diet *High Fat High Fructose* (HFHF) dengan pengecatan *Masson Trichome* terlihat ada fibrosis dibandingkan dengan diet normal.

5.5 Pengaruh diet HFHF terhadap Hipertrofi Miokardium Tikus

Hipertrofi tikus percobaan pada masing-masing kelompok perlakuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5.4

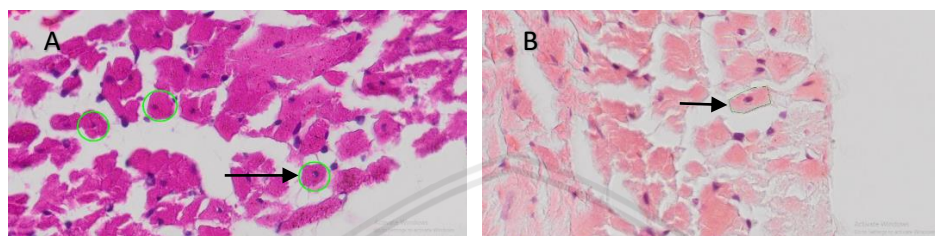
Tabel 5.4 Jumlah Hipertrofi

	P1	P2	<i>p-value</i> *
	Mean ± SD	Mean ± SD	
Hipertrofi	1539,20 ± 214.82	1812,86 ± 202,66	0,001

Keterangan: P1 = Diet Normal AIN-93M, P2 = Diet HFHF

Berdasarkan hasil analisa *independent t-test* pada tabel 5.5 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hipertrofi kelompok diet normal dengan kelompok diet HFHF dengan nilai $p=0,00$

Hipertrofi tikus percobaan pada masing masing kelompok perlakuan dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 5.6



Gambar 5.6 Histologi miokardium tikus *Sprague Dawley* pada (A) diet normal standar AIN-93M dan (B) diet High Fat High Fructose (HFHF), tampak hipertrofi (→), dengan menggunakan pengecatan HE (Hematosiklin- Eosin), pembesaran 1000x.

Keterangan

→ : ukuran sel mengalami hipertrofi

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Rata – Rata Asupan Pakan Diet Normal AIN-93M dan Diet HFHF

Asupan pakan merupakan jumlah pakan yang dikonsumsi oleh hewan coba dan digunakan untuk mencukupi kebutuhannya (Sumadi, 2017). Berdasarkan hasil analisa didapatkan rata-rata asupan energi dari sampel hewan coba menunjukkan nilai tertinggi pada kelompok diet HFHF yaitu $68,74 \pm 6,17$ kkal. Sedangkan pada diet normal rata-rata asupan energi mencapai $51,71 \pm 7,09$ kkal. Hasil uji statistik *independent t-test* diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara asupan energi kelompok diet normal dengan kelompok diet HFHF dengan nilai $p=0,00$. Hasil uji *independent t-test* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan terhadap asupan energi, protein, lemak, karbohidrat kelompok diet normal dengan kelompok diet HFHF dengan nilai $p=0,00$.

Asupan energi yang tinggi pada diet HFHF dapat disebabkan oleh densitas energi. Densitas energi yang lebih besar pada diet HFHF (*High Fat High Fructose*) disebabkan karena tingginya kandungan lemak yang ada di dalamnya, dimana setiap 1 gram lemak mengandung 9 kkal sehingga semakin banyak lemak yang dikonsumsi semakin besar energinya. Walaupun asupan energi diet HFHF lebih tinggi dibandingkan dengan diet normal tetapi asupan pakan pada diet HFHF cenderung rendah. Hal ini juga dapat dipengaruhi oleh densitas energi. Semakin meningkat densitas energi dalam diet, maka hewan akan mengkonsumsi lebih sedikit diet. Teori tersebut dibuktikan dalam penelitian ini yaitu densitas energi yang lebih besar pada diet HFHF 5,08 (kkal/gram) daripada densitas energi diet normal AIN-93M 4,21 (kkal/gram) menyebabkan asupan diet HFHF lebih sedikit

daripada diet normal standar AIN-93M (Mahan dan Rymond, 2012). Selain itu, asupan pakan yang rendah juga dapat disebabkan oleh kandungan lemak pada asupan yang berpengaruh terhadap tekstur dan aroma pakan tikus. Tekstur pakan tikus pada diet HFHF lebih lunak atau lembek dibandingkan dengan diet normal teskstur lebih keras dan kasar sesuai dengan pakan tikus sehari – hari sedangkan berdasarkan dari segi palatabilitas, aroma dari diet HFHF lebih tengik jika dibandingkan dengan diet normal. Aroma tengik dikarenakan adanya penambahan *lard* yang mengandung asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh mudah mengalami oksidasi dan berubah menjadi tengik. Aroma tengik yang timbul disebabkan karena adanya pembentukan senyawa-senyawa hasil pemecahan hidroperoksida. Selain dari faktor pakan tikus, faktor keadaan fisiologis tikus juga mempengaruhi asupan diet. Faktor keadaan fisiologis tikus misalnya tikus mengalami kejenuhan selama masa perlakuan seperti tikus stres, sakit. (Kusumastuty, 2014). Konsumsi fruktosa dapat menyebabkan kandungan energi lebih banyak sehingga menekan asupan pakan tikus. Hal ini sejalan dengan penelitian Francisquet (2017) bahwa fruktosa yang dikonsumsi selama 24 minggu menyebabkan asupan pakan rendah.

6.2 Pengaruh pemberian diet HFHF terhadap Histopatologi Jantung

Berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan diketahui bawah terjadi perbedaan yang signifikan pada histopatologi jantung akibat pemberian diet normal dan diet HFHF. Pada penelitian ini diketahui terdapat perbedaan yang signifikan antara infiltrasi sel inflamasi mononuklear diet normal dengan diet HFHF. Diet HFHF menunjukkan infiltrasi sel mononuklear. Selain itu tikus juga mengalami hipertrofi yang ditandai dengan ukuran sel pada miokardium tikus yang diberi diet HFHF lebih besar. Dan pada tikus yang dilakukan pewarnaan menggunakan *Masson's Trichome* terlihat adanya peningkatan fibrosis pada tikus yang diberi

diet HFHF. Fibrosis yang terlihat pada tikus yang diberi diet HFHF terlihat jelas. Hal ini sesuai dengan penelitian Panchal (2011), tikus yang diberi *diet High Carbohydrate High Fat* (16 minggu) akan mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi kardiovaskular. Hal ini dapat terjadi karena asupan gula dan lemak yang tinggi menyebabkan kondisi stress oksidatif dan inflamasi kronis. Selain dari penelitian Panchal (2011), penelitian lain juga menyebutkan bahwa tikus yang diberi *high fat diet* selama 16 minggu mengalami perubahan struktur histopatologi jantung yaitu hipertrofi, fibrosis, infiltrasi sel inflamasi, maka hal ini dapat diketahui bahwa lamanya waktu perlakuan dapat menimbulkan respon pada jantung (Sahraoui *et al.*, 2016)

Inflamasi berkontribusi dalam patogenesis penyakit jantung. inflamasi sering disebabkan karena respon inflamasi dalam miokardium yang awalnya berfungsi sebagai reseptor adaptif kemudian mengarah pada aktivasi beberapa mekanisme seperti radikal bebas, kondisi inflamasi kronis, seperti metabolik sindrom, hipertensi menyebabkan respon maladaptive di kardiomyosit termasuk hipertrofi (Stanfield *et al.*, 2014 ; Yandriani,R & Karani, Y., 2018)

Hipertrofi jantung yang disebabkan karena adanya inflamasi kronis mengeluarkan sitokin inflamasi seperti TNF- α . Sitokin ini menginduksi IL-6 yang dapat menyebabkan jantung mengalami hipertrofi. Selain itu sitokin pro inflamasi tersebut juga dapat menyebabkan fibrosis dan peningkatan jumlah produksi sel mononuklear. Sel mononuklear berkontribusi terhadap meningkatnya sitokin proinflamasi. Fibrosis jantung ditandai dengan peningkatan kolagen dari fibroblas jantung (Stanfield *et al.*, 2014). Pada penelitian ini untuk mendeteksi adanya area fibrosis, maka digunakan pewarnaan *Masson's Trichome*. Pewarnaan *Masson's Trichome* khusus digunakan untuk melihat jaringan ikat, dan gambaran fibrosis.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini dapat diketahui bahwa tekstur pakan tikus pada diet HFHF lebih lunak atau lembek dibandingkan dengan diet, hal ini diketahui dari asupan pakan diet HFHF lebih rendah dibandingkan diet normal. Selain itu belum adanya pembandingan mengenai rata-rata asupan energi tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet HFHF khususnya pada tikus *Sprague Dawley*. Sehingga perlu dilakukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui rata-rata asupan energi tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet normal standar AIN-93M dan diet HFHF.



BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Terdapat perbedaan yang signifikan akibat pemberian diet HFHF (*High Fat High Fructose*) terhadap histopatologi jantung yaitu jantung mengalami inflamasi kronis yang ditandai dengan adanya sel inflamasi mononuklear pada miokardium jantung. Dan hipertrofi yang ditandai dengan ukuran sel pada miokardium jantung tikus yang diberi diet HFHF lebih besar. Serta terlihat adanya fibrosis pada miokardium tikus yang diberi diet HFHF.
2. Rata – rata asupan tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet HFHF (*High Fat High Fructose*) dan diet normal standar AIN-93 yaitu $68,74 \pm 6,17$ gram dan $51,71 \pm 7,09$ gram.
3. Rata – rata jumlah sel inflamasi mononuklear pada tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet HFHF (*High Fat High Fructose*) dan diet normal standar AIN-93 yaitu $48,81 \pm 5,05$ sel dan $40,42 \pm 4,12$ sel
4. Rata – rata ukuran sel hipertrofi pada tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet HFHF (*High Fat High Fructose*) dan diet normal standar AIN-93 yaitu $1812,86 \pm 202,66 \mu\text{m}^2$ dan $1539,20 \pm 214,82 \mu\text{m}^2$.
5. Terlihat adanya fibrosis pada miokardium tikus *Sprague Dawley* yang diberi diet HFHF (*High Fat High Fructose*).

7.2 Saran

Saran dalam penelitian selanjutnya yaitu perlu diperhatikan komposisi zat gizi dan cara pengolahan pakan tikus. Hal ini bertujuan supaya tekstur pakan sesuai

dengan pakan tikus. Selain itu, diperlukan ruang pemeliharaan yang tepat bagi tikus seperti suhu, kelembaban, dan pencahayaan guna mencegah tikus mengalami sakit dan stres selama masa penelitian sehingga dapat mengurangi bias pada penelitian.



DAFTAR PUSTAKA

- Aryati K., Peningkatan Tekanan Darah pad Pasien Perokok. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung, 2015 ; 2 (3) : 307 – 312.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). *Laporan Nasional* , 2013, 1-394.
- Bocarsly, M., Powell, E.S., Avena, N. M., & Hoebel, B. G. *High-fructose corn syrup causes characteristics of obesity in rats: Increased body weight, body fat and triglyceride levels. Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2010, 97(1), 101-106.
- Brower M., Grace M., Kotz C.M., Koya V. Comparative analysis of growth characteristics of Sprague Dawley rats obtained from different sources. *Laboratory Animal Research*, 31(4), 2015 p. 166.
- Crescenzo, R., Bianco, F., Coppola, P., Mazzoli, A., Valiante, S., Liverni, G., Lossa, S., Adipose tissue remodeling in rats exhibiting fructose-induced obeisty. *EUR.J. Nutr.* 2014, 53, 413-419. [CrossRef] [PubMed].
- Desmawati. Pengaruh Asupan Tinggi Fruktosa Terhadap Tekanan Darah. Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas. *Majalah Kedokteran Andalas* Vol. 40, No. 1 2017, Hal. 31-39
- Ebong, I. A., Goff Jr. D. C., Rodriguez C.J., Chen H., and Bertoni A.G., Mechanisms of heart failure in obesity. *Obesity Research and Clinical Practice*, 8(6), 2013, pp. e540-e548.
- Fonseca-Alaniz M.H., Takada J., Alonso-Vale M.I., and Lima F.B. Adipose Tissue As An Endocrine Organ: From Theory to Practice. *J. Pediatr*, 83 (Suppl.;5), 2007, S192-S203.
- Francisqueti, F.B., Santos, K.C., Ferron, A.J., Lo, A.T., Minatel I.O., Campos, D.H., Ferreira A.L.A., dan Correa, C.R., Fructose: Toxic effect on cardiorenal risk factors and redox state. *Original Article. SAGE Open Medicine* Voume 4-6. 2017. DOI: 10.1177/20503/2/16684294.
- Gadde, K. M., MARTIN k., Berthoud H. R., and Heymsfield S. B. Obesity: Pathophysiology and Management. *Journal of the American College of Cardiology*, 71(1), 2018, pp. 69-84.
- Giacco F, Brownlee M. Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Circulation Research*. 2016 Mei;107:1058-70
- Harini M dan Astirin O.P., Kadar Kolesterol Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hiperkolesterolemik Setelah Perlakuan VCO, 2009, *Nusantara Bioscience* 1: 53-58
- Johnson, R.J. *et al.*, 2009. Hypothesis: Could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? *Endocrine Reviews*, 30(1), hal. 96-116.

- Kim, S. H., Pierre D. J., and Koh K. K., Obesity and Cardiovascular Disease: friend or foe?. *European Heart Journal*, 37(48), 2016, pp. 3560-3568.
- Kumar V., Abbas A.K., and Aster J.C. Robbins and Contran Pathologic Basis of Disease, 9th Ed., 2015. ISBN: 978-1-4557-2613-4
- Kusumastuty, I. Sari Buah Markisa Ungu Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus Dengan Diet Aterogenik. *Indonesion Journal of Human Nutrition*, Juni 2014, Volume 1 Edisi 1 : 50 - 56
- Levy L. D., Fleming J. P., and Klar D. Treatment of refractory obesity in severely obese adults following management of newly diagnosed attention deficit hyperactivity disorder. *International Journal of Obesity*, 33(3), 2009, pp. 326-334.
- Limanan D dan Prijanti, A.N. Hantaran Sinyal Leptin dan Obesitas: Hubungannya dengan Penyakit Kardiovaskuler. Vol. 1, No. 2, Agustus 2013.
- Lim J. K., Lee H. H., Kim J.S., Hwang Y. I., Hyung K. T., Lim S. Y., Yoo K. H., Suck J. K., Kim Y. K., and Rhee C. K. Comparasion of World Health Orogization and Asia-Pacific body mass index classification in COPD patients, *International Journal of COPD*, 2017 : 12 2465-2475
- Lozano, I., Werf, R.V.D., Bletiger, W., Seyfritz, e., Peronet, C., Pinget, M., Jeandidier, N., Mailard, E., Marchioni, E., Sigrist, S., dan Dal, S., High-fructose and high-fat diet-induced disorder in rat: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutrition Metabolism* (2016) 13: 15 DOI 10.1186/12986-016-0074-1
- Mahan, L.K., Raymond J.L. Krause's Food & the Nutrition Care Process. 978-1-4377-2233-8.2012
- Maria S., Kamath V. V., Krishnanand P. S., and Komali R. Sprague Dawley Rats are a Sustainable and Reproducible Animal Model for Induction and Study of Oral Submucous Fibrosis. *Journal of Orofacial Sciences*, 2015, Vol. 7, Issue 1, January 2015.
- Masengi K., Ongkowijaya J., dan Wantania F. Hubungan Hiperurisemia Dengan Kardiomegali pada Pasien Gagal Jantung Kongestif. *Jurnal e-Clinic (eCI)*, *Volume 4, Nomer 1, Januari-Juni 2016*
- Mathew B., Francis L., Kayalar A., and Cone J., Obesity: Effects on Cardiovascular Disease and its Diagnosis. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, 21(6), (2008) pp. 562-568.
- Mukhtar D., Makrofag Pada Jaringan Adiposa Obes Sebagai Penanda Terjadinya Resistensi Insulin, 2012, Tahun 28 Nomor 317 Februari 2012
- Nakamura K., Fuster J. J., and Waish K., Adipokines: A Link Between Obesity and Cardiovascular Disease, *Journal of Cardiology*, 2014, 250-259
- Nishida K and Utsu K., Inflation and Metabolic Cardiomyopathy. *Cardiovascular Research*, 2017, 113, 389-398

- repository.ub.ac.id
- Panchal S. K. and Brown L., Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, Volume 2011, Article ID 351982, 14 pages, doi:10.1155/2011/351982
- Panchal, S.K et al. High-carbohydrate, High-fat Diet-induced Metabolic Syndrome and Cardiovascular Remodeling in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol* Volume 57, Number 5, May 2011
- Pereira, R. M., Botezeli J.D., Rodrigues K.C.D.C., Mekary R.A., Cintra D. E., Pauli J. R., Silva A. S. R., Ropelle E. R., and Moura L. P., Fructose consumption in the development of obesity and the effects of different protocols of physical exercise on the hepatic metabolism. *Nutrients*, 9(4), 2017, pp. 1-21.
- Prahastuti S, Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia (*Consuming Excessive Amount of Fructose may Affect Our Health*). Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia, 2011.
- Pribadi G.A., 2008, Penggunaan Mencit Dan Tikus Sebagai Hewan Model Penelitian Nikotin, Skripsi. Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor, 2008.
- Pusparini., Obeistas Sentral, Sindroma Metabolik dan Diabetes Mellitus Tipe 2. *Universa Medica*, Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, 2007, Vol, 26, No. 4.
- Rahmawati, A., Mekanisme Terjadinya Inflamasi dan Stres Oksidatif pada Obesitas. *El-Hayah Biology Journal*, 5(1), 2014, pp. 1-8.
- Rahmawati Y.M., Ulfa E.U., dan Rachmawati E. Pengaruh Ekstrak Metanol Duan Kayu Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) terhadap Histopatologi Aorta Tikus Wistar Hiperlidemia. Fakultas Farmasi, Universitas Jember, 2016, e-Jurnal Pustaka Kesehatan, vol. 4 (no. 2).
- Reeves, Philip G., Forrest H. Nielson, dan George C. Fahey. AIN-93. Purified Diet for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. American Institute of Nutrition. 1993
- Reeves, Philip G., Forrest H. Nielson, dan George C. Fahey. AIN-93. Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet. Symposium: Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research, American Society for Nutritional Science, *The Journal of Nutritional*, 1997; 97:0022-3166
- Ridwan, E. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan, 2013, *Indon Med Assoe*, Volum: 63, Nomer: 3
- Rippe, J. M and Angelopoulos T. J., *European Journal of Nutrition. Sugars, obesity, and cardiovascular disease: results from recent randomized control trials*, 55(s2), (2016) pp. 45-53
- Rismawati, I., Usmar, E., Pakki dan K., Haryono. Uji Efek Antiobesitas dari Susu Kedelai (*Glycine max* Merrill) pada Tikus (*Rattus Norvegicus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vo. 16, No. 2-Juli 2012, hlm. 107-110

- Sahraoui, A., Dewachter, C., Medina, G., NEIJE, r., Bouguerra, S.A., dan Dewachter L. Myocardial Structural and Biological Anomalies Induced by High Fat Diet in *Psammomys obesus* Gerbils. Cardiac Anomalies in *Psammomys obesus* after High Fat Feeding. (DOI: 10.137/journal.pone.0148117. Februari 3. 2016.
- Sanchez A.F., Santillan E. M., Bautista M., Soto J. E., Gonzales A. M., Chirino C. E., Montiel I. D., Rivera G. S., Vega C. V., and Gonzales J. M. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity, *Int. J. Mol. Sci*, 2011, 12, 3117-3132: doi:10.3390/imjs12053117
- Sartika, R. A. D., Pengaruh asam lemak jenuh, tidak jenuh dan asam lemak trans terhadap kesehatan. *Kesehatan Masyarakat Nasional*, 2(4), 2008, pp. 154-160.
- Schaffer, JE. Fatty acid transport: the roads taken, *AM J Physiol Endocrinol Metab* 282: E239-E246, 1990
- Shah, S., Gnanasegaran G., Cohon J.S., and Buscombe J. R. The heart: Anatomy, physiology and exercise physiology. *Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians: A Guide to Nuclear Medicine Physicians*, 2009, pp. 3-22.
- Siahaan, G., Hubungan Asupan Zat Gizi dengan Triglicerida dan Kadar Glukosa Darah pada Vegetarian. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 2(1), 2015, pp. 48-59.
- Silva, S. B., Sarmiento I. B., Bargut T.C.L., Mello V. S., Aguilla M.B., and Lecarda C.A.M. Animal Models of Nutritional Induction of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int. J. Morphol* 32 (1) : 279-293, (2014)
- Stanfield W.E MD et al. The Pathophysiology of Cardiac Hypertrophy and Heart Failure. *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease*. 2014, pages 51-78
- Sumadi. Ilmu Nutrisi Ternak Babi. Fakultas Peternakan Universitas Udayana Denpasar. 2017
- Tambunan S., Asni E., Malik Z., Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*rattus norvegicus strain wistar*) Jantan Setelah Pemberian Diet Aterogenik Selama 12 Minggu. 2 (1), (2014), pp 1-13.
- Tappy, L. dan Le, K.-A. 2010. Metabolic Effects of Fructose and the Worldwide Increase in Obesity. *Physiological Reviews*, 90(1), hal 23-46. Available at: <http://phsrev.physiology.org/cgi/doi/10.1152/phsrev.00019.2009>
- Weinhaus A. J and Roberts K. P. Anatomy of the Human Heart. *Handbook of Cardiac Anatomy, Physiology, and Devices*, 2005.
- Whitaker R. H., Anatomy of The Heart, 2010, *Medicine* 38:7
- Wina, E dan Susana IWR. Manfaat Lemak Terproteksi Untuk Meningkatkan Produksi Dan Reproduksi Ternak Ruminansia. 23(4), (2013) pp. 176-184.

World Health Organization (WHO). Obesity and Overweight. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/, (2017).

Yandriani R., Karani, Y. Patogenesis Hipertrofi Ventrikel Kiri. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2018; 7.

Zamboni, M., & Mazzali, G. Obesity in the elderly: an emerging health issue. *International Journal of Obesity*, 2012. 36(9), 1151–1152.



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diah Novida Oktaviani

NIM : 155070307111020

Program Studi : 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 pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Januari 2019

Yang membuat pernyataan,

Diah Novida Oktaviani
NIM 155070307111020

Lampiran 2. Surat Keterangan 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. 368 / EC / KEPK / 10 / 2017

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

JUDUL : Perbandingan Penggunaan Diet Tinggi Lemak Tinggi Fruktosa dengan Diet Normal AIN-93M Modifikasi pada Pengembangan Tikus Model Obesitas.

PENELITI UTAMA : Fajar Ari Nugroho, S.Gz., M.Kes

ANGGOTA : Dian Handayani, SKM., M.Kes., PhD
Inggita Kusumastuty, S.Gz., M.Biomed
Adelya Desi Kurniawati, STP., MP., M.Sc
Etik Sulistyowati, S.Gz., M.Kes
Bella Amalia Fabiana
Nabila Prasisti
Adiza Pramesti Indirasari
Sheila Ernita Firdayanti
Alfiani Hidayani

UNIT / LEMBAGA : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

TEMPAT PENELITIAN : Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang.
DINYATAKAN LAIK ETIK.

Malang, 24 OCT 2017
Ketua,

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

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. (0341) 551011 Fax. (0341) 551012
http://www.ub.ac.id

Nomor : 424 /UN10.7/UPT.KEPK/2017
Lampiran : -
Perihal : Penambahan Anggota Penelitian

08 DEC 2017

Yth. Fajar Ari Nugroho, S.Gz.,M.Kes
Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

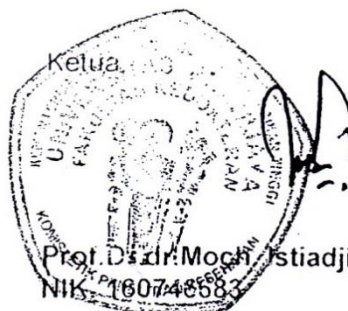
Menanggapi surat Fajar Ari Nugroho, S.Gz.,M.Kes tanggal 3 November 2017 perihal permohonan penambahan anggota kelompok penelitian pada,

- Judul : Perbandingan penggunaan diet tinggi lemak tinggi fruktosa dengan diet normal AIN-93M modifikasi pada pengembangan tikus model obesitas
- Peneliti : Fajar Ari Nugroho, S.Gz.,M.Kes
- No. Ket. Laik Etik : 368 / EC / KEPK/ 10 / 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. Zhizhilia Zulfa Nabila | 7. Erlinda Febriaringsih |
| 2. Shafira Nurmalitasari | 8. Diah Novida Oktaviani |
| 3. Diadjeng Dewita Ayu Hapsari | 9. Dinda Widya Havsari |
| 4. Ilmi Atmimnurona Hedys | 10. Marcellina Magdalena |
| 5. Ihdina Linggar Pujiastuti | 11. Frinny Sembiring |
| 6. Luh Shanti Kuswandani | 12. Ni Kadek Anggita Diah Vitasari |

Demikian, semoga bermanfaat.



Prof. Dr. Ir. Moch Istiadjud ES, SpS, SpBS(K), SH, M.Hum, Dr.H
NIK. 160746583



Lampiran 3. Teknik Randomisasi Sampel

Urutan Pemilihan	Pangkal/Rangking	Perlakuan
1	1	Perlakuan 1
2	2	Perlakuan 1
3	3	Perlakuan 1
4	5	Perlakuan 1
5	4	Perlakuan 1
6	7	Perlakuan 1
7	6	Perlakuan 1
8	9	Perlakuan 1
9	10	Perlakuan 1
10	11	Perlakuan 1
11	8	Perlakuan 1
12	13	Perlakuan 1
13	12	Perlakuan 1
14	15	Perlakuan 1
15	16	Perlakuan 1
16	17	Perlakuan 1
17	14	Perlakuan 1
18	18	Perlakuan 1
19	1	Perlakuan 2
20	2	Perlakuan 2
21	4	Perlakuan 2
22	3	Perlakuan 2
23	6	Perlakuan 2

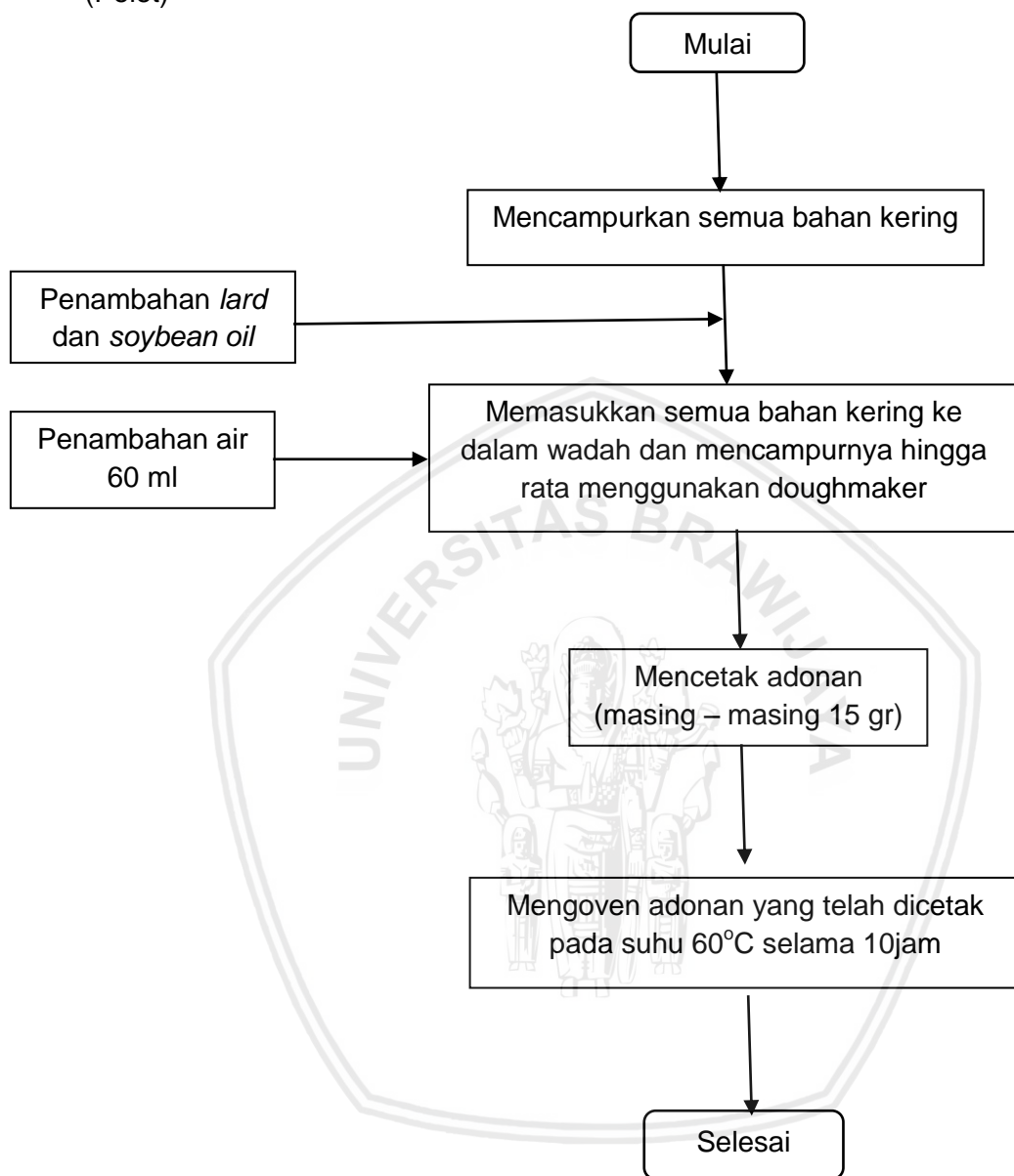
24	7	Perlakuan 2
25	5	Perlakuan 2
26	8	Perlakuan 2
27	9	Perlakuan 2
28	10	Perlakuan 2
29	11	Perlakuan 2
30	13	Perlakuan 2
31	12	Perlakuan 2
32	14	Perlakuan 2
33	15	Perlakuan 2
34	16	Perlakuan 2
35	17	Perlakuan 2
36	18	Perlakuan 2



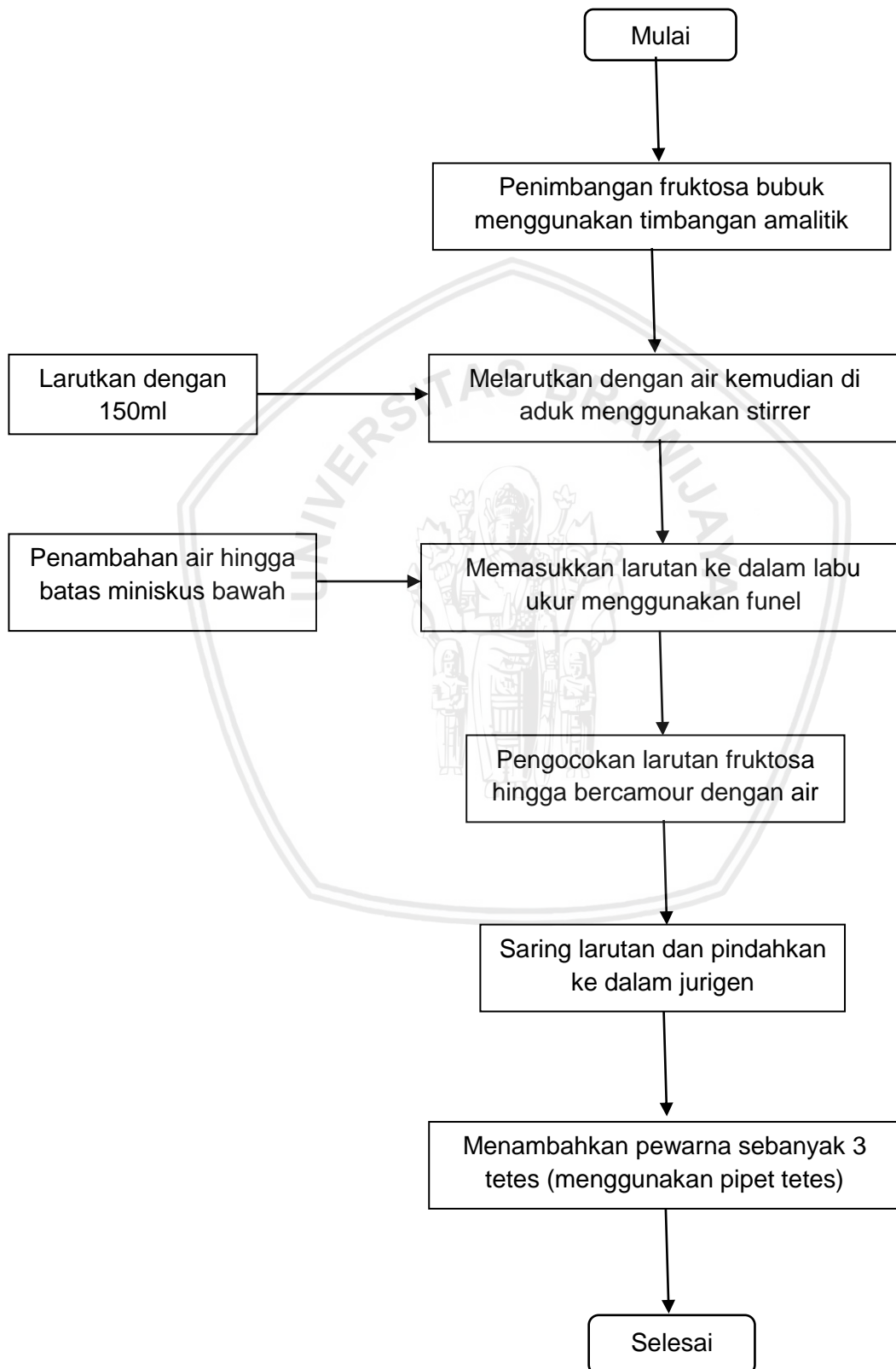
Lampiran 4. Jadwal Penelitian

Bulan	Sept-17				Okt-17				Nov-17				Des-17				Jan-18				Feb-18			
Kegiatan	Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.Persiapan																								
1.1 Pemeriksaan Laboratorium Biosains																								
1.2 Pemeriksaan Ethical clearance																								
1.3 Persiapan hewan coba																								
1.4 Persiapan alat dan bahan pemberian hewan coba																								
1.5 Pemeriksaan Laboratorium Biosains																								
2.Pelaksanaan																								
2.1 Proses pembuatan diet standar AIN-93M																								
2.2 Proses pembuatan diet <i>High Fat High Fructose</i> (HFHF)																								
2.3 Pemberian diet kepada hewan coba untulk proses adaptasi																								
2.4 Pemberian diet kepada hewan sesuai dengan perlakuan																								

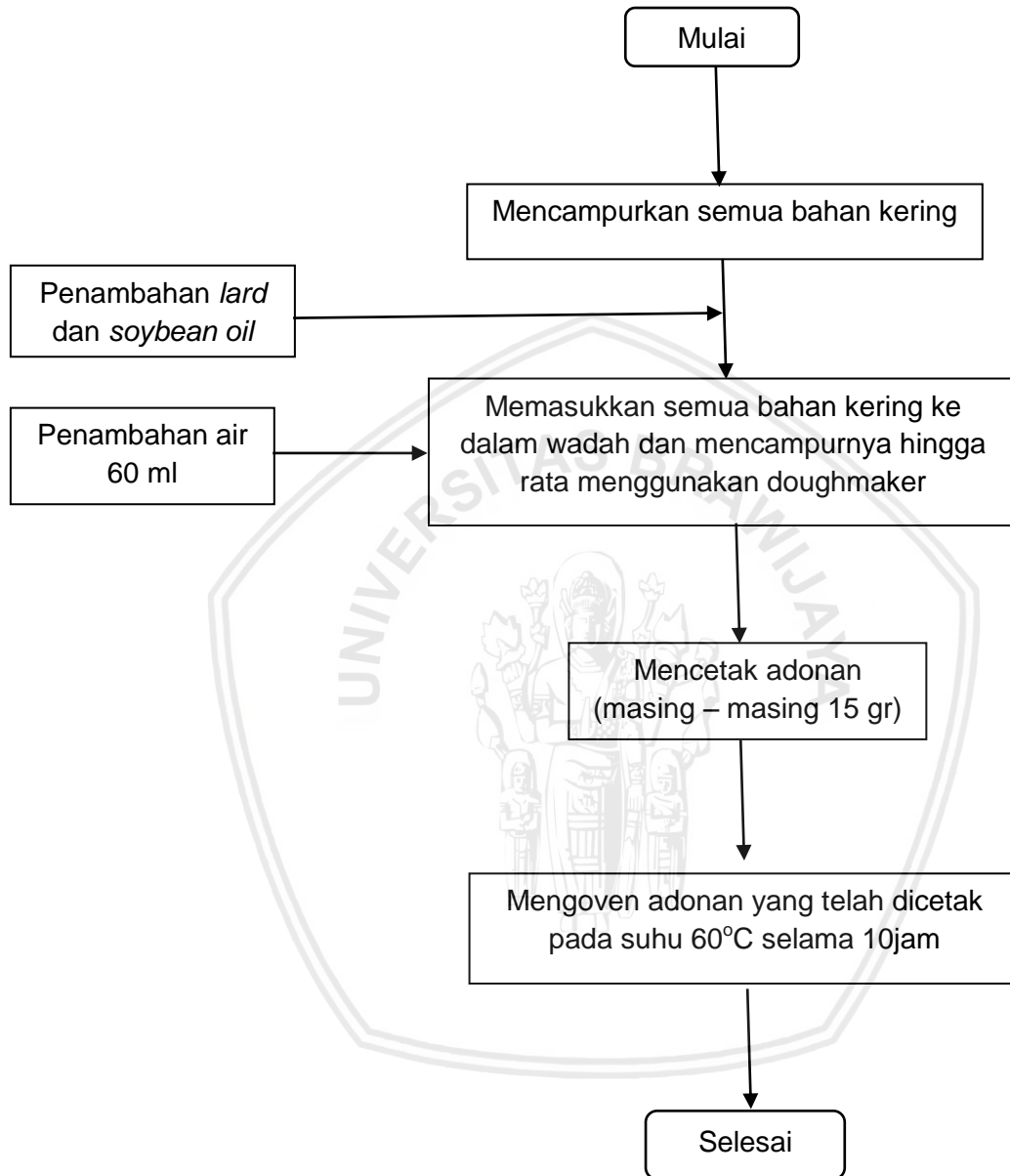
Lampiran 5. Diagram Alir Pembuatan Diet *High Fat Hight Fructose* (HFHF)
(Pelet)



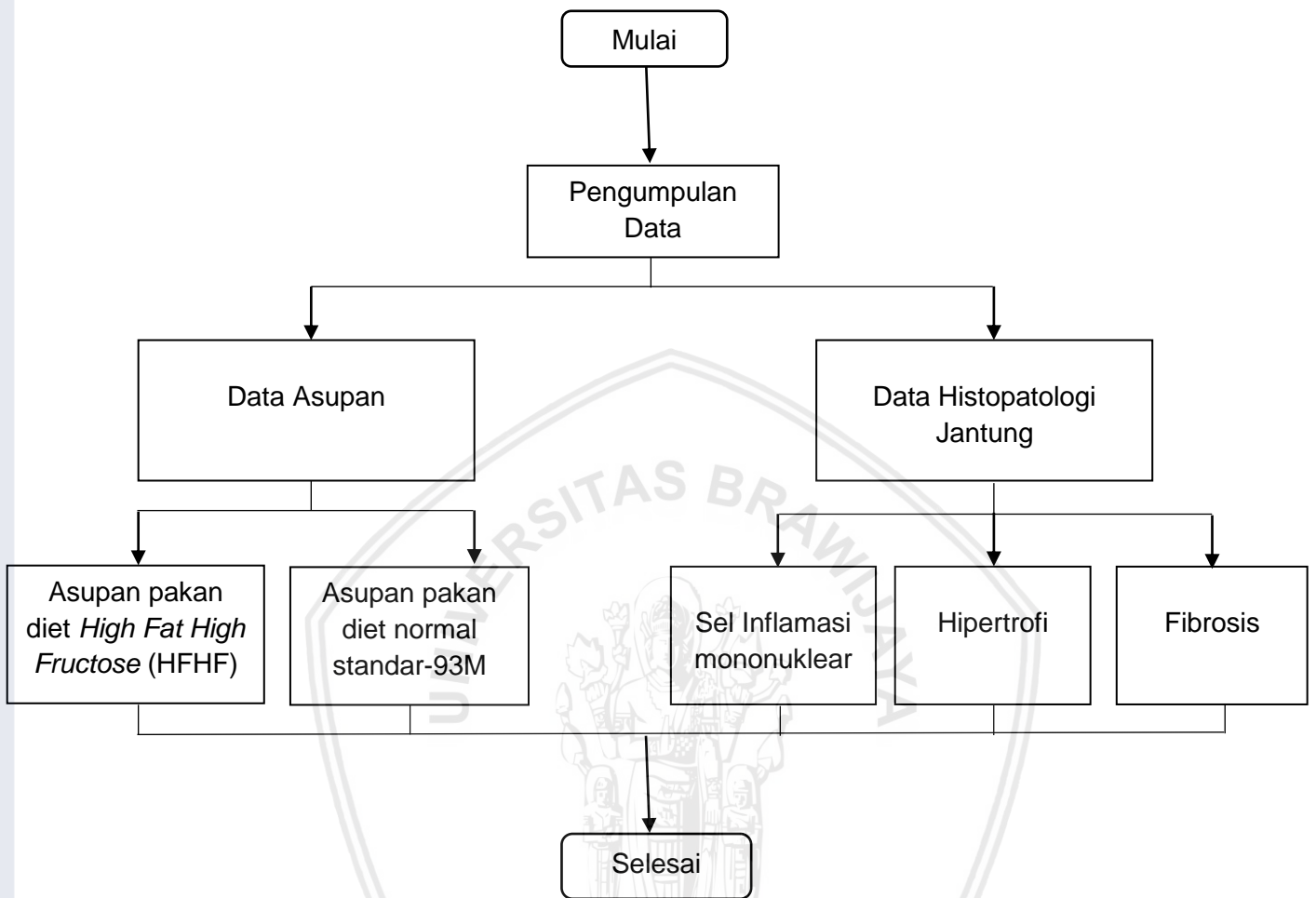
Lampiran 6. Diagram Alir Pembuatan Diet *High Fat High Fructose* (HFHF)
(Cairan)



Lampiran 7. Diagram Alir Pembuatan Diet Normal Standar AIN-93M



Lampiran 8. Pengumpulan Data



Lampiran 9. Data Hasil Penelitian

Data Sel Inflamasi

Kode	Rata-Rata	Kode	Rata-Rata
L.1.1	52	N.1.1	39
L.1.2	55	N.1.2	45
L.1.4	44	N.1.3	45
L.2.1	48	N.2.1	43
L.2.2	42	N.2.2	38
L.2.3	44	N.2.3	36
L.3.1	46	N.3.1	41
L.3.2	49	N.3.2	40
L.3.3	55	N.3.3	34
L.4.1	48	N.4.1	39
L.4.2	41	N.4.2	35
L.4.3	54	N.4.3	44
L.5.1	48	N.5.1	39
L.5.2	57	N.5.2	48
L.5.3	45		

L.5.4	53		
-------	----	--	--

Data Hipertrofi

Kode	Rata-Rata	Kode	Rata-Rata
L.1.1	522,48	N.1.1	507,64
L.1.2	567,69	N.1.2	481,80
L.1.4	511,57	N.1.3	542,89
L.2.1	533,36	N.2.1	565,76
L.2.2	523,81	N.2.2	521,13
L.2.3	506,13	N.2.3	462,49
L.3.1	513,09	N.3.1	480,70
L.3.2	597,68	N.3.2	554,66
L.3.3	541,17	N.3.3	521,58
L.4.1	524,34	N.4.1	454,78
L.4.2	537,25	N.4.2	555,57
L.4.3	542,32	N.4.3	463,69
L.5.1	552,33	N.5.1	481,28
L.5.2	559,93	N.5.2	511,54

L.5.3	542,85		
L.5.4	556,42		



Lampiran 10. Analisa Statistik Rata-Rata Berat Badan Tikus

- Uji Normalitas rata-rata berat badan tikus datang

Tests of Normality

	kode tikus datang	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB saat tikus datang	Normal	.208	16	.062	.896	16	.070
	HFHF	.129	17	.200*	.931	17	.227

a. Lilliefors Significance Correction

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

- Uji *Independent T Test* rata-rata berat badan tikus datang

Group Statistics

	kode tikus datang	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
BB saat tikus datang	Normal	16	244.19	33.078	8.270
	HFHF	17	240.24	30.715	7.450

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
BB saat tikus datang	Equal variances assumed	.003	.954	.356	31	.724	3.952	11.104	-18.696	26.600

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
BB saat tikus datang	Equal variances assumed	.003	.954	.356	31	.724	3.952	11.104	-18.696	26.600
	Equal variances not assumed			.355	30.434	.725	3.952	11.130	-18.765	26.670

- Uji Normalitas badan awal tikus dan akhir tikus

Tests of Normality

kelompok perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB awal tikus	Normal	.119	14	.200*	.929	14	.293
	HFHF	.133	16	.200*	.962	16	.701
BB akhir tikus	Normal	.183	14	.200*	.935	14	.353
	HFHF	.188	16	.135	.932	16	.264

a. Lilliefors Significance Correction

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



- Uji *Independent T Test* Peningkatan berat badan awal tikus dan akhir tikus dan Perubahan berat badan awal tikus dan akhir tikus
- Peningkatan berat badan awal tikus

Statistics^a

N	Valid	14
	Missing	0
Mean		246.107
Std. Deviation		19.1082

a. kelompok perlakuan = Normal

Statistics^a

N	Valid	16
	Missing	0
Mean		245.581
Std. Deviation		22.0585

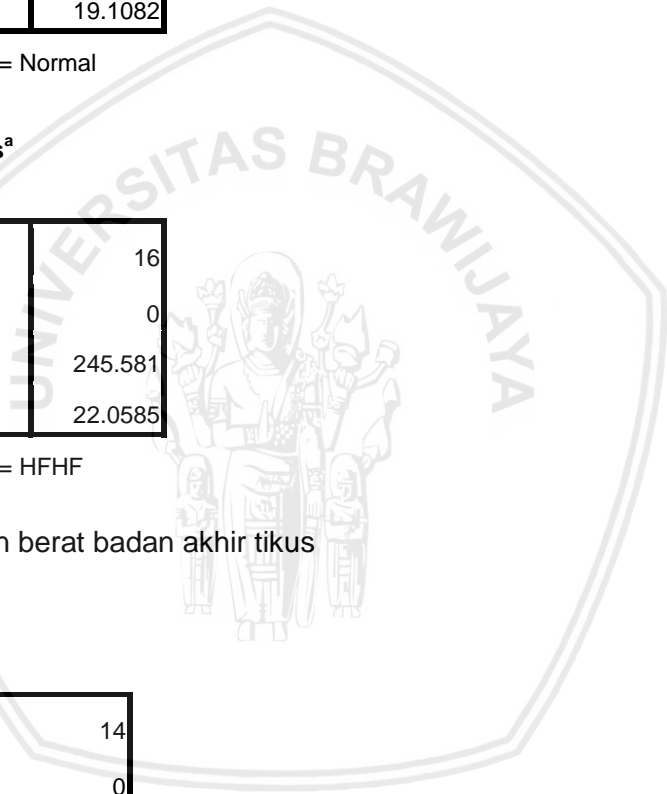
a. kelompok perlakuan = HFHF

- Peningkatan berat badan akhir tikus

Statistics^a

N	Valid	14
	Missing	0
Median		255.5000
Minimum		213.00
Maximum		317.25

a. kelompok perlakuan = Normal



Statistics^a

N	Valid	16
	Missing	0
Median		271.6100
Minimum		215.75
Maximum		351.00

a. kelompok perlakuan = HFHF

- Perubahan berat badan awal tikus dan akhir tikus

Statistics^a

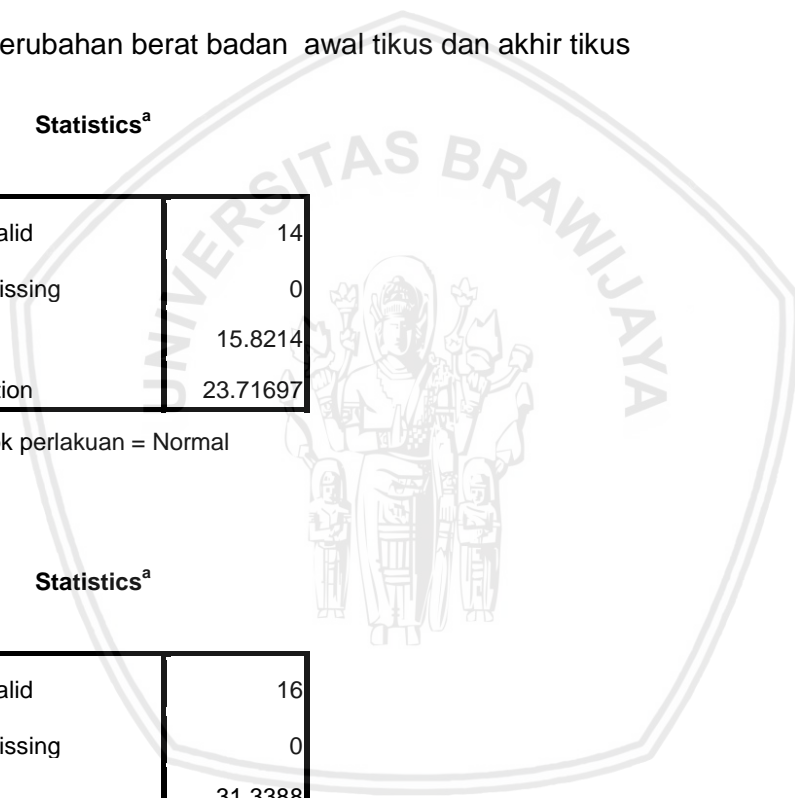
N	Valid	14
	Missing	0
Mean		15.8214
Std. Deviation		23.71697

a. kelompok perlakuan = Normal

Statistics^a

N	Valid	16
	Missing	0
Mean		31.3388
Std. Deviation		26.35901

a. kelompok perlakuan = HFHF



Lampiran 11. Analisa Statistik Asupan Pakan Tikus

- Uji Normalitas asupan pakan tikus

Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
asupan makan	Normal	.134	14	.200*	.960	14	.718
	HFHF	.169	16	.200*	.924	16	.197
asupan energi (kcal)	Normal	.134	14	.200*	.960	14	.716
	HFHF	.168	16	.200*	.924	16	.198
asupan protein (gram)	Normal	.132	14	.200*	.960	14	.717
	HFHF	.168	16	.200*	.923	16	.189
asupan lemak (gram)	Normal	.136	14	.200*	.959	14	.700
	HFHF	.170	16	.200*	.923	16	.190
asupan KH (gram)	Normal	.134	14	.200*	.959	14	.713
	HFHF	.165	16	.200*	.924	16	.199

a. Lilliefors Significance Correction

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

- Uji *Independent T Test* asupan pakan tikus

Group Statistics

	kelompok perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
asupan makan	Normal	14	12.2829	1.68414	.45011
	HFHF	16	6.6644	1.09530	.27382
asupan energi (kcal)	Normal	14	51.7114	7.09164	1.89532
	HFHF	16	33.8531	5.55923	1.38981
asupan protein (gram)	Normal	14	4.0479	.55534	.14842
	HFHF	16	1.8450	.30296	.07574
asupan lemak (gram)	Normal	14	1.4829	.20496	.05478
	HFHF	16	1.9419	.31909	.07977
asupan KH (gram)	Normal	14	5.5429	.75974	.20305
	HFHF	16	2.4869	.40762	.10191

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
asupan makan	Equal variances assumed	4.247	.049	10.967	28	.000	5.61848	.51229	4.56911	6.66786
	Equal variances not assumed			10.664	21.814	.000	5.61848	.52685	4.52531	6.71165
asupan energi (kkal)	Equal variances assumed	2.012	.167	7.725	28	.000	17.85830	2.31182	13.12275	22.59386
	Equal variances not assumed			7.598	24.580	.000	17.85830	2.35028	13.01362	22.70299
asupan protein (gram)	Equal variances assumed	7.026	.013	13.724	28	.000	2.20286	.16051	1.87407	2.53164

	Equal varia nces not assu med			13.220	19. 506	.000	2.20286	.16663	1.85471	2.55101
asupan lemak (gram)	Equal varia nces assu med	.530	.473	-4.609	28	.000	-.45902	.09958	-.66301	-.25503
	Equal varia nces not assu med			-4.744	25. 849	.000	-.45902	.09677	-.65798	-.26005
asupan KH (gram)	Equal varia nces assu med	7.275	.012	13.976	28	.000	3.05598	.21866	2.60808	3.50389
	Equal varia nces not assu med			13.451	19. 312	.000	3.05598	.22719	2.58099	3.53097

- Uji Normalitas asupan pakan tikus

Tests of Normality

	kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
energi total	Normal	.134	14	.200*	.960	14	.716
	HFHF	.157	16	.200*	.946	16	.434
KH total HFHF	Normal	.134	14	.200*	.959	14	.713
	HFHF	.181	16	.171	.960	16	.665

a. Lilliefors Significance Correction

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

- Uji *Independent T Test* asupan pakan tikus

Group Statistics

	kelompok perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
energi total	Normal	14	51.7114	7.09164	1.89532
	HFHF	16	68.7413	6.17531	1.54383
KH total HFHF	Normal	14	5.5429	.75974	.20305
	HFHF	16	11.6681	1.08560	.27140

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
energi total	Equal variances assumed	.896	.352	-7.033	28	.000	17.02982	2.42141	-21.98985	-12.06979



	Equal variances not assumed			-6.967	26.039	.000	-	2.44451	-22.05422	-12.00542
KH total HFHF	Equal variances assumed	2.358	.136	-17.649	28	.000	-6.12527	.34706	-6.83618	-5.41436
	Equal variances not assumed			-18.071	26.802	.000	-6.12527	.33895	-6.82097	-5.42956



Lampiran 12. Analisa Statistik Sel Inflamasi Mononuklear Tikus

- Uji Normalitas sel inflamasi mononuklear tikus

Tests of Normality

kelompok perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
inflmasi	Normal	.135	14	.200*	.966	14	.826
	HFHF	.127	16	.200*	.949	16	.471

a. Lilliefors Significance Correction

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

- Uji *Independent T Test* sel inflamasi mononuklear tikus

Group Statistics

kelompok perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
inflmasi	Normal	14	40.4286	4.12710	1.10301
	HFHF	16	48.8125	5.00957	1.25239

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Differenc e	Std. Error Differenc e	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
inflmasi	Equal variances assumed	.853	.364	-4.958	28	.000	-8.38393	1.69106	-11.84791	-4.91994
	Equal variances not assumed			-5.024	27.915	.000	-8.38393	1.66887	-11.80292	-4.96493

Lampiran 13. Analisa Statistik Hipertrofi Tikus

Independent Samples Test

- Uji Normalitas hipertrofi tikus

Tests of Normality

kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
hipetrofi Normal	.182	14	.200*	.930	14	.301
HFHF	.132	16	.200*	.950	16	.502

a. Lilliefors Significance Correction

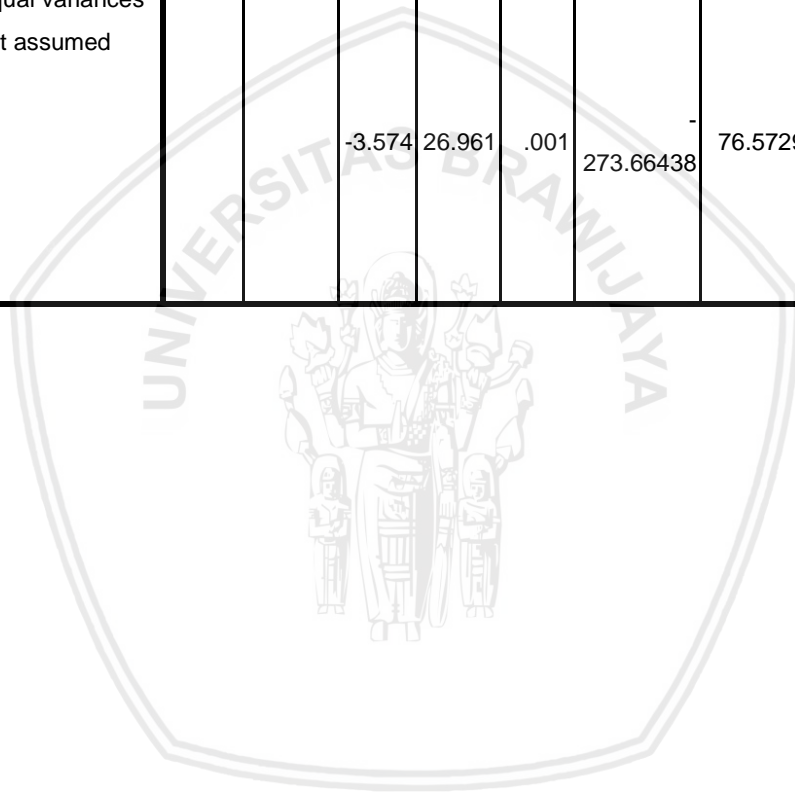
*. This is a lower bound of the true significance.

- Uji *Independent T Test* hipertrofi tikus







Group Statistics

kelompok perlakuan	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
hipetrofi Normal	14	1539.2050	214.82389	57.41410
HFHF	16	1812.8694	202.66391	50.66598

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
hipetrofi	Equal variances assumed	.384	.541	-3.588	28	.001	-273.66438	76.26581	-429.88781	-117.44094
	Equal variances not assumed			-3.574	26.961	.001	-273.66438	76.57297	-430.78980	-116.53895



Lampiran 14. Dokumentasi Penelitian

	
<p>Kandang Tikus</p>	<p>Alat Pemberian Asupan Cairan</p>
	
<p>Alat Penimbangan BB Tikus</p>	<p>Microtome</p>
	
<p>Auto Staining</p>	<p>Inkubator</p>