



**PENGARUH PEMBERIAN DIET HIGH FAT HIGH FRUCTOSE MODIFIKASI
AIN-93M TERHADAP KADAR SERUM TRIGLISERIDA DAN LOW
DENSITY LIPOPROTEIN PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) galur Sprague
dawley JANTAN**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Ilmu Gizi**



Oleh

**Ihdina Linggar Puji Astuti
155070307111017**

**Program Studi Ilmu Gizi
Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya**

**Malang
2019**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

PENGARUH PEMBERIAN DIET *HIGH FAT HIGH FRUCTOSE* MODIFIKASI AIN-93M TERHADAP KADAR SERUM *LOW DENSITY LIPOPROTEIN* DAN TRIGLISERIDA PADA TIKUS (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*

JANTAN

Oleh

Ihdina Linggar Puji Astuti
155070307111017

Telah diuji pada :
Hari : Senin
Tanggal : 14 Januari 2019

Dan dinyatakan lulus oleh
Penguji

Kanthy Permainingsy Tritisari, S.Gz., M.PH
NIP. 2012018511032001

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Inggita Kusumastuty, S.Gz., M.Biomed
NIP. 198204022006042001

Rahma Micho Widiyanto, S.Si, MP.
NIP. 2016078408251001

**ABSTRAK**

Astuti, Ihdina L.P. 2019. **Pengaruh Pemberian Diet *High Fat High Fructose* Modifikasi AIN-93M Terhadap Kadar Serum Trigliserida dan *Low Density Lipoprotein* pada Tikus (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* Jantan.** Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Inggita Kusumastuty, S.Gz., M. Biomed (2) Rahma Micho Widiyanto, S.Si., MP.

Obesitas merupakan suatu kondisi terjadinya penimbunan lemak yang berlebihan terhadap tinggi badan. Komplikasi metabolik yang erat hubungannya dengan kejadian obesitas yaitu meningkatnya kadar VLDL, trigliserida, LDL, serta penurunan kadar HDL. Obesitas yang disertai peningkatan kadar LDL dan kadar TG dapat disebabkan karena tingginya asupan lemak jenuh, kolesterol, serta karbohidrat yang berlebihan dalam jangka waktu lama. Oleh karena itu dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian diet *High Fat High Fructose* modifikasi AIN-93M terhadap kadar TG dan kadar LDL pada tikus *Sprague dawley* jantan. 36 ekor tikus *Sprague dawley* jantan dibagi dua kelompok perlakuan yaitu P1 diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dan P2 diberi diet standar AIN-93M termodifikasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Rata-rata kadar TG pada kelompok P1 = $40,20 \pm 12,42$ dan P2 = $36,50 \pm 11,19$, dengan nilai $p=0,402$ (*independent t-test* $p>0,05$), sedangkan rata-rata kadar LDL pada kelompok P1 = $30,25 \pm 8,29$ dan P2 = $24,74 \pm 8,07$, dengan nilai $p = 0,78$ (*independent t-test* $p>0,05$). Kesimpulannya yaitu kandungan fruktosa pada diet HFHF modifikasi AIN-93M yang diberikan sebesar 30% dan lemak 51,64% tidak dapat menghasilkan perbedaan yang signifikan pada pengujian kadar TG dan LDL tikus.

Kata Kunci : diet standar AIN-93M termodifikasi, diet *High Fat High Fructose* modifikasi AIN-93M, trigliserida, LDL

**ABSTRACT**

Astuti, Ihdina L.P. 2019. **Effect of High Fat High Fructose AIN-93M Modification Diet on Triglyceride and Low Density Lipoprotein in Sprague dawley rat (*Rattus norvegicus*)**. Final Assignment, Nutrition Science Department, Medical Faculty, Brawijaya University, Supervisors: (1) Inggita Kusumastuty, S.Gz., M. Biomed (2) Rahma Micho Widiyanto, S.Si., MP.

Obesity is a condition of excessive fat accumulation in height. Metabolic complications that are closely related to the incidence of obesity are increased levels of VLDL, triglycerides, LDL, and decreased of HDL levels (hyperglycemia). Obesity with an increase in LDL levels and TG levels can be caused by excessive intake of saturated fat, cholesterol, and carbohydrates for a long time. Therefore this study was conducted on the effect of dietary supplementation High Fat High Fructose modified AIN-93M on TG and LDL levels in male Sprague dawley rats. 36 male Sprague dawley rats were divided into two treatment groups, P1 (modified AIN-93M HFHF diet) and P2 (modified AIN-93M standard diet). The results of this study indicate that the average TG level in group P1 = 40.20 ± 12.42 and P2 = 36.50 ± 11.19 , with a value of $p = 0.402$ (independent t-test $p > 0.05$), while the average LDL level in group P1 = 30.25 ± 8.29 and P2 = 24.74 ± 8.07 , with p value = 0.78 (independent t-test $p > 0.05$). The conclusion is fructose content of the modified AIN-93M HFHF diet given by 30% and 51.64% fat did not show a significant difference in the testing of TG levels and did not show a significant difference in the rat LDL levels.

Keywords : *modified AIN-93M standard diet, High Fat High Fructose AIN-93M modified diet, triglycerides, LDL*



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi ﷻ SWT yang telah memberi petunjuk serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tugas akhir dengan judul “Pengaruh Pemberian Pemberian *Diet High Fat High Fructose* (HFHF) Modifikasi AIN-93M Terhadap Kadar Serum *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan Trigliserida (TG) pada Tikus (*Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley*) Jantan.

Proses penulisan proposal tugas akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga, pengalaman yang dapat menjadi bekal penulis untuk menjadi seorang yang terus memperbaiki diri. Dengan tersusunnya tugas akhir ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Sri Andarini, M. Kes, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Dian Handayani, S.K.M., M.Kes., Ph.D., Ketua Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Jurusan Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan memberi kesempatan penulis untuk bergabung dalam penelitian payungnya.
3. Inggita Kusumastuty, S.Gz., M.Biomed sebagai pembimbing pertama yang telah memberikan bantuan dan dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini.



4. Rahma Micho Widyanto, S.Si., MP. sebagai pembimbing kedua yang telah memberikan bantuan, selalu memudahkan, dan dengan sabar membimbing untuk bisa menulis dengan baik dan senantiasa memberi semangat, nasehat, dan ilmu yang berharga sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini.
5. Kanthi Permaningtyas Tritisari, S.Gz, MPH, sebagai penguji dalam sidang tugas akhir saya sekaligus pernah menjadi dosen pembimbing akademik terbaik yang selalu memberikan support terbaiknya dengan nasihat-nasihat beliau yang menguatkan saya di awal perkuliahan gizi.
6. Yang tercinta Ibunda Siti Marfuah, ayahanda Bapak Jumadi, adik Nabila Karunia Hasna Dewi, dan adik Alima Zahra Khairunnisa atas curahan kasih doa, kasih sayang, perhatian, dan semangatnya yang selalu diberikan serta menjadi tempat terbaik untuk kembali pulang.
7. Teman – teman Tim Penelitian Tikus (*Sprague Dawley*) Jantan, yang selalu kebersamai berjuang bersama dalam penelitian ini.
8. Alfiani Hidayanti, sahabat sekaligus saudara, menjadi support system terbaik dalam suka dan duka yang menyemangati dari perjalanan hijrah hingga penelitian ini. Jazakillah khair Alfi.
9. Sahabat bidadari syurga Dina Dwi Puryani, Regita Puspaningasri, Iftitakhurrahmah, Falya Ayu Anandea, yang menemani sedari hari pertama di Malang saat menjadi mahasiswa baru hingga sekarang dan nanti, dan sahabat yang lainnya yang selalu menguatkan, mencurahkan motivasi, semangat, dan doanya.



10. The Best Team Lomba Goes to KL saya Rizhaf Setyo Hartono, Fahmi Alfareza, A'ang Muammar Zein, dan Amilaton Mardiyah yang telah memberikan pengalaman luar biasa dan selalu memberikan semangat, dukungan dan doa untuk penulis, terimakasih atas kerjasamanya.

11. Sahabat-sahabat saya dari Salatiga dan pejuang 3spoons.co Pratiwi Ivanny Amalia, Fitriana Luffiningsih, dan Tamia Dwi Martha yang selalu menguatkan, mencurahkan motivasi, semangat, dan doanya.

12. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih jauh dari kata sempurna, karena kesempurnaan hanya milik الله, dan segala kekurangan dalam tulisan ini murni dari penullis, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala bentuk saran dan kritik yang membangun untuk kebaikan penulis dalam penulisan Tugas Akhir.

Akhirnya dengan izin Allah SWT, Tugas Akhir ini dapat direalisasikan dan semoga dapat memberi manfaat bagi kita semua.

Malang, 10 Januari 2019

Ihdina Linggar Puji Astuti

**DAFTAR ISI**

JUDUL	i	Halaman
HALAMAN PERSETUJUAN	ii	
ABSTRAK	iii	
KATA PENGANTAR	v	
DAFTAR ISI	viii	
DAFTAR GAMBAR	xii	
DAFTAR TABEL	xiii	
DAFTAR LAMPIRAN	xiv	
DAFTAR SINGKATAN	xv	
BAB 1 PENDAHULUAN		
1.1 Latar Belakang	1	
1.2 Rumusan Masalah	4	
1.3 Tujuan Penelitian	4	
1.3.1 Tujuan Umum	4	
1.3.2 Tujuan Khusus	4	
1.4 Manfaat Penelitian	5	
1.4.1 Manfaat Akademik	5	
1.4.2 Manfaat Praktis	5	
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA		
2.1 Obesitas	7	
2.1.1 Pengertian Obesitas	7	
2.1.2 Patofisiologi Obesitas	8	
2.1.3 Penyebab Obesitas	12	
2.1.4 Dampak Obesitas	15	
2.2 Trigliserida (TG)	18	
2.3 Low Density Lipoprotein (LDL)	20	
2.4 Penelitian	22	



2.5 Animal Model Research (Hewan Percobaan)	23
2.5.1 Tikus sebagai Hewan Coba	25
2.6 Pengembangan Penelitian Diet Standar pada Hewan Coba	28
2.6.1 Diet Standar AIN-93 M	29
2.6.2 Diet HFHF (<i>High Fat High Fructose</i>)	31
2.7 Hubungan Diet HFHF terhadap Obesitas dan Perubahan Profil Lipid	33
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	36
3.2 Penjelasan Kerangka Konsep	37
3.3 Hipotesa Penelitian	38
BAB 4. METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian	39
4.2 Populasi dan Sampel	39
4.2.1 Besaran Sampel	39
4.2.2 Prosedur Pengambilan sampel	40
4.3 Variabel Penelitian	40
4.3.1 Variabel Bebas	41
4.3.2 Variabel Tergantung	41
4.3.3 Variabel Kendali	42
4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian	42
4.4.1 Lokasi Penelitian	42
4.4.2 Waktu Penelitian	42
4.5 Alat dan Bahan Penelitian	43
4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus	43
4.5.2 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Pakan Diet Standar AIN-93M	43
4.5.3 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Pakan High Fat High Fructose (HFHF) Modifikasi Standar AIN-93M	43
4.5.4 Alat dan Bahan Euthanasia Tikus	44
4.5.5 Alat dan Bahan Pengambilan Darah	45



4.5.6	Alat dan Bahan untuk Pengukuran Trigliserida	45
4.5.7	Alat dan Bahan untuk Pengukuran LDL	45
4.5.8	Alat untuk Sanitasi dan Higienisasi	46
4.6	Definisi Operasional	46
4.7	Prosedur Penelitian	49
4.7.1	Langkah-langkah dalam Melakukan Penelitian	49
4.7.2	Persiapan Hewan Coba	50
4.7.3	Pembuatan Diet HFHF Modifikasi AIN-39M	50
4.7.4	Pembuatan Diet Standar AIN	50
4.7.5	Pembuatan Minuman Tinggi Fruktosa	51
4.7.6	Pemberian diet HFHF dan Diet Standar AIN-93M	51
4.7.7	Pengumpulan Data	51
4.7.8	Pengamulan Sampel Darah dan Pembuatan Serum	52
4.7.9	Perhitungan Kadar LDL	53
4.7.10	Uji Trigliserida dengan Menggunakan GPO-PAP	54
4.8	Analisis Data	55

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1	Karakteristik Tikus Percobaan	56
5.2	Gambaran Diet pada Tikus Percobaan	57
5.3	Asupan Diet dan Zat Gizi pada Tikus Percobaan	57
5.4	Perubahan Berat Badan dan Berat Badan Akhir Tikus	60
5.5	Perbedaan Kadar Trigliserida pada Tikus Percobaan	62
5.6	Perbedaan Kadar LDL pada Tikus Percobaan	63

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1	Karakteristik Tikus Percobaan	64
6.2	Pengaruh Diet Terhadap Berat Badan Tikus	68
6.3	Pengaruh Diet Terhadap Kadar Trigliserida Tikus	70
6.4	Pengaruh Diet Terhadap Kadar LDL Tikus	73
6.5	Keterbatasan Penelitian	77



BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan 78

7.2 Saran 79

REFERENSI / DAFTAR PUSTAKA 80

Lampiran 92



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Regulasi Keseimbangan Energi 9

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep Penelitian 36

Gambar 4.1 Bagan Alur Penelitian 49

Gambar 4.2 Bagan Pengambilan Sampel Darah 53

Gambar 5.1 Bagan Reaksi Pembentukan Quinonimin 54

Gambar 5.2 Rata-rata Jumlah Asupan (gram) per Minggu 59

Gambar 5.3 Rata-rata Berat Badan Hewan Coba per Minggu 61



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Klasifikasi Obesitas.....	8
Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Trigliserida dalam Darah	19
Tabel 2.3 Klasifikasi Kadar LDL dalam Darah	22
Tabel 2.4 Formulasi Diet Standar AIN-93M Termodifikasi.....	29
Tabel 2.5 Formulasi Diet Mineral Mix (AIN-93M-MIX)	30
Tabel 2.6 Formulasi Vitamin Mix (AIN-93M-VX).....	30
Tabel 2.7 Formulasi <i>High Fat</i> Diet Modifikasi AIN-93M.....	32
Tabel 4.1 Bahan Diet Standar AIN-93M.....	43
Tabel 4.2 Bahan Diet <i>High Fat High Fructose</i> (HFHF) Modifikasi Standar AIN-93M	44
Tabel 4.3 Pengukuran Kadar Trigliserida.....	54
Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Percobaan.....	56
Tabel 5.2 Komposisi Zat Gizi Diet per 100 Gram Pakan.....	57
Tabel 5.3 Rata-rata asupan \pm SD Pakan dan Zat Gizi Tikus	58
Tabel 5.4 Rata-rata Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Tikus (gram)..	60
Tabel 5.5 Rata-rata Kadar Trigliserida (TG) dalam Mean \pm SD.....	62
Tabel 5.6 Rata-rata Kadar LDL dalam Mean \pm SD.....	63



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan..... 92

Lampiran 2. Surat Kelayakan Etik..... 93

Lampiran 3. Teknik Randomisasi Sampel..... 95

Lampiran 4. Hasil Analisis Laboratorium Kadar TG dan LDL..... 96

Lampiran 5. Diagram Alir Pembuatan Diet HFHF (pakan)..... 97

Lampiran 6. Diagram Alir Pembuatan Diet HFHF (*Fructose*)..... 98

Lampiran 7. Diagram Alir Pembuatan Diet STANDAR AIN-93M termodifikasi..... 99

Lampiran 8. Diagram Alir Pemberian Diet HFHF dan Diet Standar
AIN-93M Termodifikasi..... 100

Lampiran 9. Hasil Analisa SPSS..... 101

Lampiran 10. Dokumentasi..... 114



DAFTAR SINGKATAN

FFA	: <i>Free fatty acid</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
TG	: <i>Trigliserida</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
LPL	: <i>Lipoprotein Lipase</i>
CCK	: <i>Coleisistokinin</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
GLUT-4	: <i>Glucose transporter 4</i>
HFHF	: <i>High Fat High Fructose</i>
NPY	: <i>Neuropeptida Y</i>
PYY	: <i>Peptida YY</i>
POMC	: <i>Pro-opiomelanocortin</i>
GLP 1	: <i>Glucagon Like Peptide</i>
NEFA	: <i>Non Esterified Fatty Acid</i>
RISKESDAS RI	: <i>Riset Kesehatan Dasar Republik Indonesia</i>
WHO	: <i>World Health Organisation</i>
SD	: <i>Sprague dawley</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
CVD	: <i>Cardiovascular Disease</i>



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Menurut World Health Organisation (WHO) pada tahun 2013 prevalensi kelebihan berat badan di dunia pada penduduk usia dewasa mencapai lebih dari 1,4 milyar dengan 500 juta jiwa diantaranya mengalami obesitas (WHO, 2013). Obesitas menjadi masalah global baik di negara maju maupun berkembang seperti di Indonesia. Menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS), pada tahun 2013, prevalensi obesitas penduduk laki-laki dewasa (>18 tahun) sebanyak 19,7%, lebih tinggi dari tahun 2007 (13,9%) dan tahun 2010 (7,8%). Prevalensi penduduk perempuan dewasa obesitas pada tahun 2013 yaitu sebanyak 32,9%, lebih tinggi dari tahun 2007 (13,9%) dan tahun 2010 (15,5%). Jumlah tersebut menjadikan Indonesia menjadi negara dengan peringkat ke-10 penderita obesitas sedunia (Marie *et al.* 2014). Prevalensi obesitas diperkirakan meningkat sejalan dengan usia, peningkatan populasi, urbanisasi, perubahan ekonomi, diet, dan gaya hidup. Prevalensi obesitas penduduk dunia diperkirakan akan terus meningkat menjadi 44-45% (\pm 1,12 milyar jiwa) pada tahun 2030 mendatang (Shayo & Mugusi, 2011; Kelly *et al.* 2008).



Obesitas adalah suatu kondisi terjadinya penimbunan lemak yang berlebihan terhadap tinggi badan (Barasi, 2007). Komplikasi metabolik yang erat hubungannya dengan obesitas yaitu meningkatnya (*Very Low Density Lipoprotein*) VLDL, trigliserida, (*Low Density Lipoprotein*) LDL, serta penurunan kadar (*High Density Lipoprotein*) HDL, dan perlemakan hati *non-alcoholic*. Ada beberapa proses metabolisme lemak yang terlibat dalam pengambilan, pengangkutan dan penyimpanan lipid dalam jaringan. Peningkatan LDL diatur dalam metabolisme jalur endogen sedangkan trigliserida diatur dalam jalur eksogen (Bjornson *et al.* 2017).

Kadar trigliserida darah dipengaruhi oleh aktivitas enzim LPL (*Lipoprotein Lipase*) yang berfungsi untuk menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Aktivitas enzim LPL yang rendah dapat meningkatkan kadar trigliserida dalam darah. Tingginya kadar trigliserida dalam lipoprotein lipid ini dapat meningkatkan kadar *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) yang mengakibatkan kondisi hipertriasilgliserolemia dan aterosklerosis (Murray, R., *et al.* 2016). Efek hiperlipidemia lebih lanjut yaitu dapat menyebabkan kecenderungan terjadinya penyakit jantung, hipertensi, diabetes mellitus, dan sindroma metabolik (Murray, R., *et al.* 2016). Pada penelitian Algayed *et al.*, (2017) prevalensi dyslipidemia pada pendesita obesitas mencapai 55,6% hingga 77% dimana jumlah paling banyak adalah hipertrigliseridemia. Dislipidemia pada obesitas memiliki dampak yang berbahaya pada tubuh manusia.

Obesitas yang disertai peningkatan serum LDL dan kadar TG dapat disebabkan karena tingginya asupan lemak jenuh dan kolesterol yang berlebihan dalam jangka waktu yang lama. Kombinasi antara diet tinggi lemak dan tinggi



karbohidrat terutama fruktosa (diet *High Fat High Fructose*) berkontribusi terhadap peningkatan akumulasi lemak pada jaringan. Asupan lemak dinilai sebagai salah satu penyebab utama obesitas. Lemak merupakan makronutrien yang padat energi, sehingga peningkatan asupan lemak dapat dengan mudah meningkatkan asupan energi. Diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan simpanan lemak diet di dalam jaringan lemak, hal ini menunjukkan bahwa konsumsi makanan berlemak tinggi dapat memicu obesitas. Selain asupan lemak, konsumsi fruktosa pada jumlah yang tinggi menyebabkan kelebihan kalori sehingga meningkatkan berat badan dengan hasil akhir obesitas.

Diet *High Fat High Fructose* merupakan modifikasi dari diet standar yang digunakan untuk menginduksi hewan coba model metabolik sindrom (Hazarika, *et al.* 2017). Diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa atau yang disebut *High Fat High Fructose Diet* tidak hanya menyebabkan obesitas pada manusia tetapi juga pada hewan. Oleh karena itu sering digunakan hewan coba sebagai salah satu upaya pendekatan dalam sebuah penelitian untuk menangani obesitas. Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini bertujuan untuk melihat ada tidaknya efek samping dari intervensi yang diberikan, sebelum selanjutnya dilakukan intervensi kepada manusia. Hewan coba yang sering digunakan untuk penelitian kesehatan di Indonesia adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) karena tikus memiliki sistem kerja tubuh yang menyerupai manusia. Standar diet dalam menginduksi hewan coba model obesitas mengacu pada standar diet AIN-93M (Duffy *et al.*, 2002).

Penggunaan diet AIN-93M dipilih karena AIN merupakan acuan pakan hewan coba yang berstandar internasional, sehingga sesuai dengan tujuan penelitian yang



mengembangkan suatu formulasi pakan modifikasi untuk membuat model tikus obesitas. Banyak penelitian kesehatan mengenai obesitas dengan model hewan coba. Namun, di Indonesia penelitian mengenai pengembangan hewan coba model obesitas dengan diet *High Fat High Fructose* modifikasi AIN-93M belum ada, oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M terhadap kadar LDL dan TG pada tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah diet HFHF modifikasi AIN-93M berpengaruh terhadap kadar LDL dan TG pada tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian diet HFHF modifikasi AIN-93M terhadap kadar *trigliserida* (TG) dan kadar *low density lipoprotein* (LDL) serum pada tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengukur asupan rata-rata tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan diet standar AIN-93M termodifikasi.
- 2) Mengukur dan menganalisis perbedaan kadar *trigliserida* (TG) pada *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet standar AIN-93M termodifikasi.



3) Mengukur dan menganalisis perbedaan kadar serum *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dan diet standar AIN-93M termodifikasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Penelitian ini dapat menambah pengetahuan, wawasan, dan pengalaman peneliti terkait penerapan ilmu gizi khususnya pada diet HFHF yang berhubungan dengan kejadian obesitas.

2. Memberikan informasi mengenai perbedaan kadar TG dan LDL serum pada tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan diet standar AIN-93M termodifikasi untuk dijadikan alternatif dalam penelitian yang bertujuan meningkatkan kadar TG dan LDL.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi diet yang dapat digunakan dalam pembuatan tikus model obesitas dengan parameter khususnya TG dan serum LDL dengan diet HFHF yang sudah teruji untuk mendukung keberhasilan dan mengurangi bias penelitian lain terkait penelitian yang menggunakan metode menginduksi tikus dalam keadaan obesitas.

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan di bidang gizi bahwa kebiasaan konsumsi makanan tinggi lemak dan tinggi



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obesitas

2.1.1 Definisi Obesitas

Menurut World Health Organization (WHO) (2015), menjelaskan bahwa secara umum obesitas merupakan suatu kondisi abnormal yang ditandai dengan peningkatan lemak tubuh yang berlebihan yang ditimbun pada jaringan subkutan, sekitar organ, dan tidak jarang terinfiltrasi ke dalam organ. Akumulasi lemak tubuh yang berlebihan tersebut dapat mengakibatkan berbagai gangguan kesehatan. Indra (2006) mengemukakan obesitas adalah kondisi yang ditandai dengan dengan gangguan keseimbangan energi tubuh, yaitu ketidakseimbangan energi positif atau dikenal positif *energy balance* yang akhirnya kelebihan energi tersebut disimpan dalam bentuk timbunan triasilgliserol di jaringan lemak.

Obesitas juga didefinisikan berdasarkan indeks massa tubuh (BMI) yang dihitung dari pembagian antara berat badan dalam kilogram dibagi dengan tinggi badan dalam meter kuadrat (Pozza dan Issidori, 2018). WHO 1998 mendefinisikan obesitas sebagai kondisi BMI >30 untuk laki-laki dan >28,6 untuk perempuan. Definisi tersebut kemudian dikembangkan pada tahun 2015 dengan BMI > 25 untuk berat badan lebih atau *overweight* dan BMI > 30 sebagai obesitas. Klasifikasi obesitas dapat dilihat dalam **tabel 2.1** berikut :

**Tabel 2.1 Klasifikasi Obesitas (World Health Organisation, 2015)**

Klasifikasi	Kategori BMI (Body Mass Index)
< 18,5	Underweight
18,5 - 24,9	Normal Weight
25,0 - 29,9	Overweight
>30	Obesitas
30,0 - 34,9	Obesitas I
35,0 - 39,9	Obesitas II
>40,0	Obesitas III

2.1.2 Patofisiologi Obesitas

Obesitas terjadi karena adanya kelebihan energi yang disimpan dalam jaringan lemak. Gangguan keseimbangan energi ini dapat disebabkan oleh faktor eksogen (obesitas primer) sebagai akibat nutrisi (90%) dan faktor endogen (obesitas sekunder) akibat adanya kelainan hormonal, sindrom atau kelainan genetik bawaan (meliputi 10%). Patofisiologi obesitas melibatkan beberapa hormon yang meregulasinya termasuk hormon dalam saluran pencernaan di usus, adipokin, dan lainnya. Hormon utama yang diketahui bertindak sebagai hormon *orexigenic* atau hormon yang bertanggung jawab untuk merangsang rasa lapar dan nafsu makan adalah ghrelin, seperti yang tampak pada **gambar 2.1** berikut : (Mozaffarian D., dan Ludwig DS. 2015; de Souza RJ, 2012).

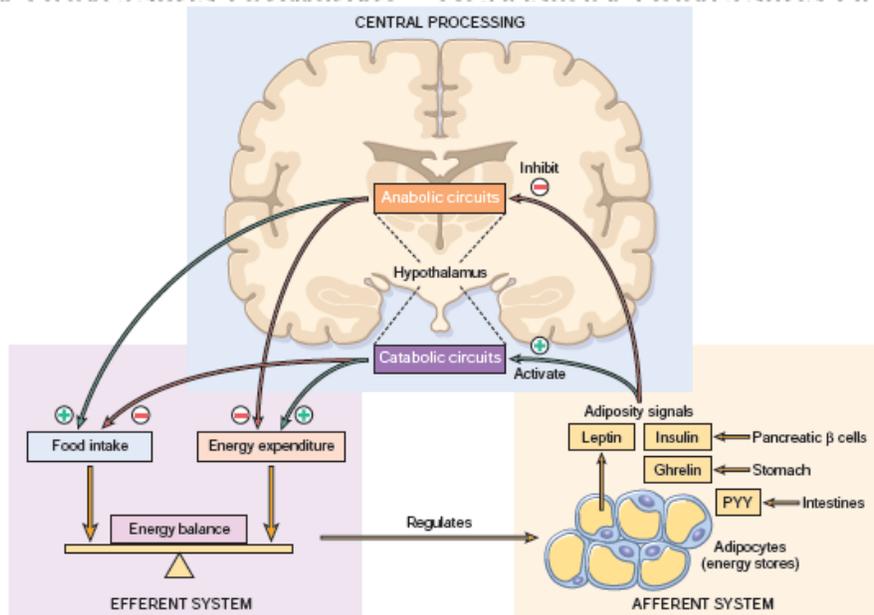


Figure 9-30 Regulation of energy balance. Adipose tissues generate afferent signals that influence the activity of the hypothalamus, which is the central regulator of appetite and satiety. These signals decrease food intake by inhibiting anabolic circuits, and enhance energy expenditure through the activation of catabolic circuits. PYY, Peptide YY. See text for details.

Gambar 2.1 Pengaturan keseimbangan energi (Abbas, A.K. et al., 2015)

Mekanisme pengaturan keseimbangan energi dapat dijelaskan sebagai berikut. Keseimbangan energi diregulasi oleh hipotalamus melalui proses fisiologis, yaitu pengendalian rasa lapar dan kenyang, dimana mekanisme tersebut mempengaruhi laju pengeluaran energi dan regulasi pengeluaran hormon. Proses dalam pengaturan penyimpanan energi ini terjadi melalui impuls sinyal eferen yang berpusat di hipotalamus setelah mendapatkan sinyal aferen dari perifer yaitu jaringan adiposa, usus dan otot. Sinyal-sinyal tersebut bersifat anabolik karena meningkatkan rasa lapar serta menurunkan pengeluaran energi dan dapat pula bersifat katabolik yang menyebabkan anoreksia dan meningkatkan pengeluaran energi. Sinyal pengaturan penyimpanan energi dibagi menjadi 2 kategori, yaitu sinyal pendek dan sinyal panjang. Sinyal pendek yaitu mempengaruhi porsi makan waktu makan, dan pengosongan lambung yang diperankan oleh hormon



pencernaan kolesistokinin (CCK) sebagai hormon yang menstimulasi peningkatan rasa lapar. Sinyal panjang diperankan oleh derivatif lemak yaitu hormon leptin dan insulin yang bertugas mengatur penyimpanan energi dan keseimbangan energi (Abbas, Abul K. *et al.*, 2015 ; Barasi, 2007). Apabila asupan energi melebihi dari yang dibutuhkan, maka jaringan adiposa akan meningkat disertai dengan peningkatan kadar leptin dalam darah. Leptin kemudian merangsang pusat *anorexigenic* di hipotalamus agar menurunkan produksi *Neuro Peptide Y* (NPY), sehingga asupan makan dapat dibatasi. Sebaliknya apabila pengeluaran energi lebih besar dari asupan energi, maka terjadi pemecahan jaringan adiposa dan terjadi rangsangan pada *orexigenic center* di hipotalamus yang menyebabkan nafsu makan meningkat (Schwartz MW., *et al.* 2017).

Sebagian besar penderita obesitas terjadi resistensi leptin, sehingga kadar leptin yang tinggi dalam sirkulasi darah tidak dapat menurunkan nafsu makan. Pengontrolan nafsu makan dan tingkat rasa kenyang seseorang diatur oleh mekanisme neural dan humoral (neurohumoral) yang dipengaruhi oleh genetik, nutrisi, lingkungan, dan sinyal psikologis. Mekanisme ini dirangsang oleh respon metabolik yang berpusat di hipotalamus. Mekanisme neurohumoral tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut. Ghrelin merupakan hormon peptide yang disekresi oleh sel endokrin lambung dan memberi sinyal rasa lapar, ketika mencapai nukleus di hipotalamus, hormon ini merangsang pelepasan *neuropeptide Y* (NPY) yang dapat mendorong rasa nafsu makan. Ketika makan, saluran cerna akan menghasilkan sejumlah hormon yaitu CCK (kolesistokinin), *peptide YY* (PYY 3-36) dan *peptide* serupa glukagon (*glucagon-like peptide*, GLP 1) (Suzuki, K., *et al.* 2010). Hormon-



hormon ini bekerja secara lokal maupun sentral untuk menghambat sekresi ghrelin, memperlambat pengosongan lambung, dan merangsang neuron penekan rasa lapar di hipotalamus. Efek berbagai hormon tersebut dimodulasi oleh insulin dan leptin. Insulin mulai disekresi oleh pankreas dalam beberapa menit setelah mulai makan dan memperkuat efek mengenyangkan dari hormon CCK. Selain itu, insulin turut berperan dalam sekresi leptin dari jaringan adiposa (Barasi, 2007).

Fungsi normal insulin secara keseluruhan ialah hormon anabolik yang bekerja di sejumlah jaringan untuk memacu penyimpanan nutrisi atau mencegah terjadinya katabolisme. Kadar insulin normalnya meningkat setelah makan seiring dengan kenaikan kadar glukosa dan menurun pada keadaan setelah makan, ketika zat metabolit yang tersimpan digunakan untuk energi. Kondisi yang terjadi pada orang obesitas adalah terjadi penekanan respon insulin atau disebut resistensi insulin (Jornayvaz, F.R. et al., 2011). Proses pengaturan energi tidak selamanya berjalan normal pada kondisi kelebihan berat badan tingkat berat. Adanya sel lemak yang terlalu berlebihan menyebabkan leptin dan insulin tidak dapat bekerja dengan baik dan tidak dapat menghasilkan efek normal pada penurunan berat badan (Barasi, 2007 ; Wiardani dalam Hardinsyah dan Supariasa, 2017).

Resistensi insulin menyebabkan penghambatan lipolisis cadangan lemak sehingga meningkatkan jumlah asam lemak tidak teresterifikasi (*non esterified fatty acid* NEFA) yang dilepaskan ke dalam sirkulasi (Jornayvaz FR et al.2011). Hal ini berdampak negatif pada daerah *visceral* karena NEFA cepat masuk ke dalam hati melalui vena porta dan menyebabkan obesitas sentral. NEFA menstimulasi sintesis trigliserida di hati dan melepaskan lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL) ke



dalam sirkulasi. Peningkatan VLDL menyebabkan pertukaran trigliserida dengan lipoprotein berdensitas tinggi (HDL) dan lipoprotein berdensitas rendah (LDL) untuk bisa menerima ester kolesterol, sehingga menghasilkan butiran HDL yang kecil dan padat. HDL yang kaya akan TG dirombak oleh lipase hati mengakibatkan penurunan kadar HDL dalam sirkulasi darah. Selain itu pembersihan kilomikron dan VLDL dari sirkulasi juga berkurang akibat rendahnya aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) yang bergantung pada insulin. Akibatnya proses normal pengangkutan balik kolesterol (*reverse cholesterol transport*) berkurang dan kadar kolesterol dalam sirkulasi dapat meningkat. Lemak yang beredar dalam darah akhirnya ditimbun di jaringan, sehingga menyebabkan perubahan patologis. Penimbunan dapat terjadi pada jaringan adipose, hepatosit, dan otot rangka (Barasi, 2007).

2.1.3 Penyebab Obesitas

Berat badan berlebih dan obesitas disebabkan karena berbagai faktor yang berkontribusi terhadap asupan energi dan keluaran energi. Faktor tersebut meliputi ketersediaan pangan, kuantitas dan kualitas makanan, diet dan aktivitas fisik, genetik, dan kondisi psikologis yang akan merespon mekanisme neurohormonal dan memicu respon metabolik melalui stimulasi pusat yang terletak di hipotalamus (Abbas, Abul K. *et al*, 2015). Penjabaran berbagai faktor yang berpengaruh terhadap asupan energi diantaranya yaitu ;

a. Ketersediaan Pangan

Jumlah dan sifat bahan makanan yang tersedia bagi masyarakat saat ini telah banyak mengalami perubahan selama beberapa dekade ini. Perubahan tersebut meliputi : banyaknya pilihan jenis makanan tinggi energi yang menimbulkan



keinginan untuk makan, kemudahan untuk mengakses makanan dengan teknologi yang tersedia seperti aplikasi pemesanan makanan, banyaknya restoran cepat saji dengan fasilitas *drive thru* yang memudahkan masyarakat memesan makanan, hal-hal tersebut berkontribusi terhadap asupan energi harian. (Wright, M. dan Louis J., 2012).

b. Kuantitas dan Kualitas Makanan

Peningkatan prevalensi obesitas yang terjadi pada masyarakat mengisyaratkan bahwa asupan energi masih melebihi pengeluaran energi.

Peningkatan konsumsi makanan olahan yang mudah dikonsumsi atau cepat saji (*fast food*) berdensitas energi tinggi menyebabkan overkonsumsi energi. Ukuran porsi yang lebih besar yang telah menjadi hal yang biasa pada masyarakat tanpa disadari juga meningkatkan asupan makanan. Selain itu, jumlah makanan yang dikonsumsi masyarakat di luar rumah telah meningkat untuk memenuhi tuntutan ekonomi dan perubahan gaya hidup serba cepat saat ini sehingga dampaknya kualitas dan kuantitas makanan yang dihasilkan industri makanan berpengaruh terhadap kecenderungan terjadinya obesitas (Rolls BJ, 2003).

c. Genetik

Obesitas adalah penyakit yang bergantung pada interaksi antara berbagai faktor, tidak murni karena dasar genetik saja meskipun genetik memiliki peranan penting dalam kerentanan terjadinya obesitas. Terjadinya kelainan gen tunggal yang menyebabkan obesitas monogenik ini mengendalikan jalur leptin/melanocortin di sistem syaraf pusat sebagai pusat homeostasis pengaturan energi di seluruh tubuh



sehingga berakibat peningkatan nafsu makan dan berkurangnya rasa kenyang (Herrera and Cecillia, 2010)

d. Diet dan Aktivitas Fisik

Kemajuan di bidang teknologi dan informasi memajukan masyarakat dengan berbagai fasilitas yang mengurangi aktivitas fisiknya dalam melaksanakan kegiatan.

Selain itu juga terjadi perubahan dari kebiasaan makan secara teratur menjadi pola makan yang kurang terstruktur dan lebih menyukai konsumsi camilan, produk makanan siap saji, minuman ringan ketimbang makan sampai kenyang dengan selang waktu yang lebih panjang. Makanan yang dikonsumsi cenderung tinggi akan lemak dan karbohidrat dengan indeks glikemik tinggi dan rendah kandungan mikonutrient. Akibat kebiasaan ini, mekanisme pengendalian nafsu makan menjadi kurang efektif (Dwyer-Lindgren, *et al.*2013). Hal tersebut diperparah dengan aktivitas fisik yang kurang gerak (*sedentary activities*). Jika aktivitas fisik sangat rendah maka akan menyebabkan terjadinya keseimbangan energi positif, kelebihan asupan energi dari makanan dan penyimpanan cadangan lemak tubuh yang berlebihan (Bowen, 2015).

e. Psikologi

Perilaku dan keyakinan seseorang berdampak besar terhadap asupan makanan. Pada setiap individu asupan makanan dapat dipengaruhi oleh : kondisi mood dan mental, kepribadian, citra diri serta persepsi bentuk tubuh yang dipengaruhi oleh budaya, sikap terhadap makanan dalam konteks sosial, faktor eksternal seperti pengaruh sesama anggota kelompok, iklan, dan media (Barasi, 2007 ; Bray, 2014).



2.1.4 Dampak Obesitas

Telah dikenal secara luas bahwa terdapat keterkaitan antara obesitas dengan berbagai *non communicable disease* dan gangguan kesehatan (Landsberg, et al., 2013), dampak obesitas bagi kesehatan diantaranya yaitu:

a. Diabetes Melitus

Peningkatan risiko diabetes tipe 2 berbanding lurus dengan peningkatan BMI di atas 25 kg / m² jika dibandingkan dengan BMI normal 22 kg / m². Risiko diabetes tipe 2 meningkat 2 hingga 8 kali lipat pada BMI 25, 10 sampai 40 kali lipat pada BMI > 30, dan lebih dari 40 kali lipat pada BMI >35, tergantung pada usia, jenis kelamin, sebaran penumpukan lemak dan etnisnya (Hu et. al, 2001). Kelebihan berat badan merupakan faktor risiko utama terjadinya abnormalitas pada regulasi homeostasis glukosa dan diabetes tipe 2. Penelitian terbaru telah mengidentifikasi keterkaitan antara obesitas dan diabetes tipe 2 yang melibatkan sitokin proinflamasi (tumor necrosis factor dan interleukin-6), resistensi insulin, gangguan metabolisme asam lemak, dan proses seluler, seperti disfungsi mitokondria dan *endoplasmic stres reticulum* (Bano, 2013). Disfungsi mitokondria dapat menghubungkan obesitas dengan diabetes, karena menurunkan sensitivitas insulin dan dengan menurunkan fungsi sel beta (Bournat J.C. dan Brown C.W., 2010). Tetapi terdapat bukti yang menunjukkan bahwa pengurangan berat badan secara bertahap dapat meningkatkan kontrol glikemik dan mengurangi risiko diabetes (Deng Y. dan Scherer P.E., 2010).



b. Penyakit Kardiovaskular (CVD)

Obesitas merupakan faktor risiko utama CVD, dan data secara konsisten menunjukkan peningkatan insidensi penyakit jantung seiring dengan meningkatnya IMT tubuh. Salah satu mekanismenya yaitu disebabkan karena adanya peningkatan sekresi hormon aldosterone yang dimediasi kadar leptin, VLDL, dan sitokin IL-6 yang meningkat pada penderita obesitas (Faulkner, *et al.*, 2017). Hal ini menyebabkan disregulasi renin-angiotensin-aldosterone, *endothelial dysfunction*, *cardiac fibrosis* dan hipertensi (Huby AC, *et al.*, 2015).

Disfungsi endothel pada lumen arteri disebabkan karena penumpukan endapan lemak dan substansi lain seperti timbunan trombosit, neutrophil, monosit, dan makrofag. Hal ini menyebabkan terjadinya penebalan lemak di dalam dan di bawah dinding arteri yang dapat terjadi juga pada pembuluh arteri koroner sehingga mengarah pada keadaan aterosklerosis (Silalahi, 2006). Adanya cedera pada sel endothel tersebut mengawali keadaan disfungsi endothel lumen arteri (Corwin, 2008).

Lapisan endothel memiliki fungsi untuk menjaga keseimbangan vasodilatasi dan vasokonstriksi, inhibisi dan stimulasi, proliferasi dan migrasi sel otot polos, serta antara *thrombogenesis* dan fibrinolisis (Immanuel dan Tjiptaningrum, 2010).

Hiperkolesterolemia merupakan salah satu penyebab terjadinya disfungsi sel endothel (Murray *et al.*, 2016). Kadar LDL yang tinggi akan memudahkan LDL menjadi teroksidasi (OxLDL). LDL yang teroksidasi dan lipid peroksida yang terbentuk akan merusak sel endothel pembuluh darah, sehingga dapat menurunkan produksi *Endothelium Derived Relaxing Factor* (EDRF) yaitu *nitric oxide* (NO) yang



berperan sangat penting dalam mempertahankan tonus pembuluh darah khususnya pada proses relaksasi pembuluh darah (Sitia *et al*, 2010).

Low Density Lipoprotein (LDL) yang telah teroksidasi akan difagosit oleh sel makrofag yang diekspresikan oleh Nuclear Factor kappa B (NF- κ B) di dalam lapisan subendothel pembuluh darah dan selanjutnya akan berubah menjadi sel busa yang dapat menyebabkan sekresi sitokin proinflamasi serta menginduksi terjadinya apoptosis sel (Hansson, 2005 ; Osman *et al*, 2006). *Lectin like oxidized LDL receptor 1* (LOX-1) merupakan salah satu scavenger reseptor OxLDL pada sel endothel pembuluh darah, yang secara aktif berkontribusi terhadap terbentuknya semua tahap aterosclerosis. LOX-1 akan memediasi uptake OxLDL ke dalam tunika intima sehingga terjadi disfungsi sel endothel yang menyebabkan fase awal aterosclerosis (Mitra *et al*, 2011).

Dampak dari disfungsi endothel yaitu terjadinya peningkatan permeabilitas sel endothel terhadap asam lemak, kolesterol, dan trigliserida, sehingga zat tersebut dapat masuk ke dalam pembuluh arteri terutama ke dalam tunika intima. Hal tersebut menyebabkan terjadi oksidasi asam lemak yang mengeluarkan zat sisa berupa oksigen radikal bebas yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah (Crowin, 2008).

c. Hipertensi

Ada beberapa mekanisme yang menjelaskan eratnya hubungan antara obesitas dengan hipertensi, yang meliputi: bertambahnya volume darah sebagai akibat peningkatan retensi garam; hal ini disebabkan oleh efek antinatriuretik dari kenaikan level insulin pada penderita obesitas (Bravo, *et al*, 2006), perubahan kadar



hormon yang mempengaruhi regulasi tekanan darah; seperti produksi hormon kortisol karena jaringan adiposa yang meningkat, serta leptin dan angiotensinogen yang dilepaskan dari jaringan adiposa menimbulkan efek hipertensi secara langsung (Nguyen dan David, 2012).

d. Kanker

Studi epidemiologis telah melaporkan bahwa terdapat peningkatan risiko kanker pada individu dengan diabetes tipe 2 dan obesitas, terkait dengan kondisi hiperinsulinemia dan resistensi insulin (Clayton, et al. 2011). Perubahan metabolik dalam respon terhadap insulin pada kondisi obesitas menyebabkan reseptor untuk *insulin-like growth factor* (IGF) mengalami upregulasi atau peningkatan jumlah reseptor sehingga sel menjadi lebih reaktif terhadap IGF, hal tersebut memacu pertumbuhan sel terutama sel tumor yang menggunakan glukosa untuk pertumbuhannya (Pollak, 2012). Obesitas juga dikaitkan dengan peningkatan risiko terjadinya kanker payudara, hal ini karena pada kanker payudara merupakan kanker yang erat kaitannya dengan hormon seperti pada kanker prostat. perkembangannya dipacu akibat konversi hormon androgen menjadi estrogen di jaringan adipose (Abbas, Abul K. et al., 2015)

2.2 Trigliserida (TG)

Trigliserida merupakan senyawa yang terdiri atas tiga molekul asam lemak yang teresterifikasi menjadi gliserol dan merupakan bentuk simpanan lemak yang biasa pada manusia (Dorland, 2015). Darah membawa trigliserida ke seluruh tubuh untuk digunakan sebagai sumber energi atau disimpan dalam jaringan adiposa. Apabila sel membutuhkan energi, enzim lipoprotein lipase dalam sel lemak akan



memecah trigliserida menjadi gliserol dan asam lemak bebas dan melepaskannya ke dalam sirkulasi darah (Sloane, 2016). Menurut Soehardi (2004), sumber trigliserida tidak hanya berasal dari makanan yang tinggi lemak (asam lemak jenuh dan tidak jenuh), tetapi juga berasal dari bahan makanan yang mengandung karbohidrat (terutama karbohidrat sederhana).

Kadar trigliserida yang tinggi dapat berbahaya bagi kesehatan tubuh karena dapat menyebabkan hiperkolesterolemia. Kadar trigliserida baiknya tidak melebihi dari 150 mg/dl (NIH, 2001). Klasifikasi kadar trigliserida dapat dilihat dalam **tabel 2.2:**

Tabel 2.2 Klasifikasi Kadar Trigliserida dalam Darah (NIH, 2001)

Kadar Trigliserida	Keterangan
< 150 mg/dl	Normal
150-199 mg/dl	Batas normal tertinggi
200-499 mg/dl	Tinggi
>500 mg/dl	Sangat Tinggi

Trigliserida harus dihidrolisis menjadi asam lemak dan monoasilgliserol sebelum dapat diabsorpsi dalam saluran pencernaan (Skeaff dan Murray dalam Mann dan Stewart, 2015) Mekanisme absorpsi trigliserida dari makanan yaitu, senyawa trigliserida dalam makanan dicerna diemulsikan oleh enzim lipoprotein lipase yang dihasilkan pankreas dan selanjutnya kembali diesterifikasi oleh cairan mukosa usus halus (Mann dan Stewart, 2015). Selama proses absorpsi lemak, trigliserida yang ada dalam epitel usus halus akan disekresikan ke organ limfa dalam bentuk kilomikron. Bentuk inilah lemak akan ditransfer ke jaringan-jaringan di seluruh tubuh (Azain, 2004). Butiran kilomikron yang membawa trigliserida tersebut masuk



ke dalam darah melalui sistem limfatik. Kilomikron memiliki ukuran sel dengan diameter 0.1-1 μ m dan tersusun atas trigliserida sebagai komponen utama serta beberapa jenis kolesterol dan lipoprotein (Murray, *et. al.*, 2016).

Guyton, (2007) menjelaskan penyimpanan lemak dalam tubuh yang dikenal sebagai proses lipogenesis (deposisi lemak) terjadi akibat masukan energi melebihi energi yang dikeluarkan. Proses lipogenesis yang mendeposisikan lemak di dalam tubuh dalam bentuk trigliserida merupakan hasil sintesa dari asam lemak dan gliserol yang dibantu oleh hormon insulin. Trigliserida juga merupakan komponen lipida yang berperan dalam proses metabolisme lemak di dalam tubuh. Kadar trigliserida yang ada di dalam darah dipengaruhi oleh kadar lemak yang dicerna dari sumber makanan atau banyaknya asupan lemak yang masuk dari luar tubuh (Soehardi, 2004).

2.3 *Low Density Lipoprotein (LDL)*

LDL merupakan lipoprotein berdensitas rendah sebagai produk akhir metabolisme VLDL dan lipidnya yang terdiri dari ester kolesterol dan kolesterol. LDL membawa sekitar 70% dari semua kolesterol dalam plasma darah. LDL diambil oleh hati dan jaringan lainnya melalui reseptor LDL (Dorland, 2015). *Low density lipoprotein* terbentuk dari hasil penguraian dari lipoprotein berdensitas antara atau *intermediate density lipoprotein (IDL)* yang memiliki ukuran diameter 20-25 nm serta densitas 1,019-1,063 g/mL. Dalam LDL terdapat juga trigliserida dan fosfolipid dengan kadar yang lebih rendah. Apolipoprotein utama LDL adalah apolipoprotein B yang juga ditemukan pada VLDL dan kilomikron. Ada beberapa peran dari apolipoprotein, salah satunya adalah sebagai penghubung untuk interaksi dengan



reseptor lipoprotein dalam jaringan. Permukaan LDL hanya memiliki satu tipe apolipoprotein yaitu apo B100 (Mayes, 2003).

Pada manusia LDL berfungsi membawa kolesterol dari hati ke seluruh tubuh masuk ke dalam sel. LDL dibentuk melalui metabolisme lemak jalur endogen. Pada manusia LDL mengandung hampir 50% kolesterol dan membawa 60-70% kolesterol plasma yang disimpan dalam jaringan lemak dan otot polos. Kadar LDL yang tinggi di dalam darah erat hubungannya dengan tingginya insiden penyakit jantung koroner (Sloane, 2016). Berbeda dengan plasma lipid pada manusia, pada tikus transporter terbesar kolesterol adalah HDL sehingga kadar HDL akan cenderung lebih tinggi dibandingkan kadar LDL. Selain itu, tikus lebih resisten mengalami peningkatan LDL, tetapi dengan diberikan diet tinggi lemak akan dapat meningkatkan kadarnya (Pellizzon, 2008).

Mengonsumsi makanan sumber kolesterol atau lemak jenuh secara berlebihan dapat meningkatkan kadar LDL (National Institute of Health, 2005). Normalnya jumlah kolesterol yang terkandung dalam LDL yaitu dua sampai tiga kali lipat dari jumlah kolesterol yang terikat dalam bentuk HDL. Oleh sebab itu kadar LDL dalam darah menjadi indikator yang lebih baik untuk menandakan risiko tinggi penyakit jantung koroner dibandingkan dengan indikator kadar kolesterol dalam darah. Kadar normal LDL pada manusia yaitu $<130\text{mg/dl}$ atau $3,4\ \mu\text{mol/L}$ (Silalahi, 2006), sedangkan kadar normal LDL pada tikus yaitu $7,0 - 27,2\ \text{mg/dl}$ (Herwiyarirasanta *et. al.*, 2010). Klasifikasi kadar LDL dalam darah dapat dilihat dalam **tabel 2.3** berikut:



Tabel 2.3 Klasifikasi Kadar LDL dalam Darah (National Institute of Health, 2001)

Kadar LDL	Keterangan
< 100 mg/dl	Optimal
100-129 mg/dl	Mendekati optimal
130-159 mg/dl	Batas normal tertinggi
160-189 mg/dl	Tinggi
≥190	Sangat Tinggi

2.4 Penelitian

Penelitian pada dasarnya adalah kegiatan atau upaya untuk memahami dan memecahkan masalah secara ilmiah, sistematis, dan logis. Kata ilmiah dalam konteks ini dimaknai sebagai kebenaran pengetahuan yang didasari pada fakta empiris yang dikumpulkan melalui penyelidikan atau observasi secara hati-hati dan bersifat objektif. Kebenaran pengetahuan tersebut diperoleh bukan dari ide atau dugaan subjektif, tetapi berdasarkan fakta empiris. Penelitian ilmiah memerlukan tahapan sistematis dan mengacu pada aturan tertentu serta logis sesuai dengan penalaran (Rachmat, 2017). Hasil yang didapatkan merupakan kesimpulan yang aplikatif dan menjadi tambahan pengetahuan bagi kemajuan ilmu pengetahuan (Ridwan, 2013).

Penelitian kesehatan terdiri dari penelitian biomedik, epidemiologi, sosial, serta perilaku. Sebagian penelitian kesehatan dapat dilakukan dengan cara memakai model matematik, atau simulasi komputer. Jika hasil penelitian akan dimanfaatkan untuk manusia maka diperlukan penelitian lanjutan menggunakan bahan hidup seperti sel atau jaringan. Dalam mengamati, mempelajari, dan menyimpulkan seluruh kejadian pada makhluk hidup secara utuh maka diperlukan model hewan coba karena hewan coba memiliki nilai pada setiap bagian organ tubuh dan memiliki



interaksi keterkaitan pada tiap organ dan system organ. Sampai saat ini penelitian kesehatan masih dilakukan dengan memanfaatkan hewan percobaan (Komisi Nasional Etik Penelitian Kesehatan Departemen Kesehatan RI, 2006).

2.5 *Animal Model Research* (Hewan Percobaan)

Hewan percobaan adalah hewan yang digunakan pada sebuah penelitian biologis dan biomedis yang telah dipilih berdasarkan syarat serta standar dasar yang diperlukan dalam penelitian tersebut (Ridwan, 2013). Manusia menggunakan hewan dalam berbagai keperluan, termasuk dalam penelitian. Hewan juga dapat digunakan untuk mempelajari lebih lanjut tentang makhluk hidup dan tentang penyakit serta gangguan kesehatan pada makhluk hidup. Dengan mempelajari dengan hewan coba, peneliti dapat memperoleh informasi yang tidak bisa dipelajari dengan cara lain. Pengembangan obat baru atau teknik bedah medis tidak akan etis untuk mencobakan obat atau teknik pertama langsung kepada manusia, karena kemungkinan hal tersebut dapat berdampak buruk. Sebaliknya, zat baru dalam obat dapat diujikan pada hewan coba untuk memastikan bahwa obat tersebut aman dan efektif. Penggunaan hewan juga dapat digunakan sebagai model eksperimental yang akan mustahil jika dicobakan pada subjek manusia, karena hewan dapat diberi makanan diet yang identik dan dijawasi secara ketat (Isselbacher et al, 1991).

Beberapa hewan memiliki kesamaan fisiologis dengan manusia yang memungkinkan untuk dijadikan model dalam menggambarkan suatu penyakit tertentu yang biasanya menyerang manusia. Hewan juga sangat diperlukan dalam penelitian bidang bioteknologi untuk mengembangkan, menguji, dan membuat produk seperti antibodi monoklonal (Isselbacher et al, 1991). Secara khusus, hewan



yang baik untuk digunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian adalah mamalia, karena mamalia merupakan hewan yang paling mirip struktur dan fungsi fisiologisnya dengan manusia daripada hewan non-mamalia (Kleinert *et. al*, 2018).

Ada beberapa alasan mengapa hewan coba tetap dibutuhkan dalam penelitian di bidang kesehatan, pangan, dan gizi yaitu karena keragaman dari subjek penelitian dapat diminimalisir, variabel penelitian mudah dikontrol, daur hidup relatif lebih pendek sehingga dapat dilakukan penelitian multigenerasi, pemilihan hewan coba dapat disesuaikan dengan tingkat kepekaan hewan terhadap materi penelitian yang dilakukan, biaya relatif murah, dapat dilakukan pada penelitian kesehatan yang berisiko tinggi, peneliti dapat membuat sediaan preparat dari organ hewan yang digunakan sehingga informasi yang didapatkan lebih mendalam, dan dapat digunakan untuk uji keamanan diagnostik, dan toksisitas (Rustiawan, 1990 ; European Comission, 2010).

Penelitian yang memanfaatkan hewan coba harus menggunakan hewan yang sehat dan berstandar sesuai dengan tujuan dari penelitian yang dilakukan. Hewan tersebut dipelihara dan dikembangkan secara khusus dalam lingkungan yang dikontrol secara ketat. Hal ini bertujuan untuk mendapatkan hewan coba yang sifat *genotipe*, *fenotipe*, dan *dramatipe* (efek lingkungan terhadap *fenotipe*) yang konstan, karena penelitian harus memiliki *reproducible*, yaitu memberikan hasil yang sama apabila dilakukan penelitian ulang pada lain waktu atau oleh peneliti lain.

Penggunaan hewan yang berkualitas dapat menghindarkan dari pemborosan waktu dan biaya (Ridwan, 2013).



Hewan yang dapat digunakan yaitu hewan invertebrata dan hewan vertebrata. Hewan vertebrata digunakan untuk penelitian dalam bidang biologi dan kedokteran serta penelitian translasi, sedangkan hewan invertebrata biasanya digunakan dalam penelitian bidang *neurobiology*. Hewan vertebrata yang dapat digunakan dibagi menjadi dua kelompok yaitu hewan besar seperti babi, anjing, dan monyet, serta hewan kecil seperti mencit, tikus, dan kelinci (Kleinert *et. al*, 2018). Pemilihan spesies untuk penelitian harus mempertimbangkan tujuan, kendala yang mungkin dihadapi dalam penggunaan hewan coba, biaya, dan relevansi data yang diperoleh dalam penggunaan klinis (Chow *et. al*, 2007).

2.5.1 Tikus sebagai Hewan Coba

Hewan kecil seperti mencit dan tikus lebih disukai banyak penelitian eksperimental karena memiliki siklus hidup yang pendek, harga yang relatif murah, dan pemeliharaan yang mudah karena tidak membutuhkan ruang yang luas (Chow *et. al*, 2007). Rekayasa untuk tujuan menyesuaikan hewan coba dengan keadaan penyakit yang akan diteliti dapat dilakukan dengan mudah pada kedua jenis hewan tersebut. Selain itu tikus merupakan hewan percobaan yang secara biologis dan fisiologis struktur organnya hampir sama dengan manusia (American Association for Laboratory Animal Science, 2003). Keuntungan lain dari penggunaan tikus yaitu mudah diperoleh dalam jumlah banyak, memiliki respon klinis yang cepat terhadap intervensi yang dilakukan, memberikan gambaran ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia (Sihombing dan Sulistyowati, 2011), dan mudah diawasi dari segi asupan pakan serta aktivitas fisik daripada manusia sehingga dapat memperkecil bias yang mungkin terjadi dalam penelitian (Chow *et. al*, 2007). Penelitian di laboratorium



hewan percobaan saat ini menggunakan strain tikus *Wistar*, *SpragueDawley*, *Osborne-Mendel*, *Long-Evans*, *Holtzman*, *Slonaker*, *Albany*. Namun, diantara galur tersebut strain *Wistar* dan *Sprague dawley* merupakan tikus yang paling populer digunakan untuk eksperimen di Indonesia (Krinke, 2000).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) atau disebut juga disebut juga tikus norwegia merupakan salah satu hewan yang populer digunakan dalam percobaan eksperimental laboratorium. Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut (Sharp & Villano, 2013).

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Myomorpha
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>
Galur	: <i>Sprague dawley</i>

Tikus memiliki sifat yang berbeda dari hewan percobaan lain yaitu tikus tidak dapat muntah. Hal tersebut karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esofagus bermuara ke dalam lambung dan tidak mempunyai kantong empedu (Smith & Mangkoewidjojo, 1998). Tikus putih memiliki sifat yang menguntungkan sebagai hewan percobaan penelitian di antaranya yaitu perkembangbiakan yang cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dari mencit, serta mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih



(*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley*. Tikus *Sprague dawley* memiliki karakteristik morfologis seperti warna albino, ukuran kepala lebih kecil, dan ekor lebih panjang dari badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, dan cukup tahan terhadap perlakuan. Biasanya pada umur empat minggu tikus putih mencapai berat badan antara 35-40 gram, dan berat dewasanya yaitu rata-rata 200-250 gram (Janvier Labs, 2017). Selain itu, tikus *Sprague dawley* merupakan jenis tikus yang digunakan secara luas untuk pengembangan penelitian sebagai model kondisi penyakit manusia diabetes mellitus, obesitas, kanker, dan penyakit kardiovaskuler (Brower *et.al.*, 2015). Penelitian ini menggunakan tikus *Sprague dawley* jenis kelamin jantan bertujuan agar sampel bersifat homogen dan terhindar dari faktor hormonal yang dapat memengaruhi hasil penelitian seperti pada tikus betina karena antara kelamin jantan dan betina juga memiliki respon yang berbeda terhadap induksi kolesterol. Pada tikus dengan kelamin betina memiliki hormon estrogen yang berpengaruh terhadap metabolisme lemak, sedangkan pada tikus dengan kelamin jantan tidak memiliki hormon estrogen (Kram *et al.* 2001). Hormon estrogen memiliki sifat hipolipidemik sehingga dapat menurunkan kadar kolesterol dan LDL (Sloane, 2016)

Pemilihan usia hewan coba memiliki pengaruh yang penting dalam penelitian, karena kadar kolesterol pada tikus akan meningkat pada usia 6 minggu, kemudian akan menurun dalam beberapa minggu. Kadar serum kolesterol mencapai kadar minimum ketika tikus berusia 12 minggu. Oleh karena itu digunakan tikus *Sprague dawley* dengan usia 12 minggu (Wibowo, 2009).



2.6 Pengembangan Penelitian Diet Standar pada Hewan Coba

Diet pada hewan coba merupakan diet yang diberikan pada hewan percobaan secara homogen yang digunakan agar penelitian tidak bias dan dapat memberikan efek serta kondisi sesuai dengan variabel penelitian yang diukur (Reeves *et al*, 1993). Diet yang diberikan pada tikus harus mengandung zat gizi yang tepat serta terstandarisasi sesuai dengan kondisi dan kebutuhan tikus untuk proses pemeliharannya (National Research Council, 1978). Diet standar adalah diet yang telah mengalami proses standarisasi. *American Institute of Nutrition* (AIN) merupakan instansi internasional yang mengurus proses standarisasi diet untuk hewan percobaan. Di tahun 1977 dan 1980 AIN mengembangkan komposisi diet AIN-76A untuk hewan percobaan yang diformulasikan untuk berbagai macam penelitian mengenai gizi. Namun, seiring dengan berjalannya waktu mulai terjadi masalah kesehatan yang muncul pada hewan coba karena pemberian diet AIN-76A, sehingga pada tahun 1989 AIN mengadakan workshop untuk memutuskan bahwa diet AIN-76A memerlukan beberapa perubahan formulasi. Pada tahun 1993, perumusan komposisi diet yang menggantikan AIN-76A secara resmi dipublikasikan yaitu diet AIN-93M (Reeves *et al*, 1993). Pemilihan menggunakan pakan AIN-93M dibandingkan yang lain yaitu dikarenakan pakan AIN-93M merupakan standar internasional untuk pakan hewan coba, karena penelitian ini harapannya dapat menjadi pedoman dalam pemberian pakan untuk hewan coba laboratorium dengan memodifikasi *purified diet* AIN-93M tersebut disesuaikan dengan kondisi hewan coba yang dibutuhkan dalam penelitian.



2.6.1 Diet Standar AIN-93M

Diet standar AIN merupakan suatu pakan yang dikeluarkan oleh *American Institute of Nutrition* sebagai pakan berstandar Internasional untuk penelitian eksperimental yang menggunakan hewan coba tikus atau hewan pengerat yang lain, salah satu jenis diet standar AIN yaitu AIN-93M. Diet standar AIN-93M tidak hanya memperhatikan zat gizi makro yang dibutuhkan hewan percobaan, tetapi juga memperhatikan vitamin dan mineral yang dibutuhkan agar daya tahan tubuh hewan pengerat lebih terjaga karena AIN-93M khusus digunakan pada hewan coba pada masa pemeliharaan, berbeda dengan diet AIN-93G yang khusus diformulasikan untuk tikus pada masa awal pertumbuhan. Komposisi bahan yang digunakan dalam diet normal standar AIN-93M dalam 1kg pakan dapat dilihat pada tabel 2.4. Kandungan zat gizi dalam diet normal standar AIN-93M yaitu karbohidrat 75,9%, protein 14,1%, dan lemak 10%. Daftar kandungan mineral yang direkomendasikan dapat dilihat pada tabel 2.5 dan kandungan vitamin pada tabel 2.6 (Reeves *et al*, 1993).

Tabel 2.4 Formulasi diet standar AIN-93M

Nama Bahan	g/kg pakan
Pati jagung	465,692
Kasein (≥85% protein)	140,000
Pati jagung yang terdekstrinisasi (90-94% tetrasakarida)	155,000
Sukrosa	100,000
Minyak kedelai	40,000
Serat	50,000
Mineral mix (AIN-93M-MX)	35,000
Vitamin mix (AIN-93VX)	10,000
L-Cystine	1,800
Choline bitartrate (41,1% choline)	2,500
Tert-butylhydroquinone (TBHQ)	0,008

(Reeves *et al*, 1993)

**Tabel 2.5 Formulasi diet mineral mix (AIN-93M-MIX)**

No		g/kg mix
Essential mineral element		
1.	Calcium carbonate, anhydrous, 40,04% Ca	357,00
2.	Potassium phosphate, monobasic, 22,76% P 28,73% K ¹	169,00
3.	Potassium citrate, tri-potassium, monohydrate, 36,16% K	70,78
4.	Sodium chloride, 39,34%, Na, 60,66% Cl	74,00
5.	Potassium sulfate, 44,87% K; 18,39% S	46,60
6.	Magnesium oxide, 60,32% Mg	24,00
7.	Ferrie citrate, 16,5% Fe	6,06
8.	Zinc Caebonate, 47,79% Zn	1,65
9.	Manganous carbonate, 47,79% Mn	0,63
10.	Cupric carbonate, 57,47% Cu	0,30
11.	Potassium iodate, 59,3% I	0,01
12.	Sodium selenite, anhydrous, 41,79% Se	0,01025
13.	Ammonium paramolybdate, 4 hydrate, 54,34% Mo	0,00795
Potentially beneficial mineral element		
1.	Sodium meta-silicate, 9 hydrate, 9,88% Si	1,45
2.	Chromium potassium sulfate, 12 hydrate, 10,42% Cr	0,275
3.	Lithium chloride, 16,38% Li	0,0174
4.	Boric acid, 17,5% B	0,0815
5.	Sodium fluoride, 45,24% F	0,0635
6.	Nickel carbonate, 45,24% Ni	0,0318
7.	Ammonium vanadate, 43,55% V	0,0066
8.	Powdered sucrose	221,026

(Reeves *et al*, 1993).**Tabel 2.6 Formulasi vitamin mix (AIN-93M-VX)**

No	Bahan	g/kg mix
1.	Asam nikotinat	3,000
2.	Ca Pantotenat	1,600
3.	PIridoksin-HCl	0,700
4.	Tiamin-HCl	0,600
5.	Riboflavin	0,600
6.	Asam Folat	0,200
7.	Biotin	0,020
8.	Vitamin B12 (sianokobalamin) (0,1% dalam manitol)	2,500
9.	Vitamin E	15,00
10.	Vitamin A	0,800
11.	Vitamin D3	0,250
12.	Vitamin K	0,075
13.	Tepung sukrosa	974,655

(Reeves *et al*, 1993)



2.6.2 Diet HFHF (*High Fat High Fructose*) Modifikasi AIN-93M

Perbedaan diet normal modifikasi AIN-93 M dalam penelitian dengan diet normal standar AIN-93 M yang digunakan oleh American Institute of Nutrition dalam adalah adanya penggunaan tepung putih telur yang dapat meminimalisir kontaminasi bakteri dibandingkan dengan putih telur segar, selain itu penyimpanan tepung putih telur lebih mudah dan masa simpan tepung putih telur juga lebih panjang. Namun, pakan AIN-93M ini masih jarang digunakan di Indonesia karena harganya mahal serta sulit dalam pencampuran bahan kering pada pakan dan mendapatkan tekstur yang sesuai dengan daya terima tikus. Sehingga dilakukan modifikasi dengan penambahan putih telur sebagai untuk memperbaiki tekstur pakan modifikasi (Apridhianti,R., 2017).

Untuk membuat tikus obesitas tidak cukup hanya dengan memberikan *High Fat Diet* saja tetapi perlu adanya penambahan fruktosa. Menurut penelitian Dissard *et al.*, (2013), penambahan fruktosa sebanyak 30% selama 16 minggu pada minuman dalam diet untuk hewan coba model obesitas dapat meningkatkan serum trigliserida, total kolesterol, HDL, serta LDL. Penelitian lain oleh Hazarika *et al.*, (2017) yang dilakukan selama 16 minggu pada tikus Wistar dengan diet tinggi lemak serta suplementasi fruktosa 25% dalam bentuk minuman signifikan meningkatkan kadar LDL dan TG. Penelitian Handayani *et al.*, pada tahun (2011) memberikan *high fat diet* (HFD) modifikasi standar AIN-93M untuk menjadikan hewan coba sebagai model obesitas dengan komposisi sebagai berikut :

Tabel 2.7 Komposisi *high fat diet* modifikasi AIN-93-M

Nama Bahan	Nilai Gizi
Pati jagung	Karbohidrat : 32% total energi
Sukrosa	Protein : 16% total energi
Minyak kelapa murni	Lemak : 50% total energi
Kurvet	
Minyak kedelai	Densitas energi : 4,47kcal
Gelatin	
Kasein	
CMC	
Mineral mix (AIN-93M-MX)	
Vitamin mix (AIN-93VX)	

(Handayani *et al*, 2011)

High fat diet modifikasi AIN-93M ini dapat menyebabkan kondisi obesitas pada tikus percobaan (Handayani *et al*, 2011). Penelitian yang dilakukan Nickelson (2012), membuktikan perlakuan pemberian diet *high fat* disertai pemberian minuman fruktosa 30% selama minimal 10 minggu dapat menyebabkan kondisi yang mengarah pada metabolik sindrom yang ditandai dengan keadaan dislipidemia.

Pemberian minuman *high fructose* pada hewan coba bertujuan untuk menyamakan dengan pola konsumsi masyarakat yang pada dekade terakhir ini terkait peningkatan pola konsumsi makanan sumber karbohidrat dalam bentuk gula sukrosa pada makanan (Welsh *et al*, 2010), dimana konsumsi makanan tinggi gula tambahan dalam bentuk fruktosa dapat meningkatkan kadar trigliserida dan LDL serta menyebabkan obesitas (Lozano J *et al*, 2016).

Kombinasi komposisi diet antara diet tinggi lemak dengan diet tinggi fruktosa pada tikus dapat meningkatkan kadar LDL dan TG. Penelitian mengenai pengembangan hewan coba model obesitas menggunakan tikus yang menggunakan pakan HFD presentase lemak yang digunakan yaitu dalam kisaran 42% hingga 75% (Buettner, Parhofer *et al*. 2006). Tingginya persentase lemak



tersebut akan dapat menyebabkan terjadinya obesitas disertai dislipidemia pada hewan percobaan. Oleh karena itu, diet HFHF modifikasi standar AIN-93M merupakan diet yang dibuat dengan formulasi modifikasi HFD standar AIN-93M ditambahkan dengan pemberian fruktosa 30% dalam bentuk minuman untuk hewan coba (Lee *et al*, 2015).

2.7 Hubungan Diet HFHF terhadap Obesitas dan Perubahan Profil Lipid

Peningkatan asupan energi ataupun lemak dari makanan dalam diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan lipogenesis, dan pembentukan *Free Fatty Acid* (FFA) atau asam lemak bebas. Selanjutnya terjadi mobilisasi FFA dari jaringan lemak menuju ke hepar dan berikatan dengan pembentukan gliserol menjadi TG.

Semakin tinggi asupan lemak akan meningkatkan pembentukan TG di hepar dan semakin tinggi kadar TG dalam darah (Marcovina, S., dan Packard, C.J. 2006).

Abnormalitas metabolisme lemak dalam tubuh tersebut dan peningkatan massa lemak di jaringan nantinya akan menyebabkan kondisi dislipidemia. Sama halnya dengan diet tinggi lemak, semakin tinggi karbohidrat yang dikonsumsi, akan semakin tinggi pula kadar Trigliserida dalam darah. Diet tinggi karbohidrat terutama fruktosa akan meningkatkan kadar fruktosa 2,6 bifosfat sehingga fosfofruktokinase-1 menjadi lebih aktif dan meningkatkan rangsangan terhadap reaksi glikolisis (Rutledge, A.C., and Adeli, K. 2007). Peningkatan reaksi glikolisis akan menyebabkan glukosa diubah menjadi asam lemak bebas (FFA) juga meningkat. FFA inilah yang kemudian bersama dengan gliserol akan membentuk trigliserida (Berneis dan Krauss, 2002).

Hanya sedikit fruktosa dalam tubuh yang beredar dalam sirkulasi darah, sebagian besar akan dimetabolisme di hati. Metabolisme fruktosa di hati hampir



sama dengan proses glikolisis. Namun, fruktosa tidak mengikuti tahap fosfofruktokinase yang menyebabkan atom karbon dalam fruktosa kurang terkontrol dalam jalur metabolisme biokimia jika dibandingkan metabolisme glukosa. Hal ini menyebabkan hati memetabolisme fruktosa tanpa batas dan membedakan dengan proses metabolisme glukosa. Di dalam hati, fruktosa dapat masuk dalam beberapa jalur metabolisme seperti oksidasi, diubah menjadi glukosa dan glikogen, diubah menjadi asam laktat, dan masuk dalam proses *de novo* lipogenesis (DNL) (Schwarz *et al*, 2015). Diet tinggi fruktosa akan menstimulasi ekspresi gen untuk mengaktifkan enzim *lipogenic* di hati sehingga aktivitas DNL akan meningkat. Peningkatan DNL akan meningkatkan kadar kolesterol darah dan akumulasi lemak di hati (Kolderup and Shivus, 2015).

Zhuhua *et al*, (2015), melakukan penelitian pada tikus jantan yang berusia 8 minggu dengan diberikan diet HFHF (kandungan energi 49% dari lemak, 15,4% protein, 35,6% karbohidrat) selama 12 minggu didapatkan hasil terjadi peningkatan berat badan dan massa jaringan lemak tubuh, peningkatan gula darah puasa dan level insulin plasma, peningkatan asam lemak bebas, LDL, TG, dan total kolesterol. Hal tersebut juga menandakan adanya gangguan metabolisme lipid, terjadi peningkatan leptin dan TNF- α serta penurunan adiponektin pada plasma dalam penelitian tersebut. Wong *et al*, (2017) melakukan penelitian mengenai efek modifikasi diet *high karbohidrat high fat* (HCHF) pada tikus jantan dengan komposisi pakan yang mengandung fruktosa 17,5% serta minuman yang mengandung fruktosa 25% selama 16 minggu. Hasilnya diet HCHF tersebut secara signifikan meningkatkan TG, LDL, total kolesterol, serta obesitas sentral pada minggu ke-12.



Peningkatan kadar LDL diawali dengan meningkatnya sintesis dan sekresi VLDL di hati.

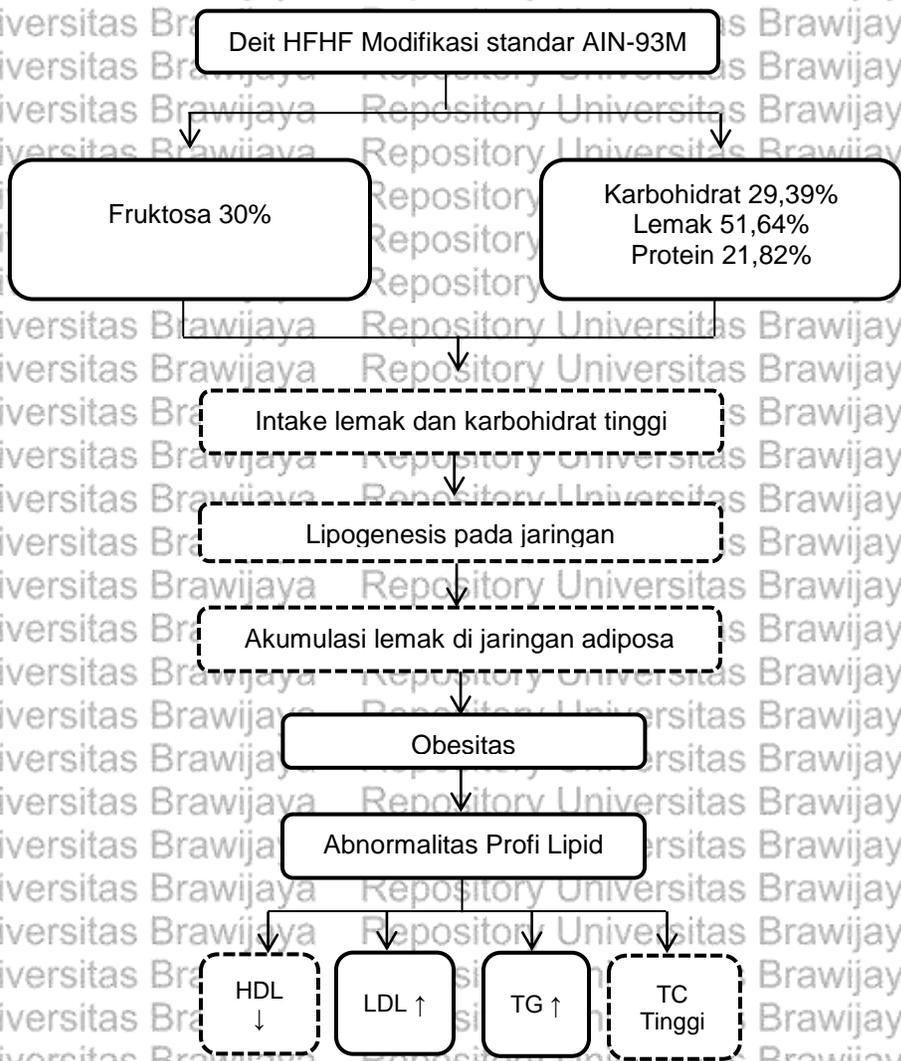
Diet HFHF menginduksi DNL untuk meningkatkan lipid di hati yang mensuplai asam lemak endogen serta meningkatkan ketersediaan asam lemak intrahepatic yang berasal dari sirkulasi darah. Lipoprotein yang berkontribusi dalam pembentukan TG menjadi VLDL adalah apo B, dimana degradasi apoB akan berkurang apabila lipid di hati meningkat (Olofsson dan Boren, 2005). Kadar TG dan LDL terbukti akan meningkat apabila terjadi keseimbangan energi positif yang menyebabkan kenaikan kadar lipid dalam hati. Hal ini terjadi karena lipoprotein melakukan remodeling yang dipicu oleh peningkatan VLDL dan dimediasi oleh CETP (*cholesteryl ester transfer protein*) dan enzim hepatic lipase yang hasilnya akan meningkatkan kadar LDL dan RLP (Adiels *et al*, 2008). Dalam penelitian Stanhope *et al*, (2009) membuktikan diet HFHF secara signifikan meningkatkan konsentrasi LDL yang telah teroksidasi.



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESA PENELITIAN

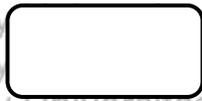
3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep Penelitian



= Tidak diteliti



= Diteliti

TC

= Total Kolesterol

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Mengonsumsi makanan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat setiap hari dapat menimbulkan dampak yang buruk bagi kesehatan yaitu menyebabkan obesitas dan sindroma metabolik (Harsa, I Made, 2014). Terjadinya peningkatan kadar lemak darah dan obesitas serta resistensi insulin merupakan suatu sindroma metabolik yang memiliki kaitan erat dengan timbulnya aterosklerosis dan menjadi faktor risiko terjadinya penyakit jantung dan aterosklerosis (Tsalisavrina, et al. 2006).

Diet yang diberikan yaitu diet untuk pemeliharaan hewan coba dan telah disesuaikan dengan tujuan dari penelitian. Diet yang digunakan dengan tujuan khusus untuk membuat model tikus obesitas menggunakan diet *High Fat High Fructose* (HFHF). Diet HFHF merupakan modifikasi dari standar AIN-93M berupa diet tinggi lemak yang ditambahkan minuman cairan fruktosa 30%. Diet HFHF menyebabkan peningkatan asupan lemak dan karbohidrat tikus yang menyebabkan laju lipogenesis pada jaringan meningkat yang dapat meningkatkan simpanan lemak di jaringan dan menyebabkan obesitas. Kondisi tersebut mempengaruhi kadar total kolesterol, trigliserida, LDL, dan HDL pada tikus. Pemberian diet HFHF modifikasi



standar AIN-93M menyebabkan tikus menjadi dislipidemia yang ditandai dengan peningkatan kadar LDL serum dan tingginya trigliserida.

3.3 Hipotesa Penelitian

Terdapat perbedaan kadar LDL serum dan trigliserida antara tikus *Rattus novergicus galur Sprague dawley* yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93M dengan diet standar AIN-93M termodifikasi.



BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratoric*, karena terdapat perlakuan pada hewan coba tikus serta menggunakan randomisasi. Desain penelitian ini menggunakan *Randomized control Group post test design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan. Hewan coba dibagi menjadi dua kelompok, yaitu :

Perlakuan 1 (L) : Diet *high fat high fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M

Perlakuan 2 (N) : Diet standar AIN-93M termodifikasi

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Besaran Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* berumur 3–4 bulan yang diperoleh dari UGM. Sampel penelitian yang digunakan sebanyak 36 ekor yang dipilih secara acak yang dibagi dalam 2 kelompok, sesuai dengan rumus Frederer. Rumus Frederer :

$$(t - 1) (n - 1) \geq 15 \text{ (Shaw R., et al. 2002)}$$



Keterangan :

n = besar sampel tiap perlakuan

t = banyaknya perlakuan

Penelitian ini menggunakan 2 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

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

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

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

$$n - 1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

$$16 + DO 10\% = 17,6$$

$$= 18$$

Dari hasil perhitungan didapatkan jumlah sampel tiap kelompok paling sedikit adalah 16 ekor. Kemudian menambahkan sampel cadangan pada setiap kelompok sebanyak dua ekor tikus dengan tujuan mengantisipasi kemungkinan yang tidak diinginkan seperti kematian pada tikus. Sehingga total tikus yang dibutuhkan dalam penelitian adalah 36 ekor tikus.

4.2.2 Prosedur Pengambilan Sampel

Pemilihan sampel untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan RAK (Rancangan Acak Kelompok), hal ini dikarenakan berat badan hewan coba yang tidak homogen.

4.2.3 Kriteria Sampel

Hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* yang digunakan pada penelitian ini harus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Berikut ini adalah kriteria tikus yang digunakan dalam penelitian ini :



1) Kriteria Inklusi

a. Sehat

b. Jenis kelamin jantan

c. Berusia sekitar 3 bulan

d. Berat badan 200-250 gram

e. Anggota badan lengkap, bergerak aktif, dan mata merah jernih

f. Warna bulu putih bersih

2) Kriteria Eksklusi

a. Sakit (penampakan rambut kusam, rontok atau botak dan aktivitas kurang atau tidak aktif, keluarnya eksudat yang tidak normal dari mata, mulut, anus atau genital).

b. Anggota badan tidak lengkap.

3) Drop Out

Tikus yang mati selama perlakuan penelitian.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian eksperimental adalah perlakuan sehingga variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian diet *high fat high fructose* modifikasi AIN-93M dan diet standar AIN-93-M termodifikasi.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian eksperimental merupakan respons subjek penelitian terhadap perlakuan yang diberikan sehingga variabel tergantung



dalam penelitian ini adalah kadar LDL dan trigliserida tikus *Rattus norvegicus* galur *Sprague dawley* jantan.

4.3.3 Variabel Kendali

Variabel yang dikendalikan oleh peneliti agar subjek penelitian berupa hewan coba tikus dalam keadaan homogen. Pengendalian yang dilakukan adalah dengan cara inklusi dan eksklusi, penyesuaian suhu kandang, penggantian sekam setiap hari, dan waktu pemberian pakan antara pukul 11.00-12.00 WIB.

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di :

- a. Laboratorium Diet Jurusan Gizi Poltekkes Kemenkes Malang untuk pembuatan pakan.
- b. Institut Biosains Universitas Brawijaya Malang untuk pemeliharaan hewan coba.
- c. Laboratorium Biomedik FKUB untuk memisahkan sampel darah dan serum tikus.
- d. Laboratorium Kawi 31 Malang untuk analisis sampel LDL dan TG.

4.4.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian ini berlangsung selama ± 6 bulan dari bulan September 2017 hingga bulan Januari 2018. Pemberian perlakuan pada tikus dilakukan selama 17 minggu. Pada hewan dalam satu harinya sama dengan 34,8 hari pada manusia, 1 tahun usia manusia sama dengan 2 minggu pada usia tikus, sehingga 17 minggu



perlakuan pada tikus percobaan dalam penelitian ini dapat dikatakan 8,5 tahun pada tikus (Sangupta, 2013).

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Alat dan Bahan Pemeliharaan Tikus

Kandang pemeliharaan hewan coba, sekam, botol minum, *hand gloves*, diet standar AIN-93M termodifikasi dan diet HFHF modifikasi AIN-93M

4.5.2 Alat dan Bahan untuk Pembuatan Pakan Diet standar AIN-93M

Termodifikasi

Alat yang digunakan dalam pembuatan diet standar AIN-93M termodifikasi :

Timbangan, baskom, pengaduk, kompor, *mixer*/ blender, kulkas, gelas ukur, baki, dan plastik *wrap*. Untuk komposisi pakan yang dibutuhkan merupakan modifikasi resep normal standar AIN-93M adalah sebagai berikut :

Tabel 4.1 Bahan Diet Standar AIN-93M Termodifikasi

Nama Bahan	Nilai Gizi
<i>Cornstarch</i>	Karbohidrat : 42,87%
<i>Dextrinnise cornstarch</i>	Protein : 31,32%
Sukrosa	Lemak : 25,81%
Minyak kedelai	Densitas energi 4,21 kkal/gram
Kasein	
Agar	
Tepung putih telur	
<i>L-cystine</i>	
<i>Coline bitartrate</i>	
TBHQ (<i>Tersier Butil Hidroquinon</i>)	
Mineral mix	
Vitamin mix AIN	

4.5.3 Alat dan Bahan Pembuatan Pakan *High Fat High Fructose* (HFHF)

Modifikasi Standar AIN-93M

a. Pakan *High Fat Diet* (HFD)



Alat yang digunakan dalam pembuatan pakan HFH yaitu : timbangan, baskom, pengaduk, kompor, *mixer/* blender, oven, loyang, gelas ukur, baki, dan plastik *wrap*. Untuk bahan yang digunakan dalam pembuatan diet HFHF modifikasi AIN-93M yaitu pada **Tabel 1.2** :

Tabel 4.2 Bahan Diet High Fat High Fructose (HFHF) Modifikasi Standar AIN-93M

Nama Bahan	Nilai gizi
Corn starch	Karbohidrat 29,39%
Dextrinise cornstarch	Protein 21,81%
Sukrosa	Lemak : 51,64%
Minyak kedelai	Densitas energi : 5,08
Lard	kkal/gram
Agar	
Tepung putih telur	
Kasein	
Mineral mix	
Vitamin mix AIN	Minuman Fruktosa 250ml
L-cystein	ED : 3,8 kkal/gram
Coline bitartrate	Energi:114 kkal
TBHQ (Tersier Butil Hidroquinon)	Karbohidrat : 30gram
Minuman Fruktosa 30%	

b. Fructose

Alat yang digunakan untuk membuat minum *fructose* yaitu timbangan analitik, pengaduk/ stirer, gelas ukur, labu ukur 250 ml, pipet, kertas saring dan jurigen. Untuk bahannya yaitu *fructose* bubuk sebanyak 75 gram dan pewarna makanan berwarna merah sebanyak tiga tetes untuk memudahkan membedakan dengan minuman yang diberikan pada kelompok perlakuan

p2.

4.5.4. Alat dan Bahan untuk Euthanasia Tikus

Euthanasia pada tikus dilakukan dengan metode pembiusan menggunakan ketamine sebanyak 0,3 ml per tikus.



4.5.5 Alat dan Bahan Pengambilan Darah

Alat yang digunakan untuk pengambilan darah dan pemisahan serum darah pada ventrikel kanan jantung tikus *Sprague dawley* : spuit, tabung *ependorf*, *tube*, sentrifuge, penjepit (*block holder*), *scapel*, gunting, pinset, sarung tangan, mikropipet, *blue tip*.

4.5.6 Alat dan Bahan untuk Pengukuran Trigliserida

Alat dan bahan yang digunakan dalam pemeriksaan kadar trigliserida dengan metode GPO-PAP adalah mesin DiaSys (*Diagnostic System*), dengan reagen buffer pH 7.2 (50 mmol/L), 4-chlorophenol (4 mmol/L), ATP (20 mmol/L), Mg^{2+} (15 mmol/L), Glycerol kinase (GK) (≥ 0.4 kU/L), peroksidase (POD) (≥ 2 kU/L), Lipoprotein lipase (LPL) (≥ 2 kU/L), 4-Aminoantipyrine (0,5 mmol/L), Glycerol-3-phosphate-oxydase (GPO) (≥ 0.5 kU/L), dan Standar 2 g/L (2,3 mmol/L) (DiaSys, 2009).

4.5.7 Alat dan Bahan untuk Pengukuran LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Kadar LDL serum dapat diperoleh dari perhitungan melalui *indirect method* dengan Formula *Friedewald Calculation*, dimana diperlukan data hasil pengukuran kadar HDL, kolesterol, dan TG terlebih dahulu. Untuk pengukuran kolesterol dan HDL menggunakan metode CHO-PAP dan pengukuran kadar TG dengan metode GPO-PAP yang pelaksanaannya menggunakan mesin DiaSys (*Diagnostic System*) dan reagen yang sesuai dengan tiap profil lipid yang akan diukur kadarnya (DiaSys, 2009).



4.5.8/ Alat untuk Sanitasi dan Higienisasi

Tempat mencuci tangan, sarung tangan (*hand gloves*), jas laboratorium, sabun antiseptik, masker, alkohol, dan *cotton ball*.

4.6 Definisi Operasional

1) Diet *High Fat High Fructose* (HFHF) Modifikasi AIN-93M

Diet HFHF modifikasi AIN 93 M adalah pakan tinggi lemak dan tinggi fruktosa yang diberikan kepada tikus selama 17 minggu dalam bentuk pelet dan minuman.

- Pelet

Pakan padat untuk tikus percobaan dengan komposisi *corn starch*, *dextrinnise corn starch*, *sucrose*, fruktosa, lard, minyak kedelai, kasein, tepung putih telur, agar, mineral *mix*, vitamin *mix* AIN, *L-cystine*, *coline bitartrate*, dan TBHQ. Kandungan zat gizinya yaitu 29,39% karbohidrat, 51,64% lemak, 21,81% protein dan densitas energi 5,08 kkal/gram.

- Minuman

Minuman tinggi fruktosa yang diberikan untuk tikus percobaan bersama dengan pelet dengan kadar *fructose* 30% sebanyak 250 ml.

2) Diet Standar AIN 93 M Termodifikasi

Diet standar AIN-93M termodifikasi adalah pakan dengan komposisi *corn starch*, *dextrinnise corn starch*, *sucrose*, fruktosa, lard, minyak kedelai, kasein, tepung putih telur, agar, mineral *mix*, vitamin *mix* AIN, *L-cystine*, *coline bitartrate*, dan TBHQ. Diet normal standar AIN-93M diberikan pada tikus kelompok normal sejak masa perlakuan hingga penelitian selesai yaitu selama 17 minggu. Diet normal



memiliki kandungan zat gizi 42,87% karbohidrat, 31,32% protein, 25,81% lemak dan, densitas energi 4,21 kkal/kg.

3) Kadar LDL

Kadar LDL serum tikus diperoleh melalui perhitungan *indirect method* menggunakan rumus *Friedwald* dengan satuan mg/dl. Dalam perhitungan ini dibutuhkan kadar kolesterol total, TG, dan HDL serum tikus, dimana kadar profil lipid darah tersebut diukur dari sampel darah tikus yang diambil pada akhir perlakuan (*post test*) dari ventrikel kanan jantung. Sampel darah yang didapat selanjutnya diserumkan terlebih dahulu dan dilanjutkan dengan uji kolesterol total dan HDL dengan metode CHO-PAP serta uji kadar TG dengan metode GPO-PAP. Pengujian ini dilakukan di Laboratorium Kawi 31 Malang. Skala kadar LDL serum dalam penelitian ini adalah skala rasio.

4) Kadar Trigliserida

Kadar trigliserida adalah jumlah trigliserida yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan metode GPO-PAP yang dilakukan di Laboratorium Kawi 31 Malang. Sampel darah tikus diambil dari ventrikel kanan jantung kemudian diserumkan terlebih dahulu. Setelah itu serum darah yang didapat akan diuji dengan menggunakan mesin DiaSys. Satuan trigliserida yang digunakan adalah mg/dl dan skala yang digunakan adalah skala rasio.

5) Asupan Diet

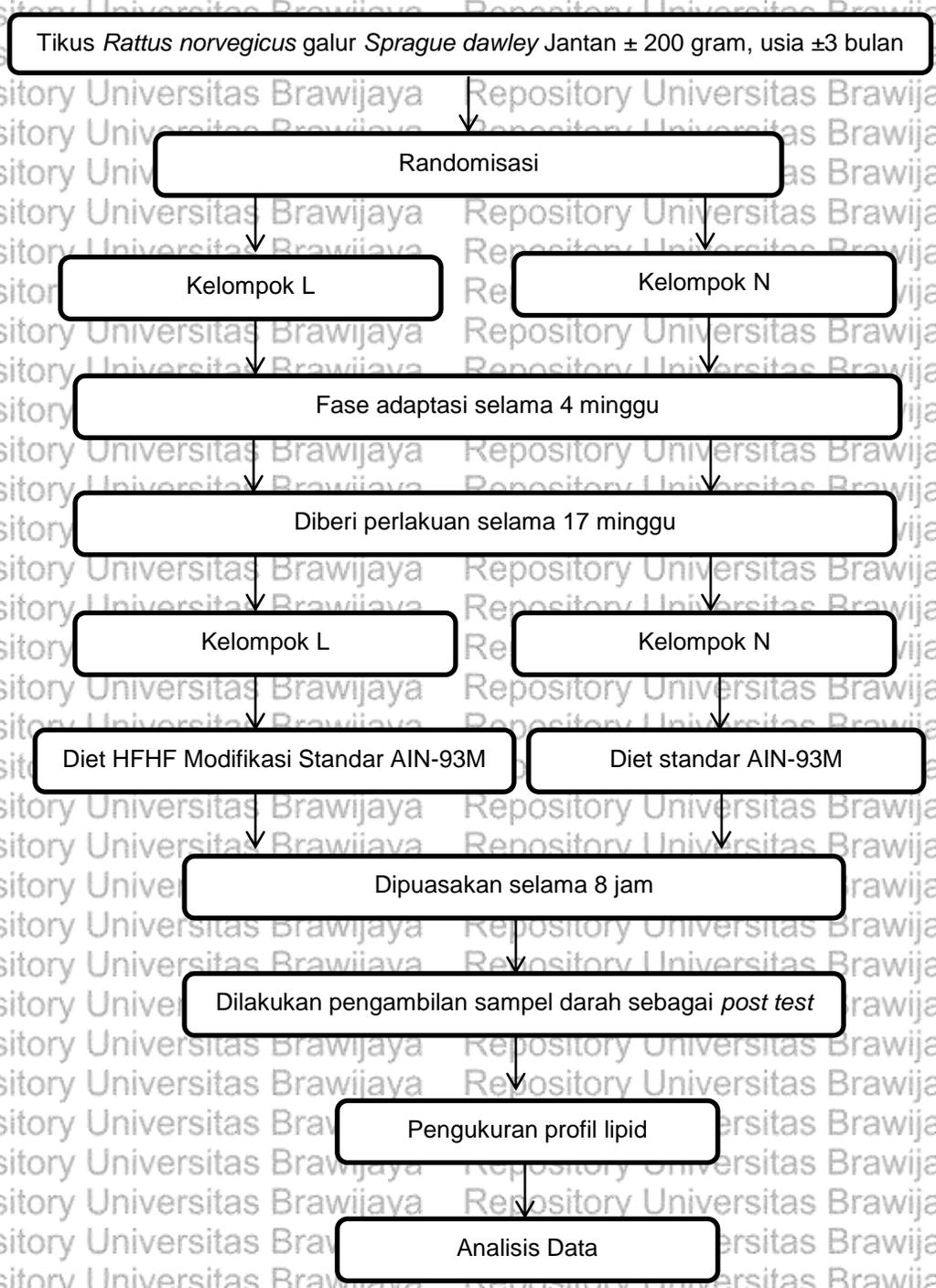
Asupan diet adalah rata-rata pakan yang dimakan oleh tikus selama 24 jam yang dihitung dengan mengurangi berat pakan yang diberikan pada tikus dengan



sisa pakan yang ada dalam kandang tikus. Hasil asupan diet yang dituliskan dalam gram selanjutnya dikonversikan dalam bentuk energi (kkal). Pemberian diet dilakukan setiap dua hari sekali pada kisaran pukul 11.00-12.00 WIB dengan cara meletakkan potongan pakan yang telah ditimbang sebanyak 15 gram di tempat makan dalam kandang tikus.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Langkah- langkah dalam melakukan penelitian ini adalah :



Bagan 4.1 Alur Penelitian



4.7.2 Persiapan Hewan Coba

Persiapan hewan coba dimulai dari pengadaan hewan coba yang sesuai dengan kriteria yang telah ditentukan persiapan pemeliharaan dengan menyediakan kandang pemeliharaan hewan coba, sekam, botol minum, tempat pakan, diet HFHF modifikasi standar AIN-93M, dan diet normal standar AIN-93M.

4.7.3 Pembuatan Diet High Fat High Fructose (HFHF) Modifikasi AIN-93M

Berikut ini adalah prosedur pembuatan diet HFHF Modifikasi Standar AIN-93M : (1) menimbang dan menyiapkan semua bahan serta alat, (2) mencampurkan semua bahan kering yaitu *corn starch*, *dextrinise corn starch*, *sucrose*, fruktosa, kasein, tepung putih telur, agar, mineral *mix*, vitamin *mix* AIN, *L-cystine*, *coline bitartrate*, dan TBHQ. (3) mengaduk menggunakan *doughmaker*, (4) menuangkan lard dan minyak kedelai lalu mencampur hingga adonan kalis, (5) Setelah itu adonan dipotong dengan berat masing-masing potongan sekitar 15 gram, (6) mengoven adonan yang telah dipotong dengan suhu 60° C selama 10-12 jam.

4.7.4 Pembuatan Diet standar AIN-93M termodifikasi

Prosedur pembuatan diet normal standar AIN-93M: (1) menimbang semua bahan, (2) memasukkan semua bahan kering *corn starch*, *dextrinise corn starch*, *sucrose*, fruktosa, tepung putih telur dan agar ke dalam wadah dan aduk hingga merata, (3) menambahkan minyak kedelai dan lard ke dalam wadah bahan kering dan aduk hingga kalis, (4) mencampurkan adonan bahan kering *mixer* hingga rata dengan *casein*, mineral MIX, vitamin *mix* AIN, *L-cystine*, *coline bitartrate*, dan TBHQ dan diuleni hingga kalis, (7) *roll* adonan kemudian memotong adonan dengan ukuran



±15cm kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit kemudian memasukkannya ke dalam oven suhu 60° C selama 10 jam.

4.7.5 Pembuatan Minum Tinggi Fruktosa

Prosedur pembuatan minum *high fructose* : (1) menimbang fruktosa bubuk dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 75 gram, kemudian memasukkan ke dalam *beaker glass*, (2) menambahkan air sebanyak 150 ml kemudian mengaduk menggunakan *stirer* hingga homogen, (3) memasukkan ke dalam labu ukur 250 ml, dan menambahkan air hingga sebanyak 250 ml menggunakan corong, kemudian kocok hingga larutan homogen, (4) menyaring larutan menggunakan kertas saring dan menuangkan ke dalam jurigen, (5) mengulangi prosedur di atas hingga volume larutan fruktosa menjadi 8 liter, (6) menambahkan pewarna makanan berwarna merah sebanyak tiga tetes dengan menggunakan pipet.

4.7.6 Pemberian diet HFHF dan Diet standar AIN-93M termodifikasi

Pemberian diet HFHF Modifikasi Standar AIN-93M dan diet standar AIN-93M termodifikasi dilakukan dua hari sekali. Kebutuhan makanan tikus dewasa per-ekor dalam setiap harinya disesuaikan dengan hasil rata-rata asupan makanan tikus pada masa adaptasi. Diet HFHF dan diet standar AIN-93M termodifikasi diberikan selama 17 minggu (perlakuan).

4.7.7 Pengumpulan Data

1) Data asupan diet diperoleh dengan penimbangan berat pakan yang dimakan oleh tikus selama 24 jam yang diukur dua hari sekali. Dihitung



dengan mengurangi berat pakan yang diberikan pada tikus dengan sisa pakan yang ada dalam kandang tikus dan dibagi dua. Hasil asupan diet yang dituliskan dalam satuan gram selanjutnya dikonversikan kedalam bentuk energi (kcal).

2) Data kadar LDL diperoleh dengan perhitungan rumus *Friedwald calculation* dari hasil pengukuran kolesterol total, TG, dan HDL yang diperoleh melalui pengambilan darah di akhir penelitian (*post test*) sebanyak 3 ml yang diambil melalui ventrikel kanan jantung.

3) Kadar TG diperoleh melalui metode pengambilan darah pada saat akhir penelitian sebanyak 3 ml yang diambil melalui ventrikel kanan jantung. Kemudian diuji dengan metode GPO-PAP.

4.7.8 Pengambilan Sampel Darah dan Pembuatan Serum

Pada akhir penelitian hewan coba dieuthanasia menggunakan *ketamine* sebanyak 0,3ml per tikus. Setelah dilakukan anestesi menggunakan *ketamine*, selanjutnya tikus dibedah dan ditusukkan jarum secara tegak lurus pada ventrikel kanan jantung. Setelah jarum terlihat berdetak-detak (bergoyang-goyang), ambil darah kurang lebih 3 ml kemudian darah ditampung dalam tabung *vacutainer*.

Tabung didiamkan selama kurang lebih tiga jam dalam posisi miring agar banyak serum yang terbentuk. Setelah itu, darah disentrifugasi dengan kecepatan 3600 rpm dengan waktu 10 menit. Serum kemudian dipisahkan dari sel darah merah menggunakan pipet dan ditampung ke dalam *ependorf* sebanyak 100 mikroliter, selanjutnya serum disimpan dalam pendingin.



Tikus diinjeksi ketamine dengan dosis 0,3/tikus pada intramuscular paha

Menancapkan tikus pada papan bedah

Mengambil darah tikus pada ventrikel kanan jantung

Menampung darah pada tabung vacutainer

Sentrifugasi 3600rpm selama 15 menit

Memisahkan serum, dan menampung pada tabung eppendorf

Bagan 4.2 Alur Pengambilan Sampel Darah

4.7.9 Perhitungan Kadar LDL

Perhitungan kadar LDL menggunakan *indirect method* dengan formula *Friedwald Calculation*, dimana formula ini pertama kali dikemukakan oleh Friedwald Levy, dan Fredrickson (McPherson dan Pincus, 2011). LDL dihitung dengan persamaan yang cepat dimana sebelumnya telah diukur kadar kolesterol total, TG, dan HDL. Berikut adalah formula *Friedwald Calculation* :

$$\text{LDL Kolesterol} = \text{Total Kolesterol} - (\text{HDL Kolesterol} + \text{TG})/5$$

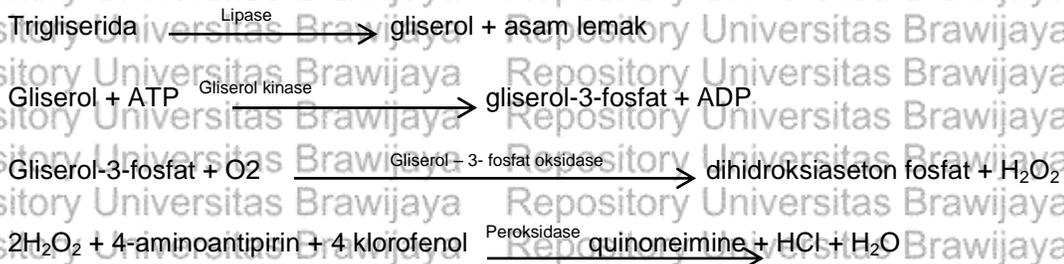
Terminologi (trigliserida/5) digunakan ketika konsentrasi dalam bentuk mg/dl. Hasil perhitungan menjadi jelas (*noticeable*) bila kadar trigliserida >2,26 mmol/L (200 mg/dl) dan menjadi tidak dapat diterima (*unnacceptably*) bila kadar trigliserida sangat tinggi >4,52 mmol/L (400 mg/dl) (McPherson dan Pincus, 2011).



4.7.10 Uji Trigliserida dengan Menggunakan GPO-PAP

Penetapan kadar trigliserida dilakukan menggunakan metode GPO-PAP.

Trigliserida ditetapkan kadarnya setelah mengalami hidrolisis secara enzimatik dengan lipase. Indikator yang digunakan adalah quinonimin yang dibentuk dari hydrogen peroxide, 4-aminoantipirin, dan 4-klorofenol dengan adanya pengaruh katalis peroxidase dengan reaksi sebagai berikut (DiaSys, 2009).



Bagan 4.3 Reaksi Pembentukan Quinonimin (DiaSys, 2009)

Absorbansi sampel yang akan diuji diukur dengan menggunakan panjang gelombang 500 nm, Hg 546 nm, *optical path* 1 cm, dan temperature 20-25°C atau 37°C.

Tabel 4.3 Pengukuran kadar Trigliserida

	Standard	Sampel
Supernatan	-	10 µL
Standard	10 µL	-
Pereaksi	1000 µL	1000 µL

(Sumber : DiaSys, 2009)

Selanjutnya mencampurkan sampel dan diamkan pada suhu 20-25°C selama 20 menit, atau pada suhu 37°C selama 10 menit. Baca pada panjang gelombang 500 nm (atau Hg 546 nm) dengan titik nol blanko. Perhitungan :

$$\text{Trigliserida (mg/dL)} = \frac{\Delta A \text{ Sample}}{\Delta A \text{ Standard}} \times \text{Conc. Standard} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right)$$



Dimana, untuk mendapatkan gliserol bebas, mengurangi 0,1 g/L (0,11 mmol/L) dari hasil perhitungan trigliserida di atas (DiaSys, 2009).

Faktor konversi :

$$\text{TG [g / L]} \times 1,126 = \text{TG (mmol/L)}$$

Sumber : (DiaSys, 2009)

4.8 Analisis Data

Hasil pengukuran kadar trgliserida dan LDL dari kedua kelompok perlakuan dianalisa secara statistic dengan menggunakan program SPSS 16.0 for Windows dengan tingkat signifikansi 0.05 ($p=0.05$) dan derajat kepercayaan 95% ($\alpha=0.05$).

Data yang diperoleh mengenai kadar trigliserida dan LDL post test antara dua kelompok perlakuan dianalisis uji normalitas data, uji homogenitas varian, dan independent T-test.



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Karakteristik Tikus Percobaan

Tikus percobaan yang telah dikelompokkan berdasarkan perlakuan penelitian memiliki karakteristik seperti pada **tabel 5.1**. sebagai berikut,

Tabel 5.1 Karakteristik Tikus Percobaan

Kelompok Perlakuan	Kriteria Inklusi	P1	P2
Jumlah (n)		16	14
Jenis Kelamin	Jantan	Jantan	Jantan
Usia (bulan)	± 3 bulan	± 3 bulan	± bulan
BB tikus datang (mean ± SD)	200-250 gram	240,23 ± 30,71	244,18 ± 33,07

Keterangan : Jumlah (n)=16, Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M, Perlakuan 2 (P2)= Diet standar AIN93M Termodifikasi

Berdasarkan Tabel 5.1 dapat diketahui bahwa seluruh kelompok perlakuan perlakuan telah sesuai dengan kriteria inklusi. Jumlah awal tikus percobaan pada tiap kelompok perlakuan adalah 36 ekor, akan tetapi terdapat total 6 ekor tikus yang drop out selama penelitian berlangsung yaitu 2 ekor tikus pada kelompok P1 dan 4 ekor tikus pada kelompok P2, sehingga jumlah akhir tikus penelitian menjadi 30 ekor. Uji *independent t-test* terhadap berat badan saat tikus datang didapatkan hasil $p=0,916$ ($\alpha=0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara berat badan tikus saat datang pada kelompok perlakuan P1 dan P2.



5.2 Gambaran Diet pada Tikus Percobaan

Tikus percobaan diberikan diet sesuai dengan kelompok perlakuan yaitu kelompok P1 diberikan diet HFHF modifikasi AIN-93M dan P2 diberi diet standar AIN-93M termodifikasi. Komposisi zat gizi yang terkandung dalam diet HFHF modifikasi AIN-93M dan P2 diberi diet standar AIN-93M termodifikasi disajikan pada **Tabel 5.2.**

Tabel 5.2. Komposisi zat gizi diet per 100 gram pakan

Zat Gizi	P1	P2
Energi (kkal)	508	421
Protein (gram; kkal)	27,69; 21,81%	32,96; 31,32%
Lemak (gram; kkal)	29,14; 51,64%	12,07; 25,81%
Karbohidrat (gram; kkal)	37,32; 29,39%	45,12; 42,87%
Densitas energi	5,08 kkal/gram	4,21 kkal/gram

Keterangan : Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M, Perlakuan 2 (P2)= Diet standar AIN93M Termodifikasi

Pada Tabel 5.2 dapat diketahui diet HFHF modifikasi AIN-93M memiliki kalori yang lebih tinggi dari diet standar AIN-93M termodifikasi. Selain itu, densitas energi serta lemak pada diet HFHF lebih tinggi dari diet standar AIN-93M termodifikasi.

5.3 Asupan Pakan dan Zat Gizi pada Tikus Percobaan

Asupan pakan merupakan rata-rata pakan yang dimakan oleh tikus percobaan selama 24 jam dalam satuan gram yang selanjutnya dikonversikan dalam bentuk energi (kkal), protein (gram), lemak (gram), dan karbohidrat (gram). Asupan pakan yang dikonsumsi oleh tikus percobaan dapat dihitung dengan mengurangi berat pakan yang diberikan dengan berat sisa pakan yang terdapat di dalam kandang setiap dua hari sekali.

Rata-rata asupan pakan, total energi, protein, lemak, dan karbohidrat yang dikonsumsi oleh tikus selama perlakuan tersaji pada **tabel 5.3.**

Tabel 5.3 Rata-rata Asupan \pm SD Pakan dan Zat Gizi Tikus

		P1 ($\bar{x} \pm SD$)	P2 ($\bar{x} \pm SD$)	P
Pakan dan Minuman fruktosa	Pakan (gram)	6,66 \pm 1,09	12,28 \pm 1,68	0,000
	Rata-rata asupan fruktosa (ml)	30,41 \pm 3,53		
	Energi total (kkal) ; gram	70,29 \pm 6,13	51,71 \pm 7,09	0,000
Energi dan Zat gizi	Protein (gram) ;%	1,84 \pm 0,30	4,04 \pm 0,55 ; 31,25%	0,000
	Lemak (gram) ;%	1,94 \pm 0,31	1,48 \pm 0,20 ; 25,75%	0,000
	Karbohidrat (gram) ;%	11,61 \pm 1,05	5,54 \pm 0,7 ; 41,85%	0,000

Keterangan :

Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M

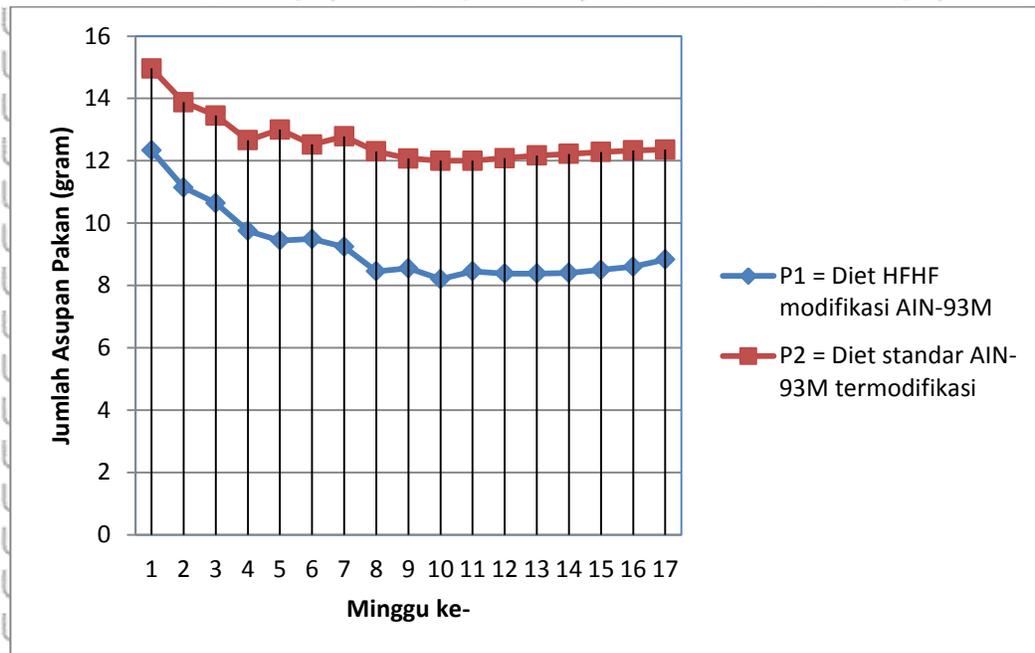
Energi pada P1 didapatkan dari total asupan pakan dan fruktosa

Perlakuan 2 (P2) = Diet standar AIN-93M Termodifikasi

Berdasarkan Tabel 5.3 rata-rata jumlah asupan pakan pada kelompok P2 lebih tinggi dibandingkan rata-rata asupan diet pada kelompok P1. Namun, pada rata-rata asupan energi karbohidrat, serta lemak pada kelompok P1 lebih besar dibandingkan kelompok P2, dikarenakan presentase lemak yang lebih tinggi serta ada penambahan minuman fruktosa. Asupan minuman fruktosa tikus percobaan dihitung dengan mengurangi jumlah takaran minuman yang diberikan dengan sisa yang terdapat dalam botol. Pengukuran dilakukan setiap 2 hari sekali. Setelah itu asupan minuman dikonversikan dalam satuan energi (kkal).

Seluruh data terdistribusi normal sehingga dilakukan uji *parametric independent T-test*, hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa asupan pakan, energi, karbohidrat, protein, dan lemak memiliki nilai $p = 0,000$, sehingga terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok P1 dan P2 ($p < 0,05$).

Berikut adalah Gambar 5.1 yang menunjukkan grafik perkembangan jumlah asupan pakan tikus mulai dari minggu pertama hingga akhir penelitian (minggu ke 17).



Gambar 5.1 Rata-rata Jumlah Asupan (gram) per Minggu

Pada Gambar 5.2 dapat dilihat bahwa rata-rata jumlah asupan pakan kelompok P1 lebih rendah dari kelompok P2 dari minggu pertama hingga minggu ketujuhbelas penelitian. Kelompok P1 mengalami penurunan jumlah asupan dari minggu kedua hingga minggu kedelapan, selanjutnya jumlah asupan tidak terjadi kenaikan ataupun penurunan jumlah asupan yang berarti hingga minggu ketujuhbelas, sehingga cenderung konstan hingga akhir penelitian. Pada kelompok P2 rata-rata jumlah asupan pakan mengalami penurunan dari minggu kedua hingga minggu kelima penelitian. Pada minggu keenam tidak terjadi sedikit kenaikan, tetapi kembali mengalami penurunan hingga minggu kedelapan. Selanjutnya jumlah asupan pakan tidak mengalami penurunan atau peningkatan yang berarti hingga minggu ketujuhbelas, sehingga jumlah asupan pakan cenderung konstan hingga akhir penelitian.



5.4 Perubahan Berat Badan dan Berat Badan Akhir Tikus

Penimbangan berat badan tikus dilakukan secara berkala yaitu saat tikus datang untuk memastikan kriteria inklusi tikus dan selama penelitian (setiap minggu sekali selama 17 minggu) untuk mengetahui perubahan berat badan tikus serta berat badan akhir tikus. Perkembangan berat badan tikus selama penelitian dilakukan disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Rata-rata Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Tikus (gram)

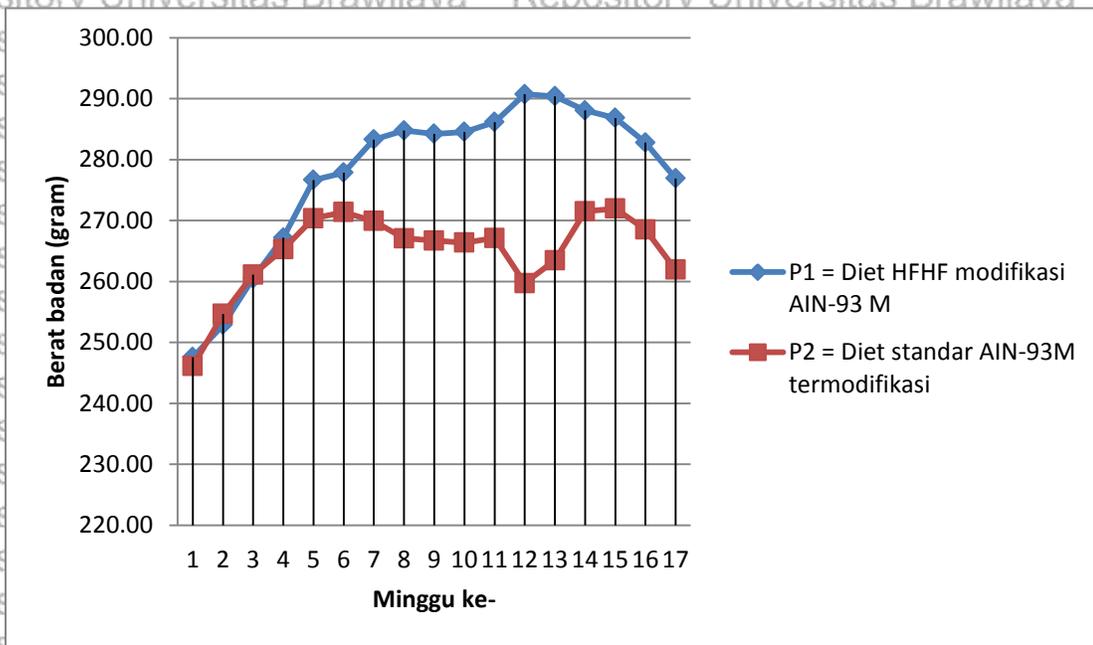
	P1 $\bar{x} \pm SD$	P2 $\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
BB datang (gram)	240,24 \pm 30,71	244,19 \pm 33,07	0,725
BB awal (aklimatisasi) (gram)	246,11 \pm 19,11	24,58 \pm 22,06	0,945
BB akhir (gram)	276,92 \pm 35,65	261,93 \pm 29,29	0,217
Rata-rata kenaikan berat badan (gram)	31,33 \pm 26,35	15,82 \pm 23,71	0,101

Keterangan : Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M, Perlakuan 2 (P2)= Diet standar AIN93M Termodifikasi

Berdasarkan uji normalitas dengan metode *Saphiro-Wilk*, diketahui bahwa data berat badan datang, berat badan awal, berat badan akhir, dan perubahan berat badan terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan analisis uji *Independent T-Test* terhadap berat badan datang tikus percobaan dan didapatkan hasil $p = 0,725$ ($\alpha = 0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok P1 dan kelompok P2. Hasil yang sama juga didapatkan pada analisis *Independent T-Test* terhadap berat badan awal ($p = 0,945$), berat badan akhir ($p = 0,217$), dan perubahan berat badan ($p = 0,101$), bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan



antara berat badan awal, berat badan akhir, dan perubahan berat badan pada kelompok P1 dan kelompok P2. Berikut adalah Gambar 5.1 yang menunjukkan grafik perkembangan berat badan tikus mulai dari tikus datang (minggu ke 1) hingga akhir penelitian (minggu ke 17).



Gambar 5.2 Rata-rata Berat Badan Hewan Coba per Minggu

Gambar 5.2 menunjukkan bahwa kelompok P1 mengalami kenaikan berat pada minggu pertama hingga minggu kelima. Pada minggu keenam, kenaikan berat badan tikus tidak sebesar pada minggu sebelumnya. Minggu ketujuh hingga minggu kesebelas berat badan tikus tidak mengalami kenaikan ataupun penurunan berat badan yang berarti. Pada minggu keduabelas hingga ketujuhbelas, berat badan tikus kelompok P1 mengalami penurunan terus menerus, sehingga dapat disimpulkan bahwa tikus kelompok P1 mengalami fluktuasi kenaikan berat badan. Sementara itu, kelompok perlakuan P2 mengalami kenaikan berat badan pada minggu pertama



hingga minggu keenam. Setelah itu berat badan tikus kelompok P2 mengalami penurunan berat badan hingga minggu keduabelas dan kenaikan berat badan hingga minggu kelimabelas. Namun, berat badan kembali penurunan hingga minggu ketujuhbelas. Penurunan berat badan dapat disebabkan karena tekstur pakan yang tidak sama dari awal penelitian hingga akhir penelitian sehingga nafsu makan tikus dapat menurun dengan perubahan tekstur pakan tersebut sehingga menyebabkan asupan pakan menjadi rendah dan terjadi penurunan berat badan.

5.5 Perbedaan Kadar Trigliserida pada Tikus Percobaan

Dari hasil pengukuran kadar trigliserida pada P1 dan P2 didapatkan data seperti pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5 Rata-rata kadar trigliserida (TG) dalam mean \pm SD

TG	P1	P2	Nilai p
Rata-rata TG (mg/dl)	40,20 \pm 12,42	36,50 \pm 11,19	0,402
Keterangan :	Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M Perlakuan 2 (P2) = Diet standar AIN-93M Termodifikasi Nilai P = Hasil uji analisis		

Dilihat dari data tabel 5.5 diketahui bahwa kadar trigliserida pada P1 lebih besar dari kadar TG pada P2 yaitu 40,20 \pm 12,42 mg/dl. Namun, nilai minimum P1 16,2 mg/dl lebih kecil dari P2 yaitu 23 mg/dl dengan selisih nilai minimum P1 dan P2 yaitu 6,8 mg/dl. Uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal $p=0,349$, sehingga dilakukan uji *independent t-test* didapatkan hasil nilai $p=0,402$ ($\alpha>0,05$) yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kadar trigliserida pada kelompok perlakuan hewan percobaan yang diberi diet HFHF modifikasi standar AIN-93M dengan diet standar AIN-93M termodifikasi.



5.6 Perbedaan Kadar LDL pada Tikus Percobaan

Data kadar LDL diperoleh menggunakan *indirect method* dengan formula *Friedewald Calculation* dari perhitungan hasil pengukuran kolesterol total, TG, dan HDL. Dari hasil pengukuran kadar LDL dan TG pada P1 dan P2 didapatkan data seperti pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Rata-rata Kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam mean \pm SD

LDL	P1	P2	Nilai p
Rata-rata LDL (mg/dl)	30,25 \pm 8,29	24,74 \pm 8,07	0,78

Keterangan :
 Perlakuan 1 (P1) = Diet HFHF modifikasi standar AIN-93M
 Perlakuan 2 (P2) = Diet standar AIN-93M Termodifikasi
 Nilai P = Hasil uji analisis

Berdasarkan tabel 5.6, diketahui bahwa kadar LDL pada P1 lebih tinggi dari P2 yaitu 30,25 \pm 8,29 mg/dl. Nilai minimum P1 lebih besar dari P2 yaitu 14,41 mg/dl dengan selisih nilai minimum P1 dan P2 yaitu 1,01 mg/dl. Uji normalitas menunjukkan data terdistribusi normal $p=0,222$, selanjutnya dilakukan uji *independent t-test* didapatkan hasil nilai $p=0,78$ ($\alpha>0,05$) yang menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara kadar LDL pada kelompok diet HFHF modifikasi standar AIN-93M dengan diet standar AIN-93M termodifikasi.



BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Diet Terhadap Asupan Tikus Percobaan

Konsumsi pakan rata-rata seekor tikus menurut Smith dan Mangkoewidjojo (1988) yaitu 12-20 gram/hari/ekor. Ferreira *et al.* (2009) dalam penelitiannya yang menggunakan diet hiperkolesterolemia AIN-93 M dan diet standar AIN-93M rata-rata asupan dietnya sebesar 15,47 gram/ tikus/hari dan 16,74 gram/tikus/hari. Tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Sena *et al.* (2014) yang mengemukakan bahwa rata-rata asupan pakan pada tikus yang diberi diet tinggi lemak adalah 19-23 gram per hari. Apabila dibandingkan dengan penelitian ini, asupan diet pada kedua kelompok tikus percobaan tergolong masih lebih rendah yaitu 6,66 gram pada kelompok P1 dan 12,28 gram pada kelompok P2. Asupan tikus yang diberi HFD lebih rendah dibandingkan kelompok tikus yang diberi diet standar AIN-93M termodifikasi. Hal tersebut sejalan dengan penelitian ini, tetapi asupan diet dalam penelitian ini masih dibawah rata-rata dari penelitian lain.

Rendahnya asupan diet pada percobaan ini dapat disebabkan karena berbagai faktor yang mempengaruhi. Diantaranya yaitu faktor psikologi dan keadaan fisiologis dari tikus itu sendiri (Olubobokun *et al.* 2014). Faktor keadaan fisiologis tikus diantaranya yaitu terkait dengan faktor stress yang dapat diakibatkan dari tekstur, bentuk, aroma, dan warna pakan yang diberikan kepada tikus percobaan serta keadaan kandang yang mempengaruhi kenyamanan tikus selama penelitian dilakukan (Syarkiah *et al.* 2008). Tikus adalah hewan yang sangat sosial dan di alam



liar tinggal di koloni besar yang terdiri dari 100 atau lebih (Puslitbangnak, 2017).

Tikus penelitian yang ditempatkan pada kandang *single* akan memiliki tingkat stress yang lebih tinggi jika dibandingkan tikus yang menempatinya kandang bersama dengan tikus yang lain. Hal tersebut dapat terjadi karena tingkat stress pada tikus

akan menurun apabila terdapat interaksi dengan tikus yang lain (Balcombe, 2006).

Pada penelitian ini tikus ditempatkan pada kandang *single* serta tekstur pakan yang diberikan kepada tikus tidak seragam antara pakan yang diproduksi pertama dengan produksi selanjutnya terutama pada pakan HFD. Hal ini dapat menyebabkan rendahnya jumlah asupan pada tikus penelitian yang dibuktikan dengan asupan

makanan dibawah rata-rata jika dibandingkan dengan penelitian lain. Tanda stres

pada tikus dalam penelitian ini dapat dilihat dengan adanya beberapa tikus yang

terkena penyakit tetelo. Metode pemberian minuman fruktosa pada tikus

menggunakan botol yang ditempatkan diatas kandang dengan corong untuk

meminumnya menghadap kedalam kandang. Tidak jarang botol tempat minuman

fruktosa mengalami bocor yang mengakibatkan sekam di dalam kandang dan

rambut tikus menjadi basah. Lingkungan yang lembab dapat menyebabkan

tumbuhnya bakteri yang akan menyebabkan penyakit sehingga meningkatkan

tingkat stres pada tikus penelitian.

Selain faktor yang disebutkan diatas, pola makan tikus ketika masih proses

pemeliharaan juga mempengaruhi pola makan tikus saat penelitian (Sefcikova dan

Mozes, 2002). Pakan untuk pemeliharaan tikus Sprague Dawley di Indonesia

menggunakan pakan standar AD II comfeed (Widiartini, 2013). Penelitian ini

menggunakan diet AIN-93M termodifikasi yang memiliki tekstur, warna, konsistensi,



dan rasa yang berbeda dengan pakan AD II Comfeed. Pakan diet AIN-93 M termodifikasi memiliki warna coklat, tekstur yang lembut dan halus, serta konsistensi yang cenderung kenyal. Berbeda dengan pakan AIN-93 M, pakan ADII comfeed memiliki warna coklat gelap, tekstur yang kasar, dan konsistensi yang keras.

Perbedaan organoleptik antara kedua pakan tersebut dapat menjadi salah satu faktor penyebab asupan tikus percobaan yang rendah dalam penelitian ini. Sebagai hewan pengerat tikus memiliki sepasang gigi seri yang besar untuk mengerat makanan atau benda. Pertumbuhan gigi seri tersebut terjadi terus menerus, oleh karena itu untuk mengurangi pertumbuhan gigi seri yang jika tidak digunakan mengerat dapat membahayakan tikus sendiri, maka tikus selalu menggunakan giginya untuk mengerat benda keras atau makanan yang dijumpainya, sehingga tikus lebih menyukai makanan yang memiliki tekstur kasar dan konsistensi yang keras (Solichah, 2007). Diet 93M termodifikasi memiliki tekstur pakan yang lembut dan konsistensi yang cenderung kenyal menyebabkan tikus penelitian tidak terlalu menyukai pakan ini, sehingga asupan makanan pada tikus penelitian menjadi dibawah rata-rata pada umumnya.

Jumlah asupan yang dibawah rata-rata ini mengakibatkan asupan zat gizi pada kelompok P1 dan P2 cenderung rendah. Komposisi zat gizi diet *high fat high fructose* modifikasi AIN-93M atau kelompok P1 yaitu memiliki energi 508 kkal, protein 21,81%, lemak 51,64%, karbohidrat 29,39%, serta tambahan minuman fruktosa 30%. Komposisi tersebut kurang lebih hampir sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhuhua *et al.*, (2015) yang menggunakan diet HFHF dengan komposisi 49% kalori dari lemak, 15,4% dari protein, karbohidrat 35,6%, dan 30%



fruktosa dalam bentuk minuman. Panchal dan Brown, (2011) menyebutkan bahwa rentang komposisi diet *high fat high carbohydrate* yang dapat digunakan untuk menginduksi tikus model metabolik sindrom yaitu fruktosa 10-60%, lemak 20-40%.

Rata-rata asupan zat gizi kelompok perlakuan P1 yang telah ditambahkan dengan asupan minuman fruktosa adalah $70,29 \pm 6,13$ kkal energi, $1,84 \pm 0,30$ gram protein, $1,94 \pm 0,31$ gram lemak, dan $11,61 \pm 1,05$ gram karbohidrat. Penelitian lain yang menggunakan diet tinggi karbohidrat dan tinggi lemak jenuh pada tikus menyebutkan bahwa rata-rata asupan energi tikus sebesar 105 kkal per hari, protein 4 gram per hari, lemak 3 gram per hari dan karbohidrat 15,32 gram per hari (Rohmawati, 2009). Jika dibandingkan dengan penelitian lain maka terlihat asupan energi, protein, lemak, dan karbohidrat pada penelitian ini jauh lebih rendah.

Diet standar AIN-93M yang termodifikasi atau diet pada kelompok P2 memiliki zat gizi makro yaitu 31,32 % protein, 25,81% lemak, 42,87% karbohidrat, dan densitas energi 4,21 kkal per gram nya. Penelitian yang dilakukan oleh Dhandapani (2007) menggunakan komposisi zat gizi diet standar untuk tikus penelitiannya adalah 12% protein, 5% lemak, dan 71% karbohidrat. Jika dibandingkan maka dalam penelitian ini komposisi protein dan lemak untuk diet standar cenderung lebih tinggi, tetapi untuk karbohidrat memiliki komposisi yang lebih rendah. Namun, jika dibandingkan dengan DRI report (2005), kedua komposisi diet standar yang digunakan telah sesuai dengan rentang jumlah makronutrient yang direkomendasikan untuk diet standar yaitu protein 10-35%, lemak 20-35%, dan karbohidrat 45-65%. Berbeda dengan kelompok perlakuan P1, asupan zat gizi pada kelompok perlakuan P2 cenderung tinggi karena jumlah asupan pakan yang lebih



tinggi pula serta densitas energi yang tidak berbeda jauh dengan diet HFHF standar AIN-93M. Rata-rata asupan zat gizi makro pada kelompok P2 yaitu $51,71 \pm 7,09$ kkal energi, $4,04 \pm 0,55$ protein, $1,48 \pm 0,20$ lemak, dan $5,54 \pm 0,75$ karbohidrat. Penelitian lain yang menggunakan diet standar AIN-93M menyebutkan bahwa rata-rata asupan energi pada tikus adalah 45,94 kkal per hari (Hazarika *et al*, 2015).

Berdasarkan uji beda yang dilakukan menggunakan uji *independent T-test* pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) didapatkan hasil $p = 0,000$ ($\alpha < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara asupan energi, protein, lemak, dan karbohidrat antara kelompok P1 yang diberi diet HFHF modifikasi AIN-93 M dan kelompok P2 yang diberi diet standar AIN-93M termodifikasi. Rata rata jumlah asupan kelompok P1 $6,66 \pm 1,09$ gram, namun dengan penambahan minuman fruktosa pada kelompok P1 menyebabkan asupan total energi kelompok P1 tetap lebih tinggi dibandingkan kelompok P2 yaitu $70,29 \pm 6,13$ kkal, sedangkan asupan energi kelompok P2 $51,71 \pm 7,09$ kkal. Penambahan fruktosa juga menyebabkan asupan karbohidrat P1 jauh lebih tinggi dari kelompok P2 yaitu $11,61 \pm 1,05$ gram, sedangkan P2 hanya $5,54 \pm 0,75$.

6.2 Pengaruh Diet Terhadap Berat Badan Tikus

Jumlah asupan pakan tikus yang relatif rendah mengakibatkan berat badan tikus mengalami fluktuasi kenaikan berat badan dan cenderung lebih banyak mengalami penurunan berat badan selama proses penelitian. Rata-rata berat badan akhir tikus penelitian yaitu $276,92 \pm 35,65$ gram untuk tikus P1 dan $261,93 \pm 29,29$ untuk tikus P2. Rata-rata berat badan kelompok tikus P1 lebih tinggi dari kelompok tikus P2, namun setelah dilakukan uji *independent t-test* pada berat badan akhir



tikus didapatkan hasil $p = 0,217$ ($\alpha > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kedua kelompok penelitian.

Penurunan berat badan tikus yang terjadi selama penelitian memiliki beberapa faktor yang dapat mempengaruhi. Diantaranya yaitu asupan energi dan zat gizi yang tidak adekuat pada hewan percobaan menjadi faktor utama yang menyebabkan penurunan berat badan tikus. Jika dilihat dari total asupan antara kedua kelompok penelitian yang terdapat perbedaan signifikan, namun penurunan berat badan yang terjadi pada kedua kelompok tikus penelitian dapat disebabkan karena pemenuhan energi tikus penelitian yang kurang optimal. Menurut Simanullang (1999), kebutuhan energi yang diperlukan untuk pertumbuhan tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,36 MJ/ hari atau setara dengan 86,4 kkal/hari. Kekurangan asupan energi tersebut menyebabkan tubuh mengkompensasi dengan pemecahan cadangan energi dalam bentuk yang lain pada tubuh. Apabila asupan makanan tidak memenuhi kebutuhan energi tubuh, maka simpanan lemak dan protein akan dipecah melalui glukoneogenesis. Kompensasi berlebihan yang berlangsung lama akan menyebabkan cadangan lemak dan protein tubuh menjadi berkurang dan menyebabkan penurunan berat badan (Cluskey, 2010). Namun, apabila melihat dari penelitian lain seharusnya pemberian diet HFHF pada tikus selama 48 minggu dapat meningkatkan berat badan tikus hingga menjadi $830,8 \pm 17$ gram pada kelompok lemak dan $621,8 \pm 39$ gram pada kelompok normal (Axelsen, 2010). Untuk mencapai tikus obesitas dan diabetes memerlukan waktu yang lama, penelitian yang dilakukan Aguila *et al*, (2002) yang memberikan diet tinggi lemak pada tikus selama



12 bulan dapat meningkatkan berat badan, total kolesterol dan profil lipid lainnya secara signifikan.

6.3 Pengaruh Diet Terhadap Kadar Trigliserida Tikus

Hasil pengukuran kadar trigliserida darah tikus didapatkan hasil rata-rata kadar trigliserida kelompok perlakuan P1 yaitu $40,20 \pm 12,42$ mg/dl dan $36,50 \pm 11,19$ mg/dl pada kelompok P2. Trigliserida pada pada kelompok P1 lebih tinggi dari kadar trigliserida kelompok P2. *American Stroke Association* (2011) menyebutkan salah satu faktor utama yang dapat mempengaruhi tinggi rendahnya kadar trigliserida yaitu asupan energi, karbohidrat, dan lemak. Pada penelitian ini asupan rata-rata energi, karbohidrat, dan lemak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kedua kelompok. Rata-rata asupan lemak kelompok P1 yaitu $1,94 \pm 0,31$ gram, lebih tinggi dari kelompok P2 yaitu $1,48 \pm 0,20$ gram. Asupan lemak pada kelompok P1 yang lebih tinggi ini menjadi faktor yang utama lebih tingginya kadar trigliserida kelompok P1 dari P2. Asupan lemak yang tinggi dari makanan menyebabkan meningkatnya aktivitas lipogenesis dan FFA (*Free Fatty Acid*) atau dikenal sebagai asam lemak bebas terbentuk semakin banyak. FFA selanjutnya akan dimobilisasi dari jaringan menuju hepar dan berikatan dengan gliserol untuk membentuk triasigliserol (TG). Semakin tinggi konsumsi lemak akan semakin tinggi juga pembentukan TG di hepar dan juga semakin tinggi kadar TG dalam darah (Wong SK *et al*, 2017).

Secara statistik tidak menunjukkan hasil perbedaan yang signifikan antara rata-rata kadar trigliserida kelompok P1 dan P2 dilihat dari hasil uji *independent t-test* yang menunjukkan nilai $p = 0,402$ ($\alpha > 0,05$). Menurut Misitahari (2011) kadar



trigliserida dalam penelitian ini masih tergolong dalam rentang yang normal yaitu 26 – 145 mg/dl. Hal tersebut dapat disebabkan karena beberapa faktor, salah satu yang menjadi faktor utama yaitu asupan energi, lemak, dan karbohidrat. Rata-rata asupan energi asupan P1 masih tergolong rendah yaitu $70,29 \pm 6,13$ kkal energi, $1,84 \pm 0,30$ gram protein, $1,94 \pm 0,31$ gram lemak, dan $11,61 \pm 1,05$ gram karbohidrat. Begitu pula dengan rata-rata asupan kelompok P2 $51,71 \pm 7,09$ kkal energi, $4,04 \pm 0,55$ protein, $1,48 \pm 0,20$ lemak, dan $5,54 \pm 0,75$ karbohidrat. Penelitian yang dilakukan oleh Woodie L. dan Sarah Blythe (2017) yang menginduksi tikus menggunakan diet tinggi lemak dan tinggi karbohidrat menunjukkan rata-rata asupan energi yaitu 123 kkal, sedangkan kelompok diet kontrol memiliki asupan rata-rata 83,4 kkal menunjukkan hasil akhir rata-rata trigliserida dalam tikus yaitu 73 mg/dl.

Asupan energi, karbohidrat, dan lemak merupakan salah satu faktor utama yang dapat meningkatkan kadar trigliserida dalam darah. Peningkatan asupan energi atau asupan lemak dari makanan akan dapat menyebabkan peningkatan lipogenesis serta FFA (Free Fatty Acid) yang terbentuk juga berbanding lurus dengan peningkatan lipogenesis. Selanjutnya terjadi proses mobilisasi FFA dari jaringan lemak menuju hepar yang akan berikatan dengan gliserol membentuk triasilgliserol (TG). Tidak hanya asupan lemak saja, kadar trigliserida dalam darah juga dapat meningkat dengan tingginya asupan karbohidrat. Hal tersebut dapat terjadi karena asupan karbohidrat yang tinggi dapat meningkatkan fruktosa 2,6 bifosfat yang mengaktifkan fosfofruktokinase-1 dan merangsang terjadinya reaksi glikolisis. Meningkatnya reaksi glikolisis akan meningkatkan pula asam lemak yang kemudian bersama dengan gliserol membentuk triasilgliserol, sehingga semakin



tinggi konsumsi lemak dan karbohidrat maka semakin tinggi sintesa trigliserida di hepar yang menyebabkan tingginya kadar trigliserida dalam darah (Marks, 2006).

Jenis karbohidrat yang paling berpengaruh dalam meningkatkan kadar trigliserida yaitu fruktosa (Wulansari dan Wulandari, 2018). Pemilihan bahan fruktosa pada diet HFHE modifikasi AIN-93M yaitu dikarenakan fruktosa sedikit lebih cepat diabsorpsi jika dibandingkan dengan jenis karbohidrat yang lain (Bender, 2008).

Fruktosa yang masuk ke dalam tubuh dari makanan akan dicerna dan dapat masuk ke dalam sel melalui *glucose transporter* GLUT 5 di epitel usus halus. Proses selanjutnya yaitu sebagian besar fruktosa akan diabsorpsi oleh usus halus menuju vena porta dan masuk ke dalam kapiler melalui *glucose transporter* GLUT2 dan kemudian ke hepar. Fruktosa akan diubah oleh enzim fruktokinase menjadi fruktosa-1 fosfat, kemudian diubah menjadi triose fosfat oleh enzim aldolase B, proses ini terjadi di dalam hepatosit. Penumpukan triose fosfat akan menstimulasi pembentukan glikogen dan asam lemak dari karbon pada fruktosa melalui jalur metabolisme yang dikenal dengan istilah *de novo lipogenesis* (Tappy L, 2012). *De novo lipogenesis* akan memicu pembentukan jaringan lemak pada abdominal yang merupakan bagian penting dalam perkembangan terjadinya hipertrigliseridemia dan obesitas (Havel PJ, 2005). Pembentukan asam lemak bebas dari proses *de novo lipogenesis* yang berlebihan akan menurunkan sensitivitas insulin sehingga menyebabkan menurunnya serapan glukosa oleh jaringan. Keadaan ini dapat memicu terjadinya proses lipolisis sehingga menyebabkan asam lemak bebas dan gliserol yang dihasilkan lebih banyak. Asam lemak bebas dan gliserol akan masuk ke dalam jaringan adiposa dalam bentuk trigliserida. Siklus ini akan terus terjadi



berulang sehingga semakin banyak trigliserida yang terbentuk dan terakumulasi di dalam darah (Mammikutty *et al.* 2014).

Namun, hasil yang berlawanan terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Barbosa *et al.*, (2007) mengenai pemberian diet tinggi fruktosa pada tikus mencit C57BL/6 dan tikus wistar. Pada mencit C57BL/6 didapatkan hasil penurunan kadar insulin, trigliserida, kolesterol total dan *free fatty acid*. Sebelum diberikan suplementasi fruktosa kadar trigliserida mencit C57BL/6 $34,2 \pm 1,8$ mg/dl. Namun, setelah diberikan suplementasi fruktosa mejadi $25,2 \pm 0,9$ mg/dl. Pada tikus penurunan terjadi pada kadar kolesterol. Walaupun tikus dan mencit sama-sama tergolong dalam *family Muridae* namun yang lebih menggambarkan kondisi fisiologis manusia adalah tikus. Pada penelitian tersebut tikus yang digunakan berbeda dengan tikus pada penelitian ini. Perbedaan respon metabolik pada tikus dapat terjadi karena faktor genetik dan faktor lingkungan, perubahan tersebut lebih spesifik terjadi pada strain tikus, bukan pada genus/marga tikus tersebut (Scrive *et al.*, 1993).

Pada penelitian ini sebelum pengambilan sampel darah tikus dipuasakan selama delapan jam. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Triliana dan Hardadi (2018) pada tikus wistar yang diberi diet atherogenik dan dipuasakan selama 11 jam dapat mempengaruhi hasil kadar LDL. Namun, tidak berpengaruh terhadap kadar trigliserida

6.4 Pengaruh Diet Terhadap Kadar LDL Tikus

Berdasarkan hasil pengukuran kadar LDL tikus didapatkan hasil pengukuran rata-rata kadar LDL tikus percobaan kelompok P1 yaitu $30,25 \pm 8,29$ mg/ dl dan



kadar LDL tikus percobaan kelompok P2 adalah $24,74 \pm 8,07$ mg/dl. Walaupun rata-rata kadar LDL pada kelompok P1 lebih tinggi dibandingkan dengan kadar LDL P2, uji *independent t-test* menunjukkan perbedaan antara kedua kelompok tersebut tidaklah signifikan antara rata-rata kadar LDL tikus percobaan kelompok P1 dan kelompok P2. Namun, rata-rata kadar LDL pada kelompok P1 dapat dikatakan telah masuk dalam kategori tinggi karena menurut Herwiyarirasanta *et al.* (2010) menyebutkan bahwa batas normal kadar LDL pada tikus adalah 7-27 mg/dl.

Rata-rata kadar LDL pada kelompok P1 yang lebih tinggi disebabkan karena asupan lemak yang lebih tinggi pada kelompok P1 yaitu sebanyak 1,94 gram dan 1,48 pada kelompok perlakuan P2. Berdasarkan uji statistik, rata-rata asupan lemak per hari pada kedua kelompok tersebut menunjukkan perbedaan yang signifikan. Selain itu, persentase lemak dalam kelompok perlakuan P1 (51,64%) lebih tinggi jika dibandingkan dengan persentase lemak pada kelompok P2 (25,81%). Penelitian lain yang dilakukan oleh Vedova D. *et al.* (2016) menunjukkan kadar LDL yang lebih tinggi yaitu rata-rata LDL pada kelompok tikus yang diberi diet *high fat + fructose* mencapai $63,9 \pm 5,7$ mg/dl dengan komposisi pakan HFD memiliki densitas energi 5,36 kkal/ gram dan untuk kelompok kontrol memiliki densitas energi 3,12 kkal/gram pakan. Dalam penelitian ini densitas energi pakan untuk kelompok P1 adalah 5,08 kkal/gram pakan dan pada kelompok P2 yaitu 4,01 kkal/gram pakan. Jika diperhatikan maka densitas energi pada pakan kelompok P2 lebih tinggi dari pada penelitian yang dilakukan oleh Vedova D. *et al.* (2016). Hal tersebut diperkirakan yang menyebabkan tidak signifikannya kadar LDL antara kelompok P1 dan P2.

Selain itu terdapat penelitian yang dilakukan oleh Hartoyo dan Astuti (2002) yaitu



pemberian tambahan kolesterol dalam pakan sebesar 4 mg/g selama 28 hari tidak berpengaruh signifikan pada total kolesterol, trigliserida, HDL serta LDL dalam darah tikus. Penelitian lain yang mendukung yaitu dilakukan oleh Apririan (2008) dengan pemberian diet tinggi Kolesterol, asupan lemak pada tikus percobaan dalam penelitian ini sebanyak 3,6 mg/ekor/hari selama 20 hari tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap TG dan LDL pada tikus percobaan.

Secara genetis, terdapat perbedaan komposisi dan metabolisme plasma lipid antara tikus dan manusia. LDL merupakan lipoprotein yang bertugas mengangkut kolesterol, pada manusia LDL membawa hampir 60-70% kolesterol plasma yang akan disimpan dalam jaringan adiposa. Berbeda dengan manusia, pada tikus yang bertugas menjadi pengangkut terbesar kolesterol plasma adalah HDL, sehingga kadar HDL dalam darah cenderung lebih tinggi dibanding LDL (Pellizon, 2008). Tikus lebih resisten dalam peningkatan LDL dan perkembangannya menuju atherosklerosis, tetapi dengan pemberian diet modifikasi tinggi lemak dan kolesterol akan dapat memberikan perbedaan kadar plasma LDL pada tikus jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (Gordon MS, *et al.* 2015).

Rata-rata asupan lemak pada kelompok P1 sebanyak 1,94 gram/hari dan 1,48/hari pada kelompok perlakuan P2 juga menunjukkan bahwa konsumsi lemak merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar LDL darah, kadar LDL dalam darah tergantung pada konsumsi lemak dari pakan. Lemak yang dikonsumsi tikus merupakan bahan dasar dalam biosintesis kolesterol yang akan diangkut oleh lipoprotein LDL dan HDL (Wong *et al.*, 2017). Namun, jika terjadi penurunan kadar LDL akan dapat menyebabkan jumlah sekresi kolesterol LDL ke



hati yang diangkut oleh HDL juga menurun. LDL mengangkut 65% kolesterol dari hati ke seluruh jaringan tubuh sedangkan HDL mengangkut 20% kolesterol ke hati untuk disekresikan (Muchtadi *et al.*, 1993).

Kadar LDL berkorelasi positif dengan kadar kolesterol dimana kolesterol yang diangkut LDL tidak hanya berasal dari dalam tubuh (jalur endogen), melainkan juga berasal dari makanan (jalur eksogen). Kolesterol memang memiliki fungsi sebagai bahan untuk pembentukan cairan empedu, dinding sel, vitamin, dan hormon tertentu seperti hormon seks (Harini MD, 2009). Namun, konsumsi kolesterol yang berlebihan dari makanan dapat dengan mudah meningkatkan kadar kolesterol dalam darah. Kolesterol tidak hanya dibentuk dari metabolisme lemak saja, melainkan dapat dihasilkan dari karbohidrat dan protein dari siklus asetil ko-A (Sloane, 2016). Secara alamiah, tubuh akan memulihkan keseimbangan ini dengan sendirinya agar proses aterosklerosis tidak mudah terjadi. Akan tetapi dalam keadaan tertentu tidak jarang keseimbangan ini dapat mengalami gangguan dalam jangka waktu yang lama (Sudikno *et al.*, 2016). Pembesaran sel lemak dalam tubuh terutama lemak visceral menunjukkan adanya peningkatan aktivitas lipolitik yang mengakibatkan meningkatnya asam lemak bebas melalui sirkulasi portal menuju hati. Kadar asam lemak bebas pada sirkulasi portal yang tinggi akan menstimulasi pementukan trigliserida di hati. Trigliserida yang terbentuk kaya akan LDL dan VLDL akan dihidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase dan disekresikan dalam VLDL serta apo-B yang merupakan protein utama di hati. Tingginya sintesa VLDL tersebut dapat menyebabkan kadar LDL meningkat yang merupakan hasil penguraian dari VLDL di hati (Gordon MS., *et al.* 2015).



6.5 Keterbatasan Penelitian

Pakan yang digunakan dalam penelitian beberapa kali tidak seragam dalam tekstur hingga warnanya. Tekstur pakan yang berubah menyebabkan penurunan nafsu makan tikus sehingga asupan menjadi rendah. Densitas energi pakan yang digunakan pada kelompok P2 cenderung terlalu tinggi dan tidak terpaut jauh dari densitas energi pada kelompok P1 sehingga dapat menyebabkan tingginya asupan energi pada kelompok P2. Minuman fruktosa yang diberikan pada tikus beberapa kali mengalami kebocoran yang menyebabkan bulu tikus menjadi basah dan kandang menjadi lembab. Hal tersebut dapat menyebabkan tumbuhnya bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada tikus, seperti penyakit telo pada beberapa tikus penelitian. Selain itu pada dasarnya tikus merupakan hewan yang hidup berkoloni. Namun, apabila tikus ditempatkan dalam kandang *single* hal tersebut dapat menyebabkan stres pada tikus penelitian.

Penelitian ini hanya untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan pada kadar LDL dan TG pada dua kelompok hewan percobaan yang diberi diet berbeda. Data yang diambil hanya dari post-test sehingga tidak bisa diketahui perubahan kadar TG dan LDL pada awal hingga akhir penelitian. Oleh karena itu, penelitian ini tidak dapat mengetahui secara pasti penyebab terjadinya perbedaan kadar TG dan LDL pada dua kelompok hewan percobaan tersebut.



BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari hasil penelitian ini adalah :

1. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar trigliserida tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet *high fat high fructose* (HFHF) modifikasi standar AIN-93M dan diet standar AIN-93M termodifikasi.
2. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet *high fat high fructose* (HFHF) modifikasi standar AIN-93M dan diet standar AIN-93M termodifikasi.
3. Rata-rata asupan energi kelompok tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet *high fat high fructose* (HFHF) modifikasi standar AIN-93M adalah $70,29 \pm 6,13$ kkal, sedangkan rata-rata asupan energi kelompok tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* jantan yang diberi diet diet standar AIN-93M termodifikasi yaitu $51,71 \pm 7,09$ kkal.
4. Rata-rata kadar trigliserida tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet *high fat high fructose* (HFHF) modifikasi standar AIN-93M adalah $40,20 \pm 12,42$ mg/dl. Rata-rata kadar trigliserida tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet standar AIN-93M termodifikasi adalah $36,50 \pm 11,19$ mg/dl.
5. Rata-rata kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL) tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet *high fat high fructose* (HFHF)



modifikasi standar AIN-93M adalah $30,25 \pm 8,29$ mg/dl. Rata-rata kadar trigliserida tikus *Rattus norvegicus* Galur *Sprague dawley* Jantan yang diberi diet standar AIN-93M termodifikasi adalah $24,74 \pm 8,07$ mg/dl.

7.2 Saran

1. Dalam setiap pembuatan pakan hendaknya memperhatikan keseragaman tekstur agar tidak terjadi perubahan nafsu makan pada tikus penelitian.
2. Kandang yang digunakan untuk pemeliharaan tikus hendaknya tidak menggunakan kandang individual agar tidak menyebabkan stres pada tikus karena pada dasarnya tikus merupakan hewan yang hidup secara berkoloni.
3. Perlu diperhatikan juga lama masa perlakuan yang tepat sehingga diet yang diberikan dapat mempengaruhi variabel yang diteliti yaitu kadar TG dan LDL.
4. Sebaiknya uji kadar trigliserida dan LDL tidak hanya dilakukan *post-test* saja, hendaknya dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan agar dapat mengetahui perubahan kadar trigliserida serta LDL pada awal hingga akhir penelitian.



DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, Abul K., Jhon C. Aster, Vinay Kumar. 2014. *Robbins and Cotran Pathology Basic of Disease 9th Edition*. Philadelphia : Elsevier
- Adiels, M., Olofsson, S.O., Taskinen, M.R., and Boren, J. Overproduction of very low-density lipoproteins is the hallmark of the dyslipidemia in the metabolic syndrome. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008. 28:1225–1236.
- Algayed K.H., Fawaz Mohammed Alharbi , Talal Saad Almutairi , Mohammed Saleh Alaskar , Ahmad Fawzi Rammal , Mohammed Mohammed Alrahili. Prevalence of Dyslipidemia in Obese Patients in Saudi Arabia. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine.* 2017.Vol. 69 (8), Page 3054-3057
- Advisory Council on the Misues of Drugs. 2013. *Ketamine: a review of use and harm.*
- Aguila, MC., Carla Cota Loureiro, Alessandra da Rocha Pinheiro, Carlos Alberto Mandarim-de-Lacerd. Lipid Metabolism in Rats Fed Diets Containing Different Types of Lipids. *Arq Bras Cardiol.* 2002 ; 78: 32-8.
- American Stroke Association. 2011. *Triglycerides: Frequently Asked Questions.* USA : American Stroke Association
- Apriria, EP.2008. Profil Trigliserida dan Kolestearol Darah Tikus Putih yang diberi pakan mengandung gulai daging. Skripsi Program Sru di Teknologi Hasil Ternak. Bogor : IPB
- Apridhianti, Renindyo 2017. *Analisis Kadar Lemak Pada Pakan Modifikasi AIN-93M Dibandingkan Dengan Pakan AIN-93M_Dyets Inc.* (abstrak) Sarjana thesis, Universitas Brawijaya.
- Axelsen, L. N., Lademann, J. B., Petersen, J. S., Holstein-Rathlou, N.-H., Ploug, T., Prats, C., ... Kjølbye, A. L. Cardiac and metabolic changes in long-term high fructose-fat fed rats with severe obesity and extensive intramyocardial lipid accumulation. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2010: 298(6), R1560–R1570.
- Azain, M.J. Role of fatty acids in adipocyte growth and development. *Journal of Animal Science.* 2004, 82: 916-924.



Balcombe JP .2006. *Laboratory environments and rodents behavioral needs : a review*. USA : Laboratory Animal Ltd.

Barasi, Mary E. 2007. *At a Glance Ilmu Gizi*. Jakarta : Erlangga Medical Series.

Berneis, K.K., and Krauss, R.M. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J. Lipid Res.* 2002, 43:1363–1379

Bjornson, Elias et al., Kinetics of plasma triglycerides in abdominal obesity. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* Volume 28 _ Number 1 _ February 2017

Bournat JC & Brown CW. Mitochondrial dysfunction in obesity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2010, 17: 446–452

Bowen, L. Association between diet, physical activity and body fat distribution : a cross sectional study in Indian population . *BMC Public Health.* 2015, 15: 281-292

Bravo, Paco E., Stephen Morse, David M. Borne, Erwin A. Aguilar, Efrain Reisin. Leptin and hypertension in obesity. *Vascular Health and Risk Management.* 2006, :2(2) 163–169

Bray, G.A., and Sara L.2010. *Personal Nutrition : Weight Managment*. Seventh Edition. USA:Wandsworth. P.292-320

Brower, M., Martha Grace , Catherine M. Kotz , Vijay Koya. Comparative analysis of growth characteristics of Sprague Dawley rats obtained from different sources. *Laboratory Animal Research.* 2015, Vol. 31, No. 4, p 2

Buettner, R., K. Parhofer, et al. 2006. "Defining high-fat diet rat models: metabolic and molecular effect of different fat types" *Journal of Molecular Endocrinology* 36(485-501)

Chow, P., Robert, dan Bryan E. Ogden. 2007. *Using Animal Models on Biomedical Research : A Primer for the Investigator*. Singapore : World Scientific Co. ISBN : 978-979-448-988-8.

Clayton, P. E. Indraneel Banerjee, Philip G. Murray and Andrew G. Renehan. 2011. Growth hormone, the insulin-like growth factor axis, insulin and cancer risk. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2011 7, 11–24 (2011); doi:10.1038/nrendo.2010.171

Crowin, Elizabeth. 2008. *Buku Saku Patofisiologi Edisi 3*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. ISBN : 978-979-448-988-8

de Souza RJ, Bray GA, Carey VJ, et al. Effects of 4 weight-loss diets differing in fat, protein, and carbohydrate on fat mass, lean mass, visceral adipose



tissue, and hepatic fat: results from the POUNDS LOST trial. *Am Journal Clinical Nutrition*. 2012, 95: 614–25.

Deng Y & Scherer PE. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann N Y Acad Sci*. 2010; 1212: E1–E19.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (RI). 2007. Hasil *Riset Kesehatan Dasar tahun 2013*. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, hal. 224.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (RI). 2010. Hasil *Riset Kesehatan Dasar tahun 2013*. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, hal. 224.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (RI). 2013. Hasil *Riset Kesehatan Dasar tahun 2013*. Jakarta: Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, hal. 224.

Dhandapani S, Subramanian VR, Raja Gopal S, Namasivayam N. Effect of High Fat diet on cholesterol distribution in plasma lipoproteins, cholesterol esterifying activity in leucocytes, and erythrocyte membrane components studied : importance of body weight. 2007 : 96(3):251-255

DiaSys. 2009. Triglyceride Precipitant. Germany : Diagnosis System

Dissard R, Klein J, Caubet C, Breuil B, Siwy J, Hoffman J..., Schanstra JP. Long term metabolic syndrome induced by a high fat high fructose diet leads to minimal renal injury in C57BL/6 mice. *Journal PLOS One*. 2013, 8:10

Dorland. 2015. *Kamus Saku Kedokteran Edisi 29*. Singapura : Elsevier

Duffy, Peter H., Sherry M. Lewis, Martha A. Mayhugh, Andy McCracken, Brett T. Thorn, Philip G. Reeves, Shirley A. Blakely, Daniel A. Casciano, Ritchie J. Feuers. Effect of the AIN-93M Purified Diet and Dietary Restriction on Survival in Sprague-Dawley Rats: Implications for Chronic Studies. *Nutrition and Aging*. 2002, 132: 101–107.

Dwyer-Lindgren, Greg Freedman, Rebecca E Engell, Thomas D Fleming, Stephen S Lim, Christopher JL Murray and Ali H Mokdad. Prevalence of physical activity and obesity in US counties, 2001–2011: a road map for action. *Population Health Metrics*. 2013, 11:7

European Commission, 2010. *Seventh Report on the Statistics on the Number of Animals used for Experimental and other Scientific Purposes in the Member States of the European Union*. Brussels, 5.12.2013 SWD(2013) 497 final



Faulkner, Jessica L., Thiago Bruder-Nascimento, and Eric J. Belin de Chantemele. *The regulation of aldosterone secretion by leptin: implications in obesity-related cardiovascular disease*. 2017, Volume 26 Number 00 DOI:10.1097/MNH.0000000000000384

Ferreia E, Maraiza Aparecida Silva, Aureluce Demonte dan Valdir Augusto Neves. Soy b-Conglycinin (7S Globulin) Reduces Plasma and Liver Cholesterol in Rats Fed Hypercholesterolemic Diet. *J Med Food* 14 (1=2)2011,94-100

Guyton A.C., Hall J.E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 9*. Setiawan I., Ken A.T, Alex S., Terjemahan: Setiawan S. Editor. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Gordon M.S, Hailong Li, Xiaoting Zhu, Amy S. Shah, L. Jason Lu, and W. Sean Davidson. A Comparison of the Mouse and Human Lipoproteome: Suitability of the Mouse Model for Studies of Human Lipoproteins. *J Proteome Res*. 2015 June 5; 14(6): 2686–2695.

Handayani D, Chen J, Meyer BJ, Huang XF. Dietary Shiitake Mushrooms (*Lentinus edodes*) Prevents Fat Deposit and Lowers Tryglicerides in Rat Fed a High Fat Diet. *Journal of Obesity*. 2012, 3: 1009-1019

Handayani, D., J. Chen, B. J Meyer, dan X. F.Huang. Dietary Shiitake Mushroom (*Lentinus edodes*) Prevents Fat Deposition and Lowers Triglyceride in Rats Fed a High-Fat Diet. Metabolic Research Centre, Institute, University of Wollongong. *Journal of Obesity*. 2011, Volume 2011, p. 2-3

Hansson, G. K. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. *New England Journal of Medicine*. 2005: No. 352:1685-95

Hardinsyah dan Supriasa. 2017. *Ilmu Gizi Teori dan Aplikasi*. Jakarta : EGC hal. 283

Harini M.D. 2009. Blood Cholesterol Level of Hypercholesterolemia Rat (*Rattus norvegicus*)After VCO Treatment. *Journal Bioscience* Vol.1 No 2 : 53-58

Hartoyo, A. dan M. Astuti. 2002. Aktivitas antioksidatif dan hipokolesterolemik ekstrak teh hijau dan teh wangi pada tikus yang diberi ransom kaya asam lemak tidak jenuh ganda. *J. Teknologi dan Industri Pangan*. 8(1):78-85

Hasra, I Made. Efek Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Profil Lemak Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Kedokteran*.2014, Volume 3 Nomor 1 Edisi Maret 2014.

Havel P.J. Dietary Fructose: Implications for Dysregulation of Energy Homeostasis and Lipid/Carbohydrate Metabolism. *Nutrition Reviews*, 2005: Vol. 63, No. 5

Havel PJ. Dietary fructose: implications for dysregulation of energy homeostasis and lipid/carbohydrate metabolism. *Nutr Rev* 2005;63: 133–57.

Hazarika, A., Himadri K., Mohan C., dan Rajlakhsmi D. Withdrawal from High-Carbohydrate, High-Saturated-Fat Diet Changes Saturated Fat Distribution and Improves Hepatic Low-Density-Lipoprotein Receptor Expression to Ameliorate Metabolic Syndrome in Rats. *Nutrition*. 2017, 38 :95–101

Herrera, B.M. and Cecilia M. Lingdren. The Genetic of Obesity. *Curr Diab Rep*.2010, 10:498–505

Herwiyaritasanta, Intan, Eduardus Bimo Aksono, dan Ratna Damayanti. 2010. *Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (Rattus norvegicus) With High Fat Diet*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. <http://vetmed.fkh.unair.ac.id/doc/Angkatan%202006/ARTIKEL%20ILMIAH%20INTAN.docx> Diakses pada tanggal 23 November 2018 pukul 00.00 WIB

Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med* 2001; 345: 730–737

Huby AC, Antonova G, Groenendyk J, et al. Adipocyte-derived hormone leptin is a direct regulator of aldosterone secretion, which promotes endothelial dysfunction and cardiac fibrosis. *Circulation*. 2015, 132:2134–2145.

Immanuel, Suzanna dan Agustyas Tjiptaningrum. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 (Lp-PLA2) Sebagai Pertanda Penyakit Jantung Koroner. Departmen Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia Jakarta. *Majalah Kedokteran Indonesia*.2010: volume 60, Nomor 1.

Indra, M. Rasjad. DASAR GENETIK OBESITAS VISERAL. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006, Vol. XXII, No.1, April 2006

Isselbacher et al. 1991. SCIENCE, MEDICINE, AND ANIMALS [http://dl.books.org/genesis/49700/babe0f24c2ba45401d22ac2a573035d3/_as/%5BCommittee_on_the_Use_of_Animals_in_Research%5D_Scie\(Bookos.org\).pdf](http://dl.books.org/genesis/49700/babe0f24c2ba45401d22ac2a573035d3/_as/%5BCommittee_on_the_Use_of_Animals_in_Research%5D_Scie(Bookos.org).pdf). Diakses Tanggal 22 April 2018 pukul 11.34 WIB



Janvier Labs. 2017. RESEARCH MODELS SPRAGUE DAWLEY Rat. France, 2017-01-ENG-RM-03

https://www.janvierlabs.com/tl_files/_media/images/FICHE_RESEARCH_MODEL_SPRAGUE_DAWLEY.pdf

Jornayvaz FR, Samuel VT, Shulman GI. The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Annu Rev Nutr.* 2010, 30:273, 2010

Kelly, T., Yang, W., Chen, C., Reynolds, K., & He, J. Global Burden of Obesity in 2005 and Projections to 2030. *International Journal of Obesity.* 2008,32: 1431-37

Kleinert, M., Christoffer Clemmensen, Susanna M. Hofmann, Mary C. Moore, Simone Renner, Stephen C. Woods, Peter Huypens..., Matthias H. Tschöp. Animal models of obesity and diabetes mellitus. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Natur. *ENDOCRINOLOGY.* 2018. Published online 19 Jan 2018 doi:[10.1038/nrendo.2017.161](https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161)

Kolderup A., and Birger Svihus. Fructose Metabolism and Relation to Atherosclerosis, Type 2 Diabetes, and Obesity. *Journal of Nutrition and Metabolism.*2015, Volume 2015, p.12

Kram DJ, Keller KA., editors. Use of Laboratory Animals in toxicology studies. In: Toxicology testing Handbook. New York USA: Marcel Dekker; 2001. P.20-22

Krinke G.J. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat* 1ST Edition. London: Academic Press Elsevier. ebook ISBN: 9780080533469

Landsberg, L., Louis, J., Aronne, Lawrence, J., Beilin. Obesity-Related Hypertension: Pathogenesis, Cardiovascular Risk, and Treatment—A Position Paper of the The Obesity Society and the American Society of Hypertension. *Obesity.* 2013. VOLUME 21.NUMBER 1.JANUARY 2013 doi:[10.1002/oby.20181](https://doi.org/10.1002/oby.20181)

Lauren Woodie dan Sarah Blythe. The differential effects of high-fat and highfructose diets on physiology and behavior in male rats. *Nutritional Neuroscience.* 2017. : 15 February 2017, At: 13:26

Lee JS, Jun DW, Kim EK, Jeon HJ, Nam HH, et al. Histologic and Metabolic Derangement in High-Fat, High-Fructose, and Combination Diet Animal Models. *Scientific World Journal.* 2015;2015306326.





Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C, et al. *Highfructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications.* *Nutr Metab (Lond).* 2016, 13:15.

Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof MR, Haji Suhaimi F. The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats. *BioMed research international.* 2014. Volume 2014

Mann, Jim dan Stewart T. 2014. *Buku Ajar Ilmu Gizi.* Jakarta:EGC.

Marcovina, S., and Packard, C.J. Measurement and meaning of apolipoprotein A1 and apolipoprotein B plasma levels. *J. Intern. Med.* 2006,259:437–446.

Maria C. Della Vedova, Marcos D. Muñoz, Lucas D. Santillan, Maria G. Plateo-Pignatari, Maria J. Germanó, Martín E. Rinaldi Tosi, et al. A Mouse Model of Diet-Induced Obesity Resembling Most Features of Human Metabolic Syndrome. *Nutritionand Metabolic Insights.*2016.:9

Marie Ng, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. *Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013,* *The Lancet.* 2014, 9945 (384): 766-781

Marks DB. PHd. 2006. *Biokimia Kedokteran Dasar.* Jakarta :EGC

Mayes PA. *Pengangkutan dan penyimpanan lipid, sintesis pengangkutan dan ekskresi kolesterol.* Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, editor. *Biokimia Harper* (Edisi ke-25). Jakarta: EGC, 2003; p.254-81.

McPherson, Richard A. dan Matthew Pincus, 2011. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratorium Methods : Expert Consult – Online and Print,* 22e

Misitahari, Made Ita.2011. *Pemberian Growth Hormone Menurunkan Kadar Tumor Necrosis Factor- α (TNF α) pada Tikus Jantan yang Dislipidemia.* http://www.pps.unud.ac.id/thesis/pdf_thesis/unud-404-152117548-made%20ita.pdf. Diakses pada tanggal 23 November 2018 pukul 00.14 WIB

Mitra, S., Tanu Goyal, dan Jawahar L. Mehta. Oxidized LDL, LOX-1 and Atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther.*2011: 25:419–429

Mozaffarian D, Ludwig DS. 2015 *US Dietary Guidelines: lifting the ban on total dietary fat.* *JAMA* 2015;313:2421–2



Muchtadi, D., N. S. Palupi dan M. Astawan. 1993. *Metabolisme Zat Gizi. Sumber, Fungsi dan Kebutuhan bagi Tubuh Manusia*. Pustaka Sinar Harapan, Jakarta.

Murray, Robert K., David A. Bender, Kathleen M. Botham, Peter J. Kennely, Victor W. Rodwell, P. Anthony Weil. 2016. *Biokimia Harper Edisi 29*. Jakarta : EGC

National Institute of Health. (2001). *ATP III Guidelines At-A-Glance Quick Desk Reference*. National Cholesterol Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute. NIH Publication No. 01-3305

National Institutes of Health. 2005. *The Practical guide : identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults*, National Heart, Lung, and Blood Institute. NIH Publication No. 00-4084

National Research Council. 1978. *Nutrition Requirement of Laboratory Animal*. National Academy of Science, Washington DC . p. 7-15

Nguyen, Thang dan David C.W. Lau. The Obesity Epidemic and Its Impact on Hypertension. *Canadian Journal of Cardiology*. 2012, 28 (2012) 326–333 doi:10.1016/j.cjca.2012.01.001

Olofsson, S.O., and Boren, J. Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 2005, 258:395–410

Olubobokun TH, Ita SO, Aluko EO, Okon UA, Antai AB, Osim EE. The Relationship between Nigerian Bonnylight Crude Oil-Induced Hypoglycemia and Endogenous Serum Insulin Concentration in Male Wistar Rats: The Role of Antioxidant Vitamin C and E. USA: American Journal of Molecular Biology. 2014

Osman, R. L'Aller, P., Elgharib, N., and Tardif, J. Critical Appraisal of CReactive Protein Throughout The Spectrum of Cardiovascular Disease. *Vascular Health and Risk Management*, 2006. Vol. 2(3): 221–237

Panchal, SK. dan Lindsay Brown. Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2011, Article ID 351982, 14

Pellizon, Michael A. Diet-Induced Atherosclerosis/ Hypercholesterolemia in Rodent Models. 2008. *Brief Scientific Literature Review*. Research Diets. Inc



Pellizzon, Michael A. 2008. *Diet-induced Atherosclerosis/ Hypercholesterolemia in Rodent Models*. Brief Scientific Literature Review . Research Diets. Inc

Pollak, Michael. 2012. *The insulin and insulin-like growth factor receptor family in neoplasia: an update*. VOLUME 12 MARCH 2012 doi:10.1038/nrc3215

Pozza, C. dan Andrea M. Issidori. What's Behind the Obesity Epidemic. Springer International Publishing A. Laghi, M. Rengo (eds.), *Imaging in Bariatric Surgery*. 2018. DOI 10.1007/978-3-319-49299-5_1

Puslitbang Peternakan. 2017. Booklet Juknis Rodensia. (Online) <https://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/booklet/juknis-rodensia-2107/isi-juknis-rodensia-2017.pdf> Diakses pada tanggal 7 Desember 2018 pukul 15.54 WIB

Rebuffe-Scrive M, Surwit R, Feinglos M, Kuhn C, Rodin J. Regional fat distribution and metabolism in a new mouse model (C57BL/6J) of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1993; 42:1405-1409.

Reeves, Phillip G., Forrest H. Nielsen, dan George C. Fahey. AIN-93M Purified Diets for Laboratory Rodents : Final Report of The American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on Reformulation of The AIN-76A Rodent Diet. *JN Journal of Nutrition*. 1993. <http://jn.nutrition.org>.

Riano-Galan et al., Proatherogenic Lipid Profile in Early Childhood: Association with Weight Status at 4 Years and Parental Obesity. *Journal Pediatric* .2017;187:153-7

Ridwan E. Etika Pemanfaatan Hewan Percobaan dalam Penelitian Kesehatan. *Jurnal Indonesia Medical Association*. (2013);63: 10:424-432.

Riesanti, Djajeng Galuh., Masdiana C Padaga, dan Herawati. 2012. *Kadar HDL, Kadar LDL dan Gambaran Histopatologi Aorta Pada Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra)*. Tugas Akhir. Universitas Brawijaya, Malang

Rohmawati N dan Emi WN. Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus oil*) Terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus (*Rattus norvegicus strain Wistar*) dengan Diet Aterogenik. *Jurnal IKESMA* Volume 5 No 2 Universitas Jember

Rolls BJ. The Supersizing of America: portion size and the obesity epidemic. *Nutr Today*. 2003, 38(2):42–53

Rufaida, Fenny., Aulanni'am, dan Sri Muwarni. 2013. *Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL) dan Gambaran Histopatologis Aorta*



Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Tugas Akhir. Universitas Brawijaya. Malang

Rustiawan, A Vanda J. 1990. *Pengujian mutu pangan secara biologis*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Institute Pertanian Bogor

Rutledge, A.C., and Adeli, K. Fructose and the metabolic syndrome: pathophysiology and molecular mechanisms. *Nutr. Rev.* 2007;65:S13–S23

Sangupta, Pallav. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013. Vol 4, No 6, June, 2013 629

Schwartz MW, Seeley RJ, Zeltser LM, et al. Obesity pathogenesis: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*, 2017;38:267–96.

Scott M. Gordon, Hailong Li, Xiaoting Zhu, Amy S. Shah, L. Jason Lu, and W. Sean Davidson. A Comparison of the Mouse and Human Lipoproteome: Suitability of the Mouse Model for Studies of Human Lipoproteins. *J Proteome Res*. 2015.; 14(6): 2686–2695

Sefcikova, Z. dan S. Mozes. Effect of Early Nutritional Experience on The Feeding Behaviour of Adult Female Rats. *Vet. Med.* 2002; 47 (10-11) : 315-322.

Sena CM, Metafome P, Louro T, Nunes E, Seica RM. 2014. Effect of Atorvastatin and Insulin in Vascular Dysfunction Association With Type 2 Diabetes Czech Republic: Academy of Science of the Czech Republic

Sharp P, Villano J. 2013. *The Laboratory Rat. Second edition*. Boca Raton: CRC Press

Shaw R, Festing MFW, Peers I, Furlong L. The use of factorial designs to optimize animal experiments and reduce animal use. *ILAR Journal*. 2002;43:223-32.

Shayo, GA. & Mugusi, FM. *Prevalence of Obesity and Associated Risk Factors among Adults in Konindoni Municipal District, Dar es Salaam Tanzania*. Biomedical Central: *Public Health*. 2011. 11: 365

Silalahi, Jansen. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta : Penerbit Kansius. ISBN 979-2-1192-1.

Sitia S., L.Tomasoni, F. Atzeni, G. Ambrosio, C. Cordiano, A. Catapano, S. Tramontana, F. Perticone, P. Naccarato, P. Camici, E. Picano, L. Cortigiani, M. Bevilacqua, L. Milazzo, D. Cusi, C. Barlassina, P. Sarzi-



- Puttini, M. Turie. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmunity Reviews* 9. 2010: 830–834
- Sloane, Ethel. 2016. *Anatomy dan Fisiologi untuk Pemula*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Editor Palupi Widyastuti ISBN : 979-448-622-1 p.306
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. hlm. 37- 57.
- Soehardi, S. 2004. *Memelihara Kesehatan Jasmani melalui Makanan*. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Sok Kuan Wong, Kok-Yong Chin, Fariyah Hj Suhaimi, Fairus Ahmad, Soelaiman Ima-Nirwana. The Effects of a Modified High-carbohydrate High-fat Diet on Metabolic Syndrome Parameters in Male Rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*.2017.DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-119352>
- Solichah, Zumrotus. 2007. *Mengenal Berbagai Jenis Tikus*. Banjarmasin : BALABA
- Stanhope KL, Havel PJ. Fructose consumption: considerations for future research on its effects on adipose distribution, lipid metabolism, and insulin sensitivity in humans. *The Journal of nutrition*. 2009;139(6):1236S-41S.
- Sudikno, Hidayat Syarief, Cesilia Meti Dwiriani, Hadi Riyadi, Julianti Pradono. Hubungan Obesitas dengan Profil Lipid pada Orang Dewasa Umur 25-65 Tahun di Kota Bogor. 2016. *Journal of The Indonesian Nutrition Association*.Gizi Indone 2016, 39 (2):81-92
- Suzuki K, Simpson KA, Minnion JS, et al: The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocrinology Journal*,2010 57:359.
- Syarkiah, Loeki, E.F., Astutik,P. 2008. Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah Terhadap Pembentukan Foam Cell pada Aorta Tikus Galur Wistar dengan Diet Aterogenik. Universitas Brawijaya
- Tappy L. Q&A:'toxic'effects of sugar: should we be afraid of fructose? 2012. *BMC biology*. 2012;10(1):42
- Tsalisavrina, Iva, Djoko Wahono, dan Dian Handayani. PENGARUH PEMBERIAN DIET TINGGI KARBOHIDRAT DIBANDINGKAN DIET TINGGI LEMAK TERHADAP KADAR TRIGLISERIDA DAN HDL DARAH PADA Rattus novergicus galur wistar. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006, Vol. XXII, No. 2, Agustus 2006 82

Welsh, Jean A., Andrea Sharma, Jerome L. Abramson, Viola Vaccarino, Cathleen Gillespie, Miriam B. Vos. Caloric Sweetener Consumption and Dyslipidemia Among US Adults. *Journal American Medical Association*.2010, Vol 303, No. 15

WHO. (1998). *Obesity: Preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: World Health Organisation.

Wibowo, Trimanto. 2009. *Pengaruh Pemberian seduhan kelopak rosella (Hibiscus sabdariffa) terhadap kadar trigliserida darah tikus putih (Rattus norvegicus)*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Widiartini W, Siswati E, Ana S, Ita MR, Eko P. 2013. Pengembangan Usaha Produksi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Terserifikasi dalam Upaya Memenuhi Kebutuhan Hewan Laboratorium. Semarang : Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro.

Wong, S.K., Kok-Yong Chin, Fariah Hj Suhaimi, Fairus Ahmad, Soelaiman Ima-Nirwana. The Effects of a Modified High-carbohydrate High-fat Diet on Metabolic Syndrome Parameters in Male Rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*.2017, (online)<https://sci-hub.tw/10.1055/s-0043-119352>
Diakses pada 4 Mei 2018

World Health Organization (WHO). 2013. Obesity and Overweight. (www.who.int)
Diakses pada 7 Oktober 2017

World Health Organization. *Obesity and overweight*. Fact Sheet No 311. 2015; <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>

Wright, Suzanne M. and Louis J. Aronne. Causes of Obesity. *Abdominal Imaging*.2012, 37:730–732

Zhuhua, z., Wang Zhiquan, Yang Zhen, Niu Yixin, Zhang Weiwei, Li Xiaoyong, Liu Yueming, Zhang Hongmei, Qin Li, and Su Qing. A novel mice model of metabolic syndrome: the high-fat-high-fructose diet-fed ICR mice. *Experimental Animals*.2015, 64(4), 435–442





Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ihdina Linggar Puji Astuti

NIM : 155070307111017

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 pengambilalihan 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, 8 Desember 2018,

Yang membuat pernyataan,

Ihdina Linggar Puji Astuti

NIM. 155070307111017

Lampiran 2. Surat 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
Shella 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. 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)



Lampiran 3. Teknik Randomisasi Sampel

Urutan Pemilihan	Pangkat/ Rangkaing	Perlakuan
1	1	Perlakuan 1
2	2	Perlakuan 1
3	3	Perlakuan 1
4	4	Perlakuan 1
5	5	Perlakuan 1
6	6	Perlakuan 1
7	7	Perlakuan 1
8	8	Perlakuan 1
9	9	Perlakuan 1
10	10	Perlakuan 1
11	11	Perlakuan 1
12	12	Perlakuan 1
13	13	Perlakuan 1
14	14	Perlakuan 1
15	15	Perlakuan 1
16	16	Perlakuan 1
17	17	Perlakuan 1
18	18	Perlakuan 1
19	1	Perlakuan 2
20	2	Perlakuan 2
21	3	Perlakuan 2
22	4	Perlakuan 2
23	5	Perlakuan 2
24	6	Perlakuan 2
25	7	Perlakuan 2
26	8	Perlakuan 2
27	9	Perlakuan 2
28	10	Perlakuan 2
29	11	Perlakuan 2
30	12	Perlakuan 2
31	13	Perlakuan 2
32	14	Perlakuan 2
33	15	Perlakuan 2
34	16	Perlakuan 2
35	17	Perlakuan 2
36	18	Perlakuan 2



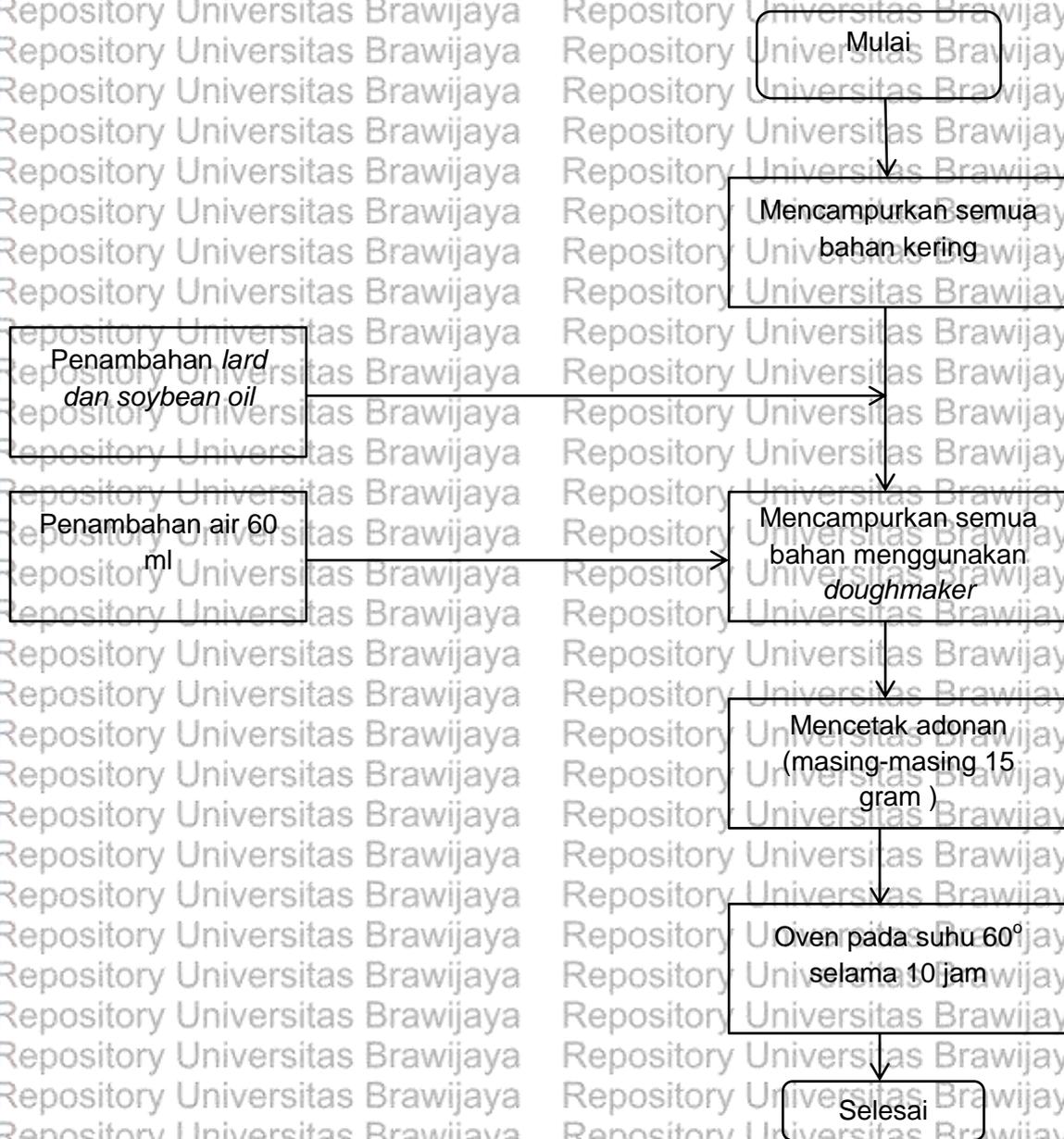
Lampiran 4. Hasil Analisis Laboratorium kadar TG dan LDL

Kode Tikus	Trigliserida (mg/dl)	LDL (mg/dl)
L1.1	65	24.1
L1.2	30	33.2
L1.4	42	29.4
L2.1	39	26.1
L2.2	56	30.7
L2.3	39	28.6
L3.1	50	39.9
L3.2	22	15.4
L3.3	16.2	26.8
L4.1	48	38.6
L4.2	46	41.7
L4.3	45	41.3
L5.1	34	38.1
L5.2	33	28.4
L5.3	31	14.7
L5.4	47	27
N1.1	30	13.8
N1.2	69	18.4
N1.3	44	13.4
N2.1	42	25.2
N2.2	40	22.7
N2.3	37	37.3
N3.1	25	37
N3.2	33	37
N3.3	23	24.3
N4.1	39	21.4
N4.2	31	26.5
N4.3	33	18
N5.1	29	29.9
N5.2	36	21.7



Lampiran 5. Diagram Alir Pembuatan Diet *High Fat High Fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M (Pelet)

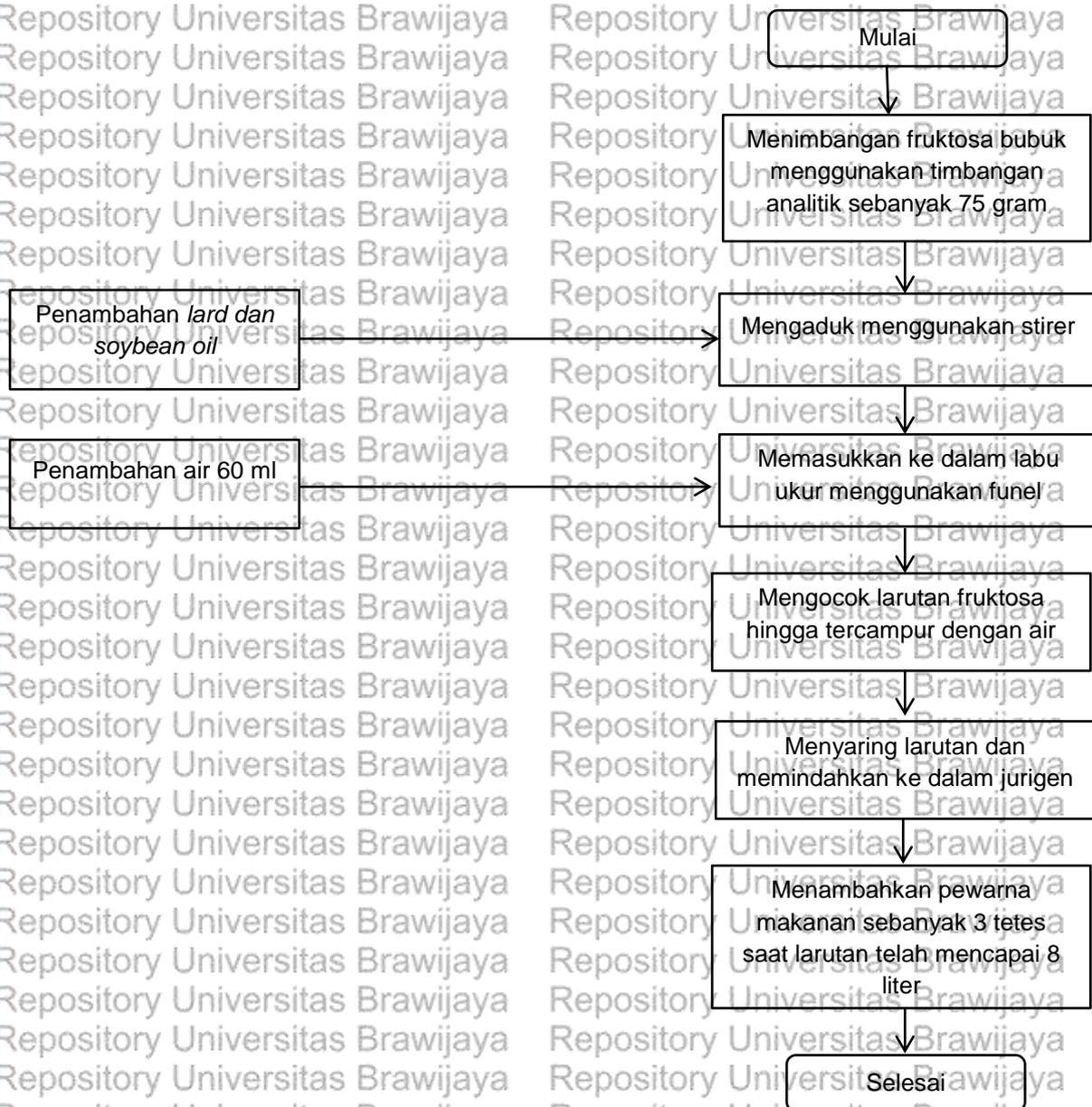
Berdasarkan hasil modifikasi penelnyian Saputri, (2015) proses pembuatan diet Diet *High Fat High Fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M adalah :





Lampiran 6. Diagram Alir Pembuatan Diet *High Fat High Fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M (Minuman)

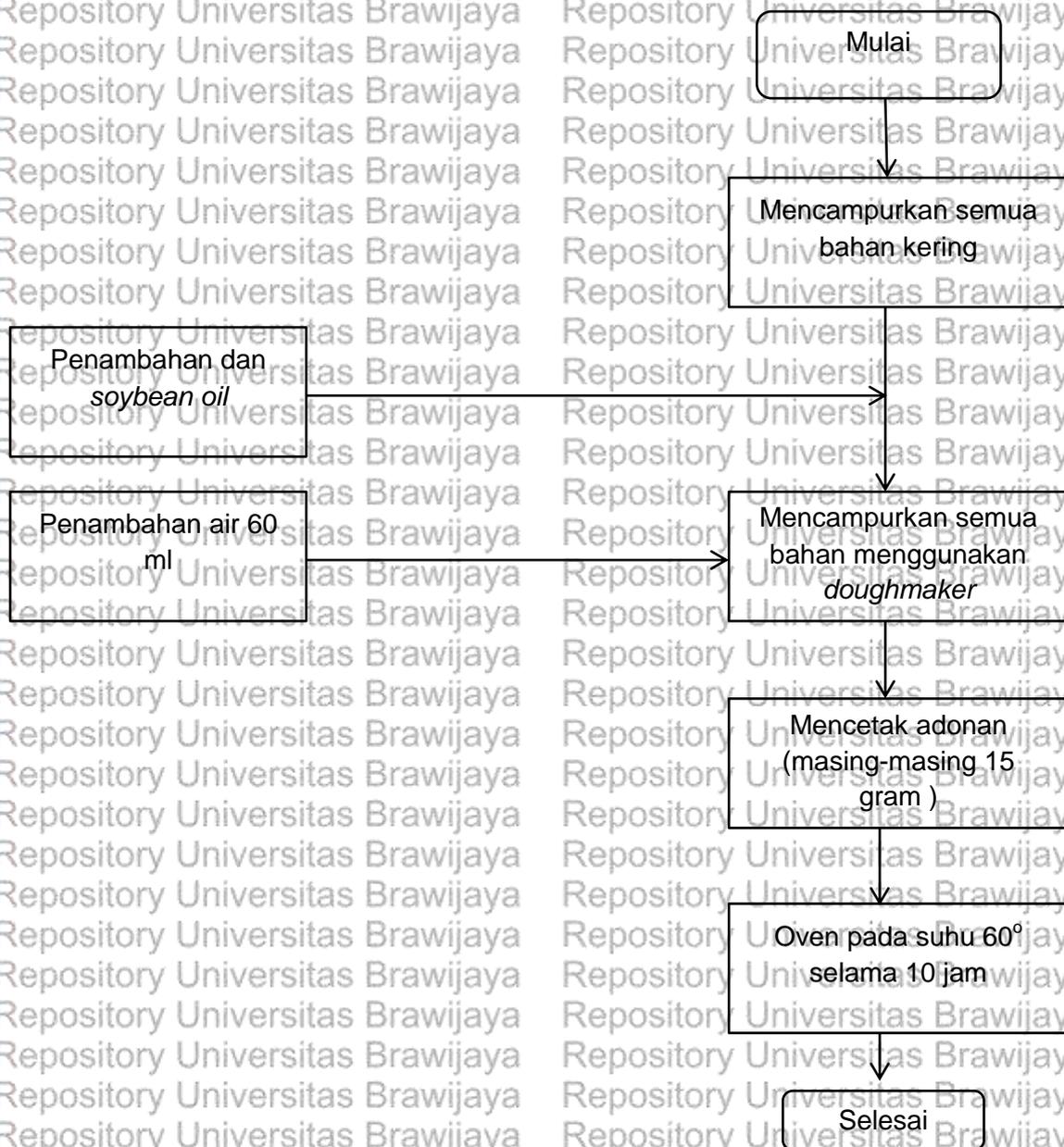
Berdasarkan hasil modifikasi penelitian Johnson RJ *et al.*, (2009) dan Basciano H. *et al.* (2005) proses pembuatan minuman *fructose* adalah:





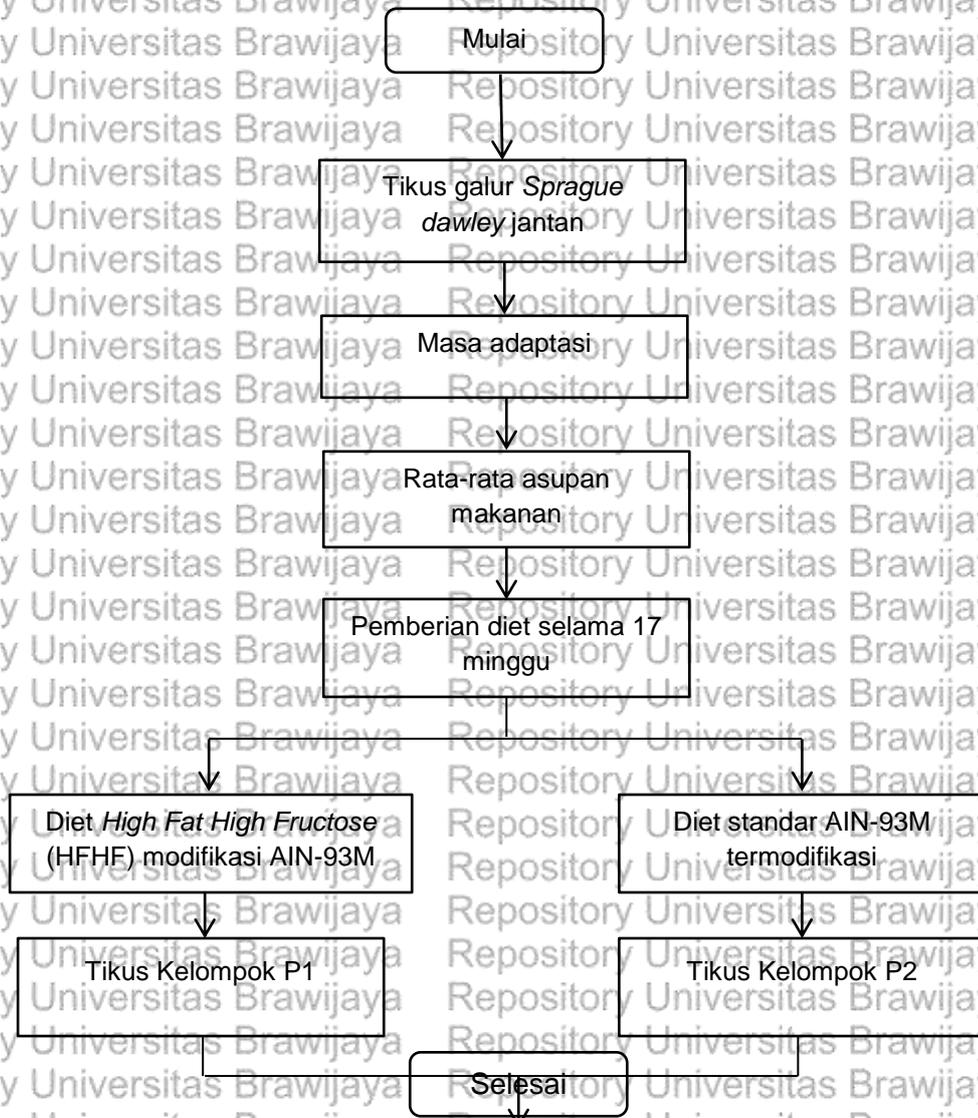
Lampiran 7. Diagram Alir Pembuatan Diet standar AIN-93M termodifikasi (Pelet)

Berdasarkan hasil modifikasi penelnyian Saputri, (2015) proses pembuatan diet Diet *High Fat High Fructose* (HFHF) modifikasi AIN-93M adalah :



Lampiran 8. Diagram Alir Pemberian Diet HFHF dan diet standar AIN-93M termodifikasi

Berdasarkan hasil modifikasi penelitian Handayani *et al*, (2012) proses pemberian diet HFHF dan diet standar AIN-93M termodifikasi adalah:





Lampiran 9. Hasil Analisa SPSS (*Statistical Pocked for Social Science*) 23.0

1. Normalitas berat badan datang

Tests of Normality

	Kelompok tikus	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Berat Badan Datang	Normal	.208	16	.062	.896	16	.070
	Lemak	.129	17	.200	.931	17	.227

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

a. Lilliefors Significance Correction

2. Independent t-test berat badan datang

Group Statistics

	Kelompok tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Berat Badan Datang	Normal	16	244.188	33.0781	8.2695
	Lemak	17	240.235	30.7155	7.4496

		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
Berat Badan Datang	Equal variances assumed	.003	.954	.356	31	.724	3.9522	11.1045	-18.6956	26.6000
	Equal variances not assumed			.355	30.434	.725	3.9522	11.1302	-18.7651	26.6696

Independent Samples Test

3. Normalitas asupan pakan

Tests of Normality^a

	Kelompok Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Asupan_pakan	Normal	.134	14	.200*	.960	14	.718
	Lemak	.169	16	.200*	.924	16	.197

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

a. There are no valid cases for Asupan_pakan when Kelompok Tikus = ,000. Statistics cannot be computed for this level.

b. Lilliefors Significance Correction

4. Independent t-test asupan diet

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Asupan_pakan	Normal	14	12.2829	1.68414	.45011
	Lemak	16	6.6644	1.09530	.27382

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_pakan	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

5. Normalitas asupan energi

Tests of Normality^a

	Kelompok Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Energi	Normal	.134	14	.200 [*]	.960	14	.716
	Lemak	.168	16	.200 [*]	.924	16	.198

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

a. There are no valid cases for Energi when Kelompok Tikus = ,000. Statistics cannot be computed for this level.

b. Lilliefors Significance Correction





6. Independent t-test asupan energi

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Energi	Normal	14	51.7114	7.09164	1.89532
	Lemak	16	33.8531	5.55923	1.38981

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	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

7. Normalitas asupan karbohidrat

Tests of Normality^a

	Kelompok Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Karbohidrat	Normal	.145	14	.200 [*]	.971	14	.892
	Lemak	.165	16	.200 [*]	.924	16	.193

8. Independent t-test asupan karbohidrat

Group Statistics

		Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Karbohidrat	Normal		14	5.5614	.74076	.19798
	Lemak		16	2.4875	.40729	.10182

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
Karbohidrat	Equal variances assumed	6.633	.016	14.329	28	.000	3.07393	.21453	2.63449	3.51337
	Equal variances not assumed			13.808	19.599	.000	3.07393	.22263	2.60893	3.53893

9. Normalitas asupan protein

Tests of Normality^a

		Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
Kelompok Tikus		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Protein	Normal	.133	14	.200*	.960	14	.725
	Lemak	.169	16	.200*	.924	16	.193

10. Independent t-test asupan protein

Group Statistics

		Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Protein	Normal		14	4.0486	.55450	.14820
	Lemak		16	1.8456	.30424	.07606

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
Protein	Equal variances assumed	6.931	.014	13.726	28	.000	2.20295	.16050	1.87418	2.53171
	Equal variances not assumed			13.225	19.573	.000	2.20295	.16658	1.85499	2.55090

11. Normalitas asupan lemak

Tests of Normality^a

		Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
Kelompok Tikus		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
lemak	Normal	.136	14	.200*	.958	14	.697
	Lemak	.170	16	.200*	.923	16	.190



12. Independent t-test asupan lemak

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
lemak	Normal	14	1.4836	.20549	.05492
	Lemak	16	1.9419	.31909	.07977

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
lemak	Equal variances assumed	.515	.479	-4.599	28	.000	-.45830	.09965	-.66243	-.25417
	Equal variances not assumed			-4.732	25.880	.000	-.45830	.09685	-.65742	-.25918

13. Normalitas asupan minum

Tests of Normality^a

	Kelompok Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
asupan_minum_ml	Lemak	.131	16	.200*	.961	16	.672

14. One sample t-test asupan minum

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
asupan_minum_ml	16	30.6044	3.67389	.91847

One-Sample Test

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
asupan_minum_ml	33.321	15	.000	30.60437	28.6467	32.5621

15. Normalitas energi total

Tests of Normality^a

	Kelompok Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^b			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Energi_total	Normal	.134	14	.200*	.960	14	.716
	Lemak	.169	16	.200*	.943	16	.389

16. Independent t-test energi total

Group Statistics

	Kelompok Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Energi_total	Normal	14	51.7114	7.09164	1.89532
	Lemak	16	70.5781	6.28508	1.57127

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

Berat	Equal									
Badan	variances	.056	.814	-1.247	28	.223	-14.99143	12.02452	-39.62255	9.63969
Akhir	assumed									
	Equal									
	variances			-1.264	27.908	.217	-14.99143	11.86474	-39.29887	9.31601
	not									
	assumed									

19. Normalitas perubahan berat badan

Tests of Normality

Kelompok	Tikus	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perubahan	Normal	.157	14	.200*	.926	14	.266
berat badan	Lemak	.151	16	.200*	.959	16	.649

a. Lilliefors Significance
Correction

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

20. Independent t-test perubahan berat badan

Group Statistics

Kelompok	Tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Berat badan	Normal	14	15.8214	23.71697	6.33863
	Lemak	16	31.3388	26.35901	6.58975

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
perubahan	Equal	.028	.868	-1.685	28	.103	-15.51732	9.21013	-34.38341	3.34877



assumed									
---------	--	--	--	--	--	--	--	--	--

23. Normalitas kadar TG dan LDL

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar LDL	.129	30	.200*	.954	30	.222
Kadar Triglicerida	.083	30	.200*	.962	30	.349

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

a. Lilliefors Significance Correction

Group Statistics

	kelompok tikus	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar LDL	lemak	16	30.2500	8.29972	2.07493
	normal	14	24.7571	8.07158	2.15722
Kadar Triglicerida	lemak	16	40.2000	12.42793	3.10698
	normal	14	36.5000	11.19581	2.99221

24. Independent t-test kadar TG dan LDL



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
Kadar LDL	Equal variances assumed	.006	.941	1.832	28	.078	5.49286	2.99891	-.65013	11.63585
	Equal variances not assumed			1.835	27.662	.077	5.49286	2.99315	-.64171	11.62742
Kadar Triglicerida	Equal variances assumed	.629	.434	.852	28	.402	3.70000	4.34463	5.19957	12.59957
	Equal variances not assumed			.858	27.968	.398	3.70000	4.31354	5.13634	12.53634



Pembiusan Tikus



Pengambilan Sampel Darah



Sampel serum darah



Sentrifugasi sampel darah



Pemisahan sel darah merah dan serum



Sampel serum dalam tabung ependorf

