

PENGARUH KOMBINASI DIET TINGGI LEMAK DAN MONOSODIUM

GLUTAMAT TERHADAP BERAT LEMAK VISERAL PADA TIKUS WISTAR

(*Rattus novergicus*) DEWASA

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Militanisa Zamzara Arvianti

NIM : 165070101111039

PROGRAM STUDI S1 PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR
PENGARUH KOMBINASI MONOSODIUM GLUTAMAT DAN DIET TINGGI
LEMAK TERHADAP BERAT LEMAK VISCERAL PADA TIKUS WISTAR
(*Rattus novergicus*) DEWASA

Oleh :

Militanisa Zamzara Arvianti

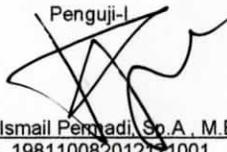
165070101111039

Telah diuji pada

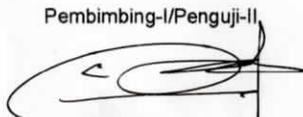
Hari : Kamis

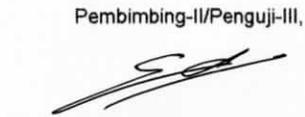
Tanggal: 28 November 2019

dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I


dr. Prasetya Ismail Pengadi, Sp.A., M.Biomed
NIP. 198110082012121001

Pembimbing-I/Penguji-II

dr. Dewi Mustika, M.Biomed
NIP. 2016078711152001

Pembimbing-II/Penguji-III,

Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, PhD
NIP. 198105042005011001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Kedokteran


dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP. 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Militanisa Zamzara Arvianti

NIM : 165070101111039

Program Studi : Sarjana Kedokteran

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini adalah hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 September 2019,

Yang membuat pernyataan,

Militanisa Zamzara Arvianti

NIM. 165070101111039

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis sampaikan kepada Tuhan yang Maha Esa atas segala penyertaannya kepada penulis selama menempuh studi di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya sehingga tugas akhir berjudul "**Pengaruh Kombinasi Monosodium Glutamat dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Berat Lemak Visceral Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Dewasa**" dapat diselesaikan.

Pada kesempatan ini pula, ijinakan penulis untuk menyampaikan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Dr. dr. Wisnu Barlianto, MSi.Med, Sp.A(K)**, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. **dr. Triwahju Astuti, M.Kes.,Sp.P(K)**, selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. **dr. Dewi Mustika, M.Biomed**, selaku dosen pembimbing pertama yang telah berkenan untuk meluangkan waktunya dan dengan sangat peduli membimbing serta mengarahkan penulis dalam penulisan tugas akhir ini.
4. **Pak Edwin Widodo, S.Si, M.Sc, PhD**, selaku dosen pembimbing kedua yang telah berkenan untuk meluangkan waktunya dan dengan

sangat peduli membimbing serta mengarahkan penulis dalam penulisan tugas akhir ini.

5. **dr. Prasetya Ismail Permadi, Sp.A , M.Biomed**, selaku dosen penguji yang telah berkenan untuk meluangkan waktunya dan mendukung penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.

6. Kedua orang tua saya yang saya banggakan, **Wiwini Arodawanti dan Achmad Virza Rudiansyah**, atas doa dan semangat yang terus diberikan, hingga saat ini.

7. Sahabat-sahabat saya sejak SMP, **Dewi, Dinan, Yunita, Mine** yang menjadi tempat berpulang saya.

8. Semua teman-teman SMA yang selalu ada jika saya membutuhkan mereka.

9. Sahabat-sahabat yang saya dapatkan selama perkuliahan di Pendidikan Dokter FKUB. **Eza, Nisa, Ziana, Gita, Sriayu, Stejo, Shifa, Kiki, Fena, dan Nurul** atas kebersamaan selama kuliah pre-klinik.

10. Teman-teman penelitian saya, **Sriayu, Stejo, Angie, Shifa, dan Kiki** yang selalu hadir untuk bertukar pikiran mengenai tugas akhir.



11. Kakak dan adik tingkat yang saya temui di Pendidikan Dokter FKUB

atas kegembiraan dan semangat selama kuliah pre-klinik.

12. Dan semua pihak yang telah membantu menyelesaikan tugas akhir ini

yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Semoga Tuhan memberkati

kebaikan Anda sekalian!

Akhir kata, penulis menyadari bahwa tidak ada gading yang tak retak.

Penulis sadar bahwa tulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, sehingga

kritik dan saran yang dapat membangun sangat penulis harapkan. Semoga

tugas akhir ini dapat diterima dan akan bermanfaat khususnya bagi pembaca

yang membutuhkannya.

Malang, 4 November 2019

Penulis

ABSTRAK

Zamzara, Militanisa. 2019. **Pengaruh Kombinasi Monosodium Glutamat Dengan Diet Tinggi Lemak Terhadap Berat Lemak Viseral Pada Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) Dewasa.** Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Dewi Mustika, M.Biomed (2) Edwin Widodo, S.Si, M.Sc.

Saat ini, makanan tinggi lemak cenderung seringkali disajikan bersamaan dengan penambahan Monosodium Glutamat (MSG). Banyak penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh pemberian Diet Tinggi Lemak (DTL) maupun MSG terhadap berat badan hewan coba. Pemberian DTL meningkatkan berat badan hewan coba, sedangkan pada pemberian MSG terdapat kontroversi mengenai pengaruh pemberian MSG terhadap hewan coba. Studi sebelumnya mengklaim bahwa MSG menginduksi obesitas. Namun, penelitian terbaru telah mulai mengubah gambaran ini, dimana hasilnya menunjukkan penurunan berat badan hewan coba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi DTL dan MSG terhadap berat lemak visceral tikus wistar dewasa. Penelitian ini dilakukan selama 56 hari dengan menggunakan 30 tikus *Rattus novergicus* strain wistar yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol (-), Kontrol (+) 1 DTL, Kontrol (+) 2 MSG 0,70mg/gBB, Perlakuan 1 (DTL + MSG 0,05mg/gBB), Perlakuan 2 (DTL + MSG 0,20mg/gBB), dan Perlakuan 3 (DTL + MSG 0,35mg/gBB). Hasil penelitian menunjukkan perbedaan berat lemak visceral yang signifikan antara kelompok kombinasi DTL dan MSG dengan kelompok kontrol negatif ($p = 0,00$). Perbedaan berat lemak visceral terjadi secara signifikan pada kelompok Perlakuan 3 (DTL + MSG 0,35mg/gBB) dengan kelompok kontrol (+) 1 DTL ($p = 0,032$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian kombinasi DTL dengan MSG meningkatkan berat lemak visceral, namun pemberian MSG cenderung menurunkan berat lemak visceral sebanding dengan dosis MSG yang diberikan.

Kata Kunci: Monosodium Glutamat, Diet Tinggi Lemak, Berat Lemak Visceral

ABSTRACT

Zamzara, Militanisa. 2019. **Effects of Combination of High Fat Diet and Monosodium Glutamate on Visceral Fat Weight in Adult Wistar (*Rattus***

***novergicus*) Mice**. Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisor: (1) dr. Dewi Mustika, M.Biomed (2) Edwin Widodo, S.Si, M.Sc.

Nowadays, high-fat diet mostly served together with Monosodium Glutamate (MSG). Much research has been done on the High Fat Diet (DTL) and MSG on body weight of experimental animals. The provision of DTL increases the body weight of the trial, whereas in the provision of MSG there is controversy regarding the provision of MSG assistance to experimental animals. Previous studies claim that MSG induces obesity. However, recent research has begun to change this picture, where the results show a decrease in body weight of experimental animals. This study aims to determine the combination of DTL and MSG on the visceral fat weight of adult wistar rats. The research was carried out for 56 days using 30 *Rattus novergicus* strains of Wistar strain which were divided into 6 groups namely control group (-), Control (+) 1 DTL, Control (+) 2 MSG 0.70mg / gBB, Treatment 1 (DTL + MSG 0.05mg / gBB), Treatment 2 (DTL + MSG 0.20 mg / gBB), and Treatment 3 (DTL + MSG 0.35 mg / gBB). The results showed a significant difference in fat weight between the DTL and MSG combination groups and the negative control group ($p = 0.00$). The difference in fat weight occurred in the Treatment group 3 (DTL + MSG 0.35mg / gBB) with the control group (+) 1 DTL ($p = 0.032$). The conclusion of this study is that the combination of DTL with MSG increases the visceral fat weight, but the administration of MSG increases the visceral fat weight proportional to the dose of MSG given.

Keywords: Monosodium Glutamate, High Fat Diet, Visceral Fat Weight

DAFTAR ISI

Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Lampiran.....	xv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Manfaat Akademis.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Monosodium Glutamat	6
2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat	6
2.1.2 Struktur Kimia.....	6
2.1.3 Metabolisme Monosodium Glutamat	7
2.1.4 Manfaat Monosodium Glutamat.....	10
2.1.5 Efek Toksik MSG.....	11

2.1.6 Pengaruh MSG Terhadap Berat Lemak Visceral.....	13
2.2 Diet Tinggi Lemak.....	15
2.2.1 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Berat Lemak Visceral.....	17
2.3 Lemak Visceral.....	20
2.3.1 Jaringan Lemak.....	20
2.3.2 Definisi Lemak Viseral.....	23
2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Lemak Visceral.....	23
2.4 Obesitas.....	27
2.4.1 Definisi Obesitas.....	27
2.4.2 Etiologi dan Patofisiologi.....	28
2.5 Sistem Melanocortin.....	32
2.5.1 Interaksi Antara Leptin dan Sistem Melanocortin Sentral.....	37
2.5.2 Sistem Melanocortin Sentral dan Sel Adiposa.....	38
2.5.2.1 Sistem Melanocortin Sentral Dan Persarafan Simpatis Jaringan Adiposa.....	38
2.6 Leptin.....	39
2.6.1 Reseptor Leptin.....	40
2.6.2 Resistensi Leptin.....	41
2.7 Hewan Coba.....	43
2.7.1 Tikus Wistar (<i>Rattus novergicus</i>).....	43
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	45
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	45
3.2 Hipotesis Penelitian.....	48
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	49
4.1 Rancangan Penelitian.....	49
4.2 Sampel Penelitian.....	49
4.2.1 Kriteria Inklusi.....	49
4.2.2 Kriteria Eksklusi.....	49

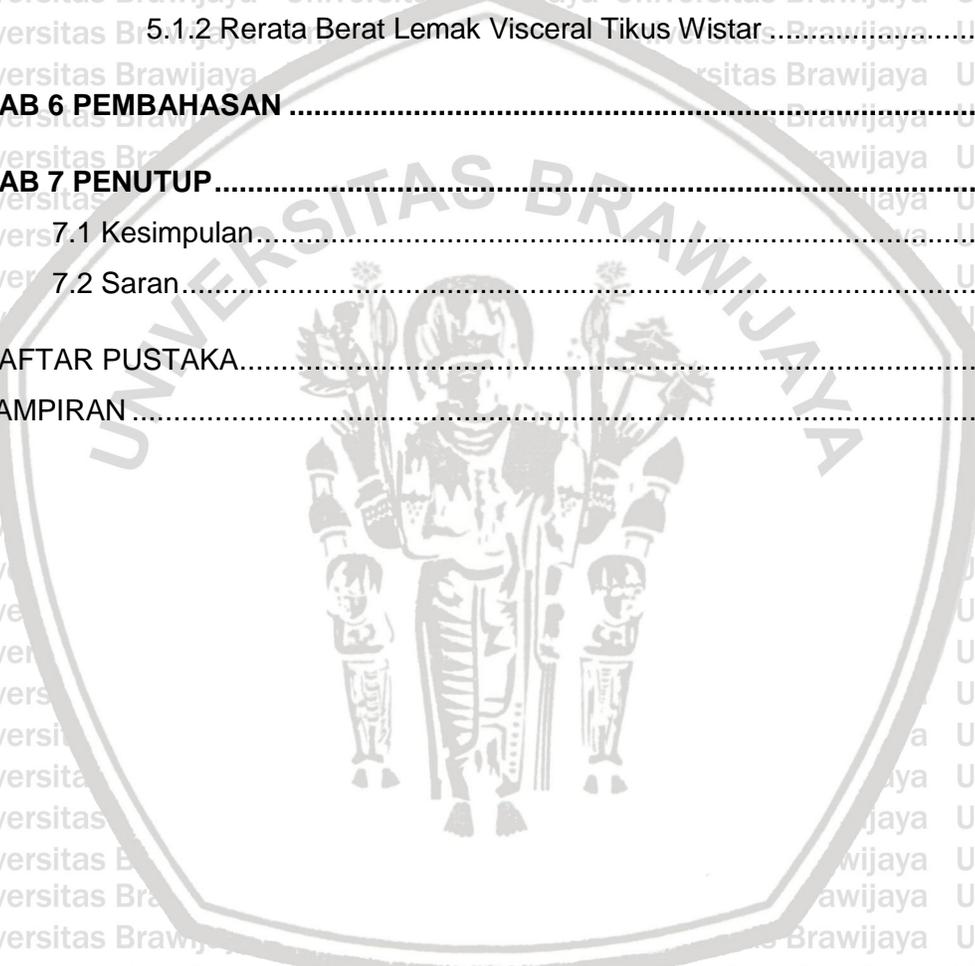




4.2.3 Jumlah Sampel.....	50
4.4 Variabel Penelitian.....	50
4.4.1 Variabel Terikat	50
4.4.2 Variabel Bebas.....	50
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	51
4.6 Definisi Operasional	51
4.6.1 Monosodium Glutamat	51
4.6.2 Diet Tinggi Lemak	51
4.6.3 Diet Normal	51
4.6.4 Berat Lemak Visceral	52
4.6 Instrumen Penelitian.....	52
4.6.1 Alat.....	52
4.6.1.1 Alat Untuk Pemeliharaan Hewan Coba.....	52
4.6.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba	52
4.6.1.3 Alat Bedah Hewan Coba	52
4.6.1.4 Alat Penimbang Berat Badan Hewan Coba.....	52
4.6.2 Bahan.....	53
4.6.2.1 Bahan Makanan Tikus.....	53
4.6.2.2 Bahan Pembedahan Hewan Coba	53
4.7 Operasional Penelitian	
4.7.1 Pembuatan Diet Normal	53
4.7.2 Pembuatan Diet Tinggi Lemak	54
4.7.3 Pemaparan MSG Pada Tikus	55
4.7.4 Perlakuan Terhadap Tikus.....	56
4.7.4.1 Adaptasi Hewan Coba.....	56
4.7.4.2 Penentuan Kelompok Perlakuan	56
4.7.4.3 Proses Pemeliharaan Hewan Coba.....	58
4.7.4.4 Penentuan Fase Estrus dan Waktu Bedah.....	59
4.7.5 Prosedur Pengambilan Lemak Viseral.....	60
4.8 Analisis Data	61



4.9 Etik Penelitian.....	62
4.10 Skema Alur Penelitian	65
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	66
5.1 Data Hasil Penelitian	67
5.1.1 Analisis Uji Normalitas dan Homogenitas Data	67
5.1.2 Rerata Berat Lemak Visceral Tikus Wistar.....	67
BAB 6 PEMBAHASAN	70
BAB 7 PENUTUP	76
7.1 Kesimpulan.....	76
7.2 Saran.....	76
DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN	88



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komposisi Diet Tinggi Lemak	16
Tabel 2.2	Indeks Massa Tubuh Menurut WHO.....	28
Tabel 2.3	Ringkasan Ligan, Lokasi, dan Fungsi Utama Reseptor Melanokortin	33
Tabel 4.1	Komposisi Untuk 2,5 kg Pakan Normal.....	54
Tabel 4.2	Komposisi Untuk 2,5 kg Diet Tinggi Lemak.....	55
Tabel 4.3	Konversi Perhitungan Dosis Dari Manusia ke Tikus.....	58
Tabel 5.1	Hasil Pengujian Anova Berat Lemak Viseral.....	68
Tabel 5.2	Fisher's LSD Berat Lemak Viseral.....	69





DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema Strukur Kimia Asam Glutamat	7
Gambar 2.2 Skema Struktur Kimia Monosodium Glutamat	7
Gambar 2.3 Skema Reaksi Sintesis Dalam Pembentukan Asam Amino.....	9
Gambar 2.4 Sebaran Lemak Pada Tikus Wistar	21
Gambar 5.1 Rerata Berat Lemak Viseral Pada Tiap Kelompok Perlakuan.....	67



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pernyataan Keaslian Tulisan 87

Lampiran 2. Surat Keterangan Laik Etik 88

Lampiran 3. Data Berat Lemak Viseral 95

Lampiran 4. Uji Asumsi Normalitas 97

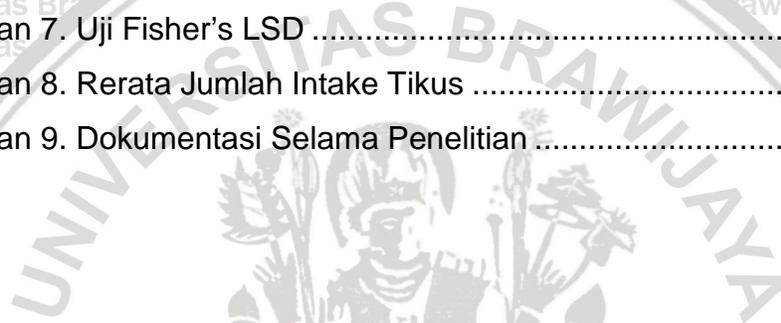
Lampiran 5. Uji Asumsi Homogenitas 97

Lampiran 6. Uji *One Way* ANOVA 97

Lampiran 7. Uji Fisher's LSD 98

Lampiran 8. Rerata Jumlah Intake Tikus 99

Lampiran 9. Dokumentasi Selama Penelitian 100



DAFTAR SINGKATAN

- α-KGDH : Alpha-Ketoglutarat Dehidrogenase
- α-MSH : Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone
- AgRP : Agouti Related Protein
- ARC : Arcuate Nucleus
- BAT : Brown Adipose Tissue
- CART : Cocaine- and amphetamine-regulated transcript
- CMC : Carboxymethyl Cellulose
- GABA : Gamma Amino Butiric Acid
- HDL : High Density Lipoprotein
- HVP : Hydrolyzed Vegetable Protein
- LDL : Low Density Lipoprotein
- ME : Median Eminence
- MSG : Monosodium Glutamate
- NADPH : Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phospate
- NO : Nitric Oxide
- NPY : Neuropeptida Y
- TG : Trigliserida
- SAT : Subcutaneous Adipose Tissue
- UCP1 : Uncoupling Protein 1
- VAT : Visceral Adipose Tissue
- WAT : White Adipose Tissue



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Status kesehatan seseorang ditentukan oleh perilaku individu dalam kegiatan sehari-hari termasuk diantaranya adalah pola makan. Pola makan merupakan bagian paling besar dari gaya hidup yang memiliki peran penting terhadap kesehatan (Farhud dan Dariusha, 2015). Terjadinya pergeseran pola makan di masyarakat dari pola makan tradisional ke pola makan *Western*, yang komposisinya menagandung terlalu tinggi lemak, menimbulkan ketidakseimbangan asupan gizi dan merupakan faktor risiko terhadap munculnya berbagai masalah kesehatan (Yurika *et al*, 2014). Penggunaan zat aditif dan pola makan diet tinggi lemak penting untuk diperhatikan pada era modernisasi dan globalisasi saat ini (Shridar *et al*, 2015). Penggunaan Monosodium Glutamat (MSG) sebagai peningkat cita rasa makanan semakin marak di masyarakat, mulai dari skala rumah tangga, restoran, hingga industri makanan (Pavlovi *et al*, 2006).

Sebagian besar masyarakat Indonesia mengkonsumsi MSG rata-rata sebanyak 0,6 gr/hari (Prawirohardjono *et al*, 2000). Pada penelitian mengenai MSG sebagai faktor risiko untuk obesitas pada model hewan coba dengan dosis MSG 2mg/gBB/hari menunjukkan kemungkinan hubungan antara MSG dan kelebihan berat badan atau obesitas (Tanaka *et al*, 1978). Mekanisme yang berpotensi dalam hubungan antara MSG dan obesitas meliputi kemungkinan pengaruh MSG pada keseimbangan energi dengan meningkatkan palatabilitas serta mengganggu kaskade sinyal hipotalamus oleh leptin (Hermanussen, 2003).

Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Kondoh *et al*, (2008), dimana

penelitian tersebut menggunakan 1% larutan MSG monohidrat yang diberikan secara per oral menunjukkan penurunan berat badan selama 15 minggu penelitian. Peningkatan *diet-induced thermogenesis* mungkin merupakan bagian atau seluruh mekanisme dimana konsumsi MSG menurunkan berat badan pada penelitian ini. (Kondoh *et al*, 2008).

WHO (World Health Organization) dan FAO (Food and Agriculture Organization) menetapkan MSG sebagai salah satu bahan tambahan penguat rasa dalam masakan dan kemasan yang aman untuk dikonsumsi. Federation of America Society for Experimental Biology (FASEB) menyatakan bahwa glutamat dan aspartat menimbulkan efek toksik ketika diberikan dalam dosis yang tinggi pada spesies yang rentan. Dengan demikian, toksisitas glutamat dapat ditentukan oleh 2 faktor, yaitu kadar glutamat yang tinggi dalam darah dan spesies yang rentan terhadap toksisitas dari glutamat. Batasan aman dari penggunaan MSG adalah 0,6 g/hari jika dikonsumsi bersamaan dengan makanan. Laporan dari FASEB mengidentifikasi beberapa gejala jangka pendek, sementara, dan umumnya ringan, seperti sakit kepala, mati rasa, kesemutan, kesemutan, jantung berdebar, dan kantuk yang mungkin terjadi pada beberapa individu sensitif yang mengonsumsi 3 gram atau lebih MSG tanpa makanan (FDA, 2012).

Pola makan diet tinggi lemak juga semakin meningkat dengan maraknya konsumsi makanan cepat saji di masyarakat (Shridar *et al*, 2015). Pada penelitian mengenai diet tinggi lemak sebagai faktor risiko obesitas pada model hewan coba yang dilakukan oleh Lin *et al*, didapatkan peningkatan berat badan hewan coba yang signifikan sejak minggu kedua percobaan. Diet tinggi lemak dapat menimbulkan akumulasi lemak visceral yang dapat berpengaruh terhadap

fungsi organ dan juga meningkatkan kadar leptin dalam darah yang kemudian akan menyebabkan resistensi leptin secara perifer sejak minggu kedelapan. Resistensi leptin akan menyebabkan obesitas (Lin *et al*, 2000). Obesitas adalah salah satu faktor risiko dari berbagai macam penyakit berbahaya seperti stroke, dan penyakit jantung koroner.

Mengingat bahwa saat ini makanan tinggi lemak cenderung seringkali disajikan bersamaan dengan penambahan MSG (Shridar *et al*, 2015), timbul pertanyaan apakah efek samping yang muncul dikarenakan kandungan lemak yang tinggi atau akibat kandungan MSG. Kebanyakan penelitian yang telah dilakukan adalah efek dari konsumsi MSG dalam dosis tinggi dan diet tinggi lemak, atau MSG dalam dosis harian namun tidak dikombinasikan dengan diet tinggi lemak. Serta adanya kontroversi dari hasil penelitian mengenai pengaruh pemberian MSG terhadap berat badan tikus, dimana studi sebelumnya mengklaim bahwa MSG menginduksi obesitas. Namun, penelitian terbaru telah mengubah gambaran ini. Sehingga peneliti tertarik untuk meneliti apakah ketika dosis MSG yang digunakan lebih rendah mendekati asupan harian manusia, jika diberikan bersama dengan diet tinggi lemak dapat berpengaruh pada berat lemak viseral. Maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh kombinasi monosodium glutamate dalam dosis sehari-hari dan diet tinggi lemak untuk mengetahui pengaruhnya terhadap berat lemak viseral dengan menggunakan hewan coba tikus wistar dewasa.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh kombinasi monosodium glutamat dosis harian dan diet tinggi lemak terhadap berat lemak visceral pada tikus wistar dewasa?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi monosodium glutamate dosis harian dan diet tinggi lemak terhadap berat lemak visceral pada tikus wistar dewasa.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian adalah untuk mengetahui :

1. Pengaruh monosodium glutamate terhadap berat lemak visceral tikus wistar dewasa.
2. Pengaruh diet tinggi lemak terhadap berat lemak visceral tikus wistar dewasa.
3. Pengaruh kombinasi monosodium glutamate dan diet tinggi lemak terhadap berat lemak visceral tikus wistar dewasa.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

Penelitian ini dapat menunjang landasan teori ilmiah bagi penelitian selanjutnya baik mengenai pengaruh monosodium glutamate dalam dosis harian maupun diet tinggi lemak terhadap berat lemak visceral khususnya pada hewan coba dan manusia pada umumnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini dapat memberikan informasi yang berasal dari sumber ilmiah mengenai dampak konsumsi makanan yang mengandung MSG dan lemak dengan kadar tinggi terhadap kesehatan.



BAB 2

TINJAUAN TEORI

2.1 Monosodium Glutamat

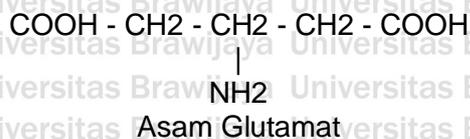
2.1.1 Definisi Monosodium Glutamat

Monosodium glutamat adalah hasil dari purifikasi glutamat atau gabungan dari beberapa asam amino dengan sejumlah kecil peptida yang dihasilkan dari proses hidrolisa protein (*hydrolized vegetable protein/HVP*). Tubuh manusia dapat menghasilkan asam glutamat, sehingga asam glutamat digolongkan pada asam amino non esensial. Protein nabati mengandung 40% asam glutamat sedangkan protein hewani mengandung 11-22% asam glutamate (Filler *et al*, 1979). Monosodium glutamat adalah garam natrium dari asam glutamat (*glutamic acid*). MSG telah dikonsumsi secara luas didunia termasuk Indonesia dalam bentuk L-glutamic acid sebagai bahan penambah rasa makanan. Masyarakat Indonesia rata-rata mengkonsumsi MSG sekitar 0,6 g/kg BB (Prawirohardjono *et al*, 2000).

2.1.2 Struktur Kimia

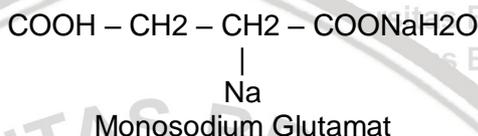
Glutamat memiliki jalur biosintesis yang pendek dan merupakan asam amino non-esensial, serta mampu menjadi penggabung metabolisme di dalam tubuh. Selain itu, bahan ini dapat ditemukan dengan mudah di alam. Glutamat terkandung dalam bahan makanan yang mengandung protein, seperti susu, daging, sayuran dan lain-lain. Sebagai senyawa nutrisi non-essensial di dalam tubuh, senyawa ini mengalami aminasi reduktif α -ketoglutarat yang

dikatalisis oleh glutamat dehidrogenase melalui jalur asam sitrat sehingga menjadi L-glutamat (Sukawan, 2008).



Gambar 2.1. Skema Struktur Kimia Asam Glutamat

Sumber : Sukawan UY, 2008



Gambar 2.2. Skema Struktur Kimia Monosodium Glutamat

Sumber: Sukawan UY, 2008

Dilihat dari sifat kimianya, asam glutamat dan MSG sama-sama berbentuk tepung kristal berwarna putih yang mudah larut dan tidak berbau. Dalam MSG mengandung glutamat sebanyak 78,2%, Na (sodium) sebanyak 12,2 %, dan H₂O sebanyak 9,6 %. Dalam 1 g MSG mengandung 1,27 g glutamat dan 0,122 Na. (Sukawan, 2008)

2.1.3 Metabolisme Monosodium Glutamat

MSG sudah banyak beredar di pasaran, sehingga sudah pasti telah menjadi bahan yang banyak dikonsumsi masyarakat secara oral. Oleh sebab itu, bahannya melalui proses pencernaan, dimulai dari lidah dengan *taste receptor cells* yang menjadi penghantar sensasi rasa ke otak (Gill *et al*, 2004).

Sensasi yang diterima *taste buds* berupa umami akan diterima oleh reseptor mGluR4 dan berikatan dalam domain ekstrasel. Sensasi ini akan disalurkan melalui protein reseptor ke sinyal intrasel pasangannya. Reseptor ini bekerja dengan memutuskan ikatan L-glutamat dan akan dihantarkan ke otak melalui nervus kranialis VII yang menuju serebrum dengan jalur N.VII, ganglia basalis, hipokampus lalu serebrum. Kemudian, otak akan mempresentasikan

sensasi yang didapat sebagai rasa yang lezat dan gurih (Chaudari *et al*, 2000)

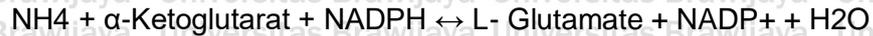
Krisna (2010) menyatakan bahwa gugus L-glutamat yang merangsang reseptor spesifik pada *taste buds* mengalami ionisasi, seperti reseptor asam amino atau reseptor glutamat lain dalam menginduksi rasa umami (Gill *et al*, 2004).

Setiap hari, tubuh manusia membuat sekitar 50 g glutamat bebas.

Glutamat dalam makanan cepat dimetabolisme tubuh dan dijadikan sumber energi. Ia merupakan asam amino non esensial, artinya ketika kita membutuhkan maka tubuh kita dapat membuat glutamat sendiri dari protein lain. Asam glutamat juga merupakan metabolit penting bagi metabolisme asam amino dan merupakan sumber energi yang utama bagi sel otot jantung (Geha *et al*, 2000).

Melalui hepar, 57% dari asam amino yang diabsorpsi dikonversi menjadi urea, 6% menjadi plasma protein, 23% melalui sirkulasi umum sebagai asam amino bebas dan 14% sisanya belum ada laporan dan diduga disimpan sementara di dalam hepar sebagai protein hepar /enzim. Hanya 4% dari semua glutamat yang berasal dari bahan makanan yang keluar dari tubuh (Uke, 2008).

Metabolisme MSG di dalam tubuh sama dengan metabolisme asam glutamat yang dihasilkan tubuh. Monosodium Glutamat menjadi salah satu asam amino dekarboksilat yang berperan dalam produksi energi, sintesis urea, sintesis glutathion dan neurotransmitter. Sebagian besar sel-sel tubuh mengandung glutamat, terutama mitokondria. Sekitar 50-70% glutamat dari total asam amino bebas. Tenaga pereduksi yang diberikan diberikan oleh NADPH (Filer *et al*, 2016).



Gambar 2.3. Skema Reaksi Sintesis dalam Pembentukan Asam Amino

Sumber: Filer LJ *et al*, 2016

Reaksi di atas merupakan reaksi sintesis dasar yang penting dalam pembentukan asam amino. Glutamat merupakan donor gugus amino dalam biosintesis asam amino yang lain melalui transaminasi. L-glutamat dehidrogenase menempati posisi sentral dalam metabolisme nitrogen di hepar dan menggunakan enzim di dalamnya (Filer *et al*, 2016)

Ada beberapa fungsi penting glutamat dalam proses metabolisme di dalam tubuh, antara lain:

1) Substansi untuk Sintesa Protein

10-40% glutamat terkandung dalam protein dan merupakan bahan yang penting dalam sintesis protein. Rantai α pada glutamat menjadi struktur sekunder bagi protein (Molina , 2013).

2) Prekursor Glutamin

Dalam proses metabolisme karbohidrat dan protein, glutamat dan glutamin merupakan mata rantai karbon dan nitrogen. Glutamin merupakan bentukan dari glutamat yang dibentuk oleh glutamin sintetase (Barret *et al*, 2012).

3) Pasangan Transaminasi dengan α -ketoglutarat

Transaminasi yang dilakukan oleh asam glutamat dalam memindahkan nitrogen yang reversibel dalam membentuk L-glutamat menjadi α -ketoglutarat akan membentuk senyawa amoniak. L-glutamat dehidrogenase mempunyai peran penting dalam proses metabolisme nitrogen. Enzim ini memanfaatkan hepar

sebagai tempat metabolisme serta menggunakan enzim-enzim yang berada di dalamnya (Murray *et al*, 2009).

4) Neurotransmitter

Neurotransmitter utama di otak adalah senyawa glutamat. Senyawa ini berfungsi sebagai mediator untuk menyalurkan transmisi ke post-sinaps. Ia juga menjadi prekursor dari neurotransmitter lainnya, seperti Gamma Ammino Butiric Acid (GABA) (Filler *et al*, 2016).

Metabolisme MSG yang terjadi juga tergantung cara pemberiannya. Jika diberikan secara parenteral, maka glutamatnya tidak akan melewati jalur usus dan vena portal. Sedangkan jika diberikan lewat oral, zat ini akan dimetabolisme oleh hepar. Hepar mempunyai kemampuan mengubah asam glutamat menjadi alanine yang selanjutnya akan beredar di dalam darah. Pada peningkatan pemberian glutamat, akan terjadi perubahan dalam kadar plasma serta mempengaruhi fungsi hepar (Murray *et al*, 2009).

2.1.4 Manfaat Asam Glutamat

Asam glutamat berperan penting sebagai neurotransmitter dalam jaras persarafan dari organ ke otak. Ia juga bertugas untuk mengatvasi regulasi sifat-sifat sel saraf, seperti plastisitas, sinaptik, pembelajaran, memori, aktivitas motorik dan perkembangan saraf. Selain itu, ia juga membantu metabolisme energi dan sintesis beberapa asam amino, seperti glutathion dan protein (Cooper *et al*, 2016).

Selain sebagai neurotransmitter pada sinaps eksitatori di sistem saraf pusat dimana diperankan oleh mGluR4 (merupakan salah satu jenis reseptor

glutamat), glutamat juga memodulasi eksitabilitas dan transmisi sinaps melalui second messenger signaling (Ardyanto, 2004).

2.1.5 Efek Toksik MSG

Pemberian MSG peroral atau subkutan meningkatkan jumlah lesi pada otak sampai 4 kali lipat, misalnya pada area nucleus arkuata. Kenaikan jumlah lesi ini diikuti dengan peningkatan jumlah glutamat dalam plasma. Peningkatan ini mencapai puncaknya setelah 15 menit di dalam plasma, sedangkan dalam nukleus arkuata dicapai setelah 3 jam kemudian. Peningkatan kadar glutamat dalam range tertentu memberikan gambaran lesi pada nukleus arkuata hipotalamus (Khrisna *et al*, 2009). Hal ini tidak akan terjadi pada tikus yang kadar MSG Plasma dibawah 50 umol/dl (Stegink *et al*, 2000). Konsentrasi diatas 60 umol/dl dapat menyebabkan kerusakan pada otak. Beberapa penelitian lain mengatakan bahwa MSG dapat menyebabkan gangguan endokrin melalui mekanisme HP Axis (Olney *et al*, 1969).

Pada beberapa penelitian MSG juga mempunyai efek toksik terhadap sel hepatosit dengan mempengaruhi integritas selular, merusak permeabilitas membran, dan homeostasis volume sel. Pembengkakan parenkim hepar dapat menyebabkan iskemik jaringan dan gangguan farmakologik transpor selular. Dalam keadaan normal, di antara sel-sel hepatosit dan dinding pembuluh darah akan ditemukan proses pembentukan darah, namun karena pemberian MSG akan terjadi pembengkakan pada sel-sel hepatosit dan dilatasi vena sentral sehingga fungsi hematopoietik hepar akan terganggu (Eweka *et al*, 2007).

Pada pemberian MSG jangka pendek, akan terjadi peningkatan kadar protein total dan albumin, namun efek toksisitas dari radikal bebas ini akan lebih

berpengaruh pada penggunaan jangka panjang, efek toksisitas yang akan terjadi antara lain, toksisitas terhadap aktivitas hepato-selular, nekrosis, serta atrofi (Eweka *et al*, 2007).

Pada keadaan seluler, glutamat akan memberikan beberapa efek reaksi, diantaranya:

- 1) Sintesis Suksinil CoA ligase yang menyebabkan penurunan suksinil CoA sebagai regulator, sehingga aktifitas α -KGDH (Ketoglutarat Dehidrogenase) meningkat.
- 2) Membentuk Gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenase (enzim yang berperan dalam pembentukan ATP pada jalur glukosa) yang mengkatalisis NADH-dependent superoxide yang menjadi regulator α -KGDH. Kemudian, barier untuk enzim tersebut menurun dan mendukung peningkatan aktivitas α -KGDH.
- 3) Salah satu reseptor untuk glutamat ini membantu dalam masuknya Ca^{2+} . Dengan kadar yang tinggi, maka Ca^{2+} yang masuk akan meningkat dan terjadi aktivasi NO sintase dan protein kinase C, serta membentuk radikal bebas.

Peningkatan banyak senyawa-senyawa di atas menyebabkan peningkatan ROS intraseluler dan menginisiasi stress oksidatif yang berkaitan pada pembengkakan pada sel, terjadinya peroksidasi lipid dan penurunan level glutathione (Sherwood, 2011). Pada tahun 1968, terdapat laporan akibat konsumsi MSG yang berlebihan, yaitu Sindrom Restoran Cina. Sindrom menunjukkan gejala-gejala, seperti rasa panas, tertusuk-tusuk pada wajah dan leher, dada sesak dan lain-lain (Geha *et al*, 2000). Terdapat juga laporan yang

menunjukkan reaksi sensitivitas yang lain, seperti sakit kepala, migrain, kejang-kejang, mual, muntah, berdebar-debar, sesak nafas dan ruam pada kulit (FDA, 2012).

WHO (World Health Organization) dan FAO (Food and Agriculture Organization) menetapkan MSG sebagai salah satu bahan tambahan penguat rasa dalam masakan dan kemasan yang aman untuk dikonsumsi. Federation of America Society for Experimental Biology (FASEB) menyatakan bahwa glutamat dan aspartat menimbulkan efek toksik ketika diberikan dalam dosis yang tinggi pada spesies yang rentan. Dengan demikian, toksisitas glutamat dapat ditentukan oleh 2 faktor, yaitu kadar glutamat yang tinggi dalam darah dan spesies yang rentan terhadap toksisitas dari glutamat. Batasan aman dari penggunaan MSG adalah 0,6 g/hari jika dikonsumsi bersamaan dengan makanan. Laporan dari FASEB mengidentifikasi beberapa gejala jangka pendek, sementara, dan umumnya ringan, seperti sakit kepala, mati rasa, kesemutan, kesemutan, jantung berdebar, dan kantuk yang mungkin terjadi pada beberapa individu sensitif yang mengonsumsi 3 gram atau lebih MSG tanpa makanan (FDA, 2012).

2.1.6 Pengaruh MSG Terhadap Berat Lemak Visceral

Konsumsi monosodium glutamat dapat menyebabkan peningkatan glutamat yang berada di sirkulasi tubuh. Glutamat memasuki otak melalui *blood-brain barrier* yang renggang di hipotalamus. Wilayah otak yang paling rentan terhadap paparan glutamat adalah zona kontak neurohemal khusus yang ditemukan di beberapa daerah antara ventrikel serebral dan permukaan eksternal otak (Olney 1979, Weindl dan Joynt 1972). Area-area yang sangat

tervaskularisasi ini berada di luar *Blood-Brain Barrier*, yang terbentuk di permukaan bagian dalam mereka oleh persimpangan ketat antara sel astroglial yang dimodifikasi yang disebut *tanyocytes* yang melapisi batas-batas ventrikel mereka. Wilayah yang sensitif di antara mereka adalah median eminence (ME), yang menerima terminal akson dari nucleus arcuata terdekat (ARC) dan neuron neurosekretori hipotalamus lainnya. Endotelium kapiler fenestrated dari ME membuat kapiler fenestrated benar-benar dapat diakses oleh asam amino yang berasal dari plasma, sehingga kerusakan neuronal awal yang diinduksi glutamat kemungkinan besar hasil dari tingkat sirkulasi daripada akibat dari *cerebroventricular pool*. Hal ini dapat menyebabkan kadar glutamat meningkat di ekstraseluler sehingga menstimulasi reseptor NMDA secara berlebihan. Akibatnya kanal kalsium terbuka lebih lama, menyebabkan influks kalsium meningkat ke dalam sitoplasma. Peningkatan kadar kalsium dapat mengaktifkan kaskade apoptopsis yang dapat menyebabkan apoptosis neuron di hipotalamus khususnya nucleus arcuatus yang terdapat banyak reseptor leptin yaitu reseptor MC4-R (Dawson *et al*, 1997).

Penurunan densitas reseptor MC4-R menyebabkan terganggunya jaras melanokortin. Gangguan jaras ini dapat menginduksi obesitas akibat dari peningkatan hormon leptin dalam darah. Keadaan hiperleptinemia dalam jangka waktu lama akan menyebabkan resistensi reseptor leptin MC4-R di otak, resistensi leptin disebabkan oleh peningkatan kadar leptin plasma, yang menghasilkan rangsangan kronis reseptor leptin dan aktivasi jalur umpan balik negatif yang menghalangi pensinyalan leptin lebih lanjut. Model ini didukung oleh fakta bahwa leptin menstimulasi ekspresi SOCS-3, protein yang secara langsung menghambat pensinyalan leptin (Knobelspies *et al*, 2010) dan bahwa ablasi

SOCS-3 dalam neuron meningkatkan sensitivitas leptin dan melindungi terhadap *diet-induced obesity* (Kievit *et al*, 2006). Selain itu, ekspresi yang ditargetkan dari bentuk konstitutif dari STAT3, yang merupakan mediator kunci dari pensinyalan leptin, cukup untuk menginduksi resistensi leptin di hipotalamus (Ernst *et al*, 2009). Resistensi leptin menyebabkan terganggunya mekanisme keseimbangan energi tubuh dan memicu terjadinya obesitas. Obesitas akan meningkatkan lemak visceral dan berat organ visceral.

2.2 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak adalah diet tinggi kolestrol yang dimodifikasi dengan formulasi khusus untuk menimbulkan keadaan dislipidemia, hiperkolesterolemik, dan obesitas pada hewan coba. Diet tinggi lemak merupakan salah satu penyebab yang dapat mengawali sindrom metabolic dan akumulasi massa lemak. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Handayani, untuk takaran 2,5 kg pakan tinggi lemak terdiri dari komposisi tepung jagung (550 gram), gula pasir (457,5 gram), korsvet (275 gram), margarine (275 gram), *soybean oil* (130 gram), gelatin (130 gram), kasein (335 gram), *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) (132,5 gram), vitamin dan mineral (25 butir), air (375 gram), pewarna hijau (20 tetes), dan asam folat (5 gram) (Handayani, 2012). Komposisi diet tinggi lemak yang digunakan untuk membuat sediaan sebanyak 2,5 kg pakan dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 : Komposisi Diet Tinggi Lemak (Handayani, 2012)

Bahan	Jumlah
Tepung Jagung	550 gram
Gula Pasir	457,5 gram
Korsvet	275 gram
Margarin	275 gram
Soybean oil	130 gram
Gelatin	130 gram
Kasein	335 gram
CMC	132,5 gram
Vitamin dan mineral	25 butir
Air	375 gram
Pewarna hijau	20 tetes
Asam Kolat	5 gram
Total	2500 gram

Tepung jagung adalah bahan dasar untuk membuat pakan hewan percobaan. Menurut Srivastava *et al*, untuk menginduksi ateroskeloris pada mencit diperlukan diet yang ditambah dengan asam kolat. Diet tersebut dapat merubah gambaran lipoprotein menjadi lebih aterogenik, yaitu menurunkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dan meningkatkan *Low Density Lipoprotein* (LDL) plasma (Srivastava *et al*, 2000). Kolestrol dan lipoprotein khususnya LDL di dinding arteri merupakan penyebab dasar terjadinya kongesti pembuluh darah.

Secara normal, LDL mampu keluar dan masuk dari dinding arteri melalui endotel. LDL yang teroksidasi memicu penumpukan sel darah putih (monosit dan limfosit T) pada dinding pembuluh darah arteri yang selanjutnya akan memicu efek inflamasi (Rastini *et al*, 2010).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Heriansyah, untuk melihat pengaruh berbagai durasi pemberian diet tinggi lemak terhadap profil lipid tikus putih (*Rattus novergicus strain wistar*) jantan menunjukkan bahwa durasi pemberian diet tinggi lemak berpengaruh terhadap peningkatan kadar Trigliserida (TG) dan

LDL serta menurunkan kadar HDL tikus wistar jantan. Pada pemberian pakan 8, 16, dan 22 minggu menunjukkan bahwa durasi 8 minggu pemberian diet tinggi lemak secara signifikan meningkatkan kadar TG, LDL, dan menurunkan kadar HDL tikus putih strain wistar jantan. Semakin lama durasi pemberian diet tinggi lemak, maka kadar TG dan LDL akan semakin meningkat. Pakan yang diberikan sebanyak 20 gram/hari/tikus (Heriansyah, 2013).

2.2.1 Pengaruh Diet Tinggi Lemak Terhadap Berat Lemak Viseral

Konsumsi diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan jumlah sel adiposa. Peningkatan jumlah sel adiposa akan menyebabkan peningkatan sekresi hormone leptin. Leptin diproduksi oleh sel lemak dan bekerja pada hipotalamus dengan cara menekan asupan makanan dan menstimulasi pemakaian energi. Kerja ini dapat dijelaskan melalui mekanisme supresi leptin pada ekspresi neuropeptida Y (NPY) dan sekresi neuron pada nukleus arkuata. Selanjutnya terdapat bukti bahwa leptin juga secara fungsional bekerja sebagai antagonis kerja NPY. Neuropeptida Y sendiri merupakan stimulator nafsu makan kuat dan diketahui terlibat dalam regulasi beberapa hormon pituitari misalnya menekan growth hormone (GH) melalui stimulasi somatostatin, menekan gonadotropin, atau stimulasi aksis pituitary-adrenal (Farooqi dan O'Rahilly, 2009).

Variabel penting utama yang menentukan jumlah leptin dalam sirkulasi adalah massa lemak tubuh. Secara jelas pada kondisi siklus makan reguler, leptin merefleksikan proporsi jaringan adiposa, hal ini menggambarkan bahwa sintesis leptin dipengaruhi oleh sejumlah hormon. Stimulator kuat baik pada manusia atau hewan pengerat adalah insulin dan glukokortikoid. Dari temuan-temuan ini semakin jelas bahwa leptin adalah komponen integral berbagai siklus

metabolik dan umpan balik endokrin (*metabolic and endocrine feedback loops*)

(Huang dan Li, 2000).

Penelitian terakhir tentang obesitas pada manusia menunjukkan bahwa secara umum konsentrasi messengerRNA (mRNA) leptin pada jaringan adiposa dan konsentrasi leptin serum berhubungan positif dan erat dengan massa lemak tubuh. Leptin dalam sirkulasi terdapat dalam dua bentuk, bentuk bebas (bentuk biologis aktif) dan bentuk terikat, yaitu leptin-binding proteins. Leptin disekresi secara pulsatile dengan variasi diurnal-nocturnal yang signifikan. Karakteristik pulsasi leptin mirip pada individu normal dan obes dengan pengecualian hanya pada amplitudo pulsasi yang menunjukkan pada individu obesitas lebih tinggi (Blüher dan Mantzoros, 2009).

Walaupun ukuran antropometrik dan faktor lain (jenis kelamin, massa lemak dan distribusi lemak, hormonal, dan sitokin) mungkin mempengaruhi pola sekresi leptin, faktor krusial dalam pengaturan konsentrasi leptin serum adalah asupan kalori jangka pendek dan jumlah energi yang disimpan dalam sel adiposa. Konsentrasi leptin secara positif berhubungan dengan jumlah lemak tubuh dan pada individu obes menunjukkan adanya hiperleptinemia dibandingkan dengan individu normal, tetapi ada resistensi atau toleransi efek leptin pada hipotalamus. Resistensi leptin juga dapat terjadi ketika adanya penurunan sensitivitas leptin eksogenus maupun endogenus (Farooqi dan O'Rahilly, 2009).

Menurut penelitian yang dilakukan Lin S., *et al* perkembangan obesitas yang diinduksi oleh diet tinggi lemak, dibagi menjadi tahap awal, tengah, dan akhir. Peningkatan berat badan tikus yang diberi diet tinggi lemak terlihat secara

signifikan mulai minggu kedua (Lin *et al*, 2000). Tahap awal dari obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak pada tikus ditandai dengan asupan makanan yang relatif normal tetapi peningkatan berat badan dan penambahan lemak. Seperti yang ditunjukkan sebelumnya, dalam perbandingan langsung antara karbohidrat tinggi dan diet tinggi lemak yang diberikan secara isoenerjik, diet tinggi lemak tampaknya ditangani lebih efisien, menghasilkan peningkatan yang lebih besar pada massa adiposa pada tikus (Storlien *et al*, 1986). Penelitian ini menunjukkan, bagaimanapun, bahwa tikus yang diberi diet tinggi lemak selama 1 minggu memiliki respon yang sama dalam perubahan berat badan dan asupan energi kumulatif setelah injeksi leptin, menunjukkan bahwa tidak ada resistensi leptin perifer yang terjadi.

Fase tengah tampak ada upaya aktif peningkatan konsentrasi leptin plasma, untuk mengontrol tingkat kelebihan lemak dengan secara signifikan mengurangi asupan makanan. Namun, terlepas dari hipofagia, kelebihan lemak masih menumpuk dengan keuntungan nyata dalam efisiensi energi, setidaknya sebagian menghalangi upaya regulasi ini. Perifer, tetapi tidak sentral, resistensi leptin terbukti dengan 8 minggu HFF. Ini konsisten dengan penelitian lain yang menunjukkan bahwa sensitivitas leptin sentral masih utuh setelah 10 minggu diet HFF. Hipofagia kemudian dapat didorong melalui aktivasi reseptor leptin hipotalamus.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Buettner, *et al* dengan peningkatan jumlah sel adiposa, mencit model DIO (*Diet-Induced Obesity*) akan masuk ke dalam kondisi hiperleptinemia dan menjadi insensitif terhadap leptin secara perifer dalam minggu ke-8 konsumsi diet tinggi lemak (Buettner *et al*, 2007).

Selanjutnya, kegagalan *down-regulation* intake makanan oleh leptin akan

menyebabkan insensitivitas leptin perifer berkembang menjadi insensitivitas leptin sentral. Perkembangan resistensi leptin sentral pada mencit membutuhkan paparan diet tinggi lemak selama minimal 20 minggu (Zhang dan Scarpace, 2006). Resistensi leptin menyebabkan terganggunya mekanisme keseimbangan energi tubuh dan memicu terjadinya obesitas. Obesitas akan meningkatkan lemak viseral dan berat organ viseral.

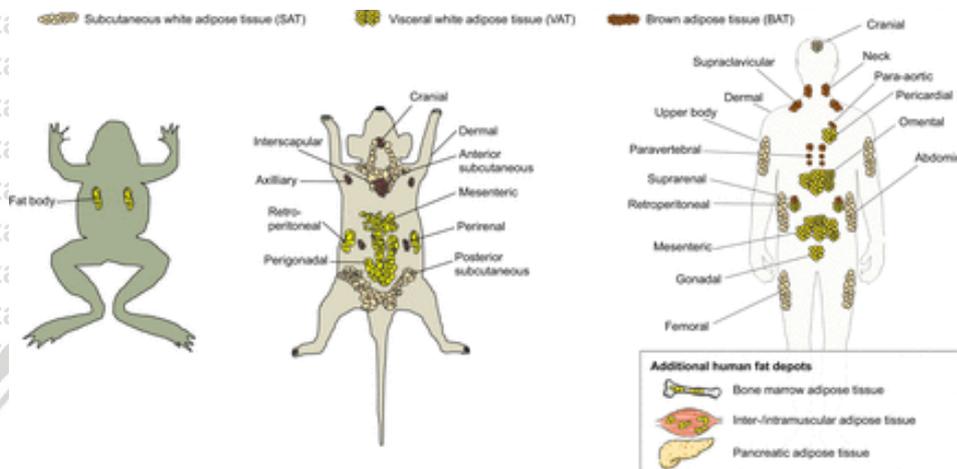
2.3 Lemak Viseral

2.3.1 Jaringan Lemak

Pada dasarnya setiap spesies hewan telah berevolusi untuk menyimpan energi dalam bentuk trigliserida. Secara umum, jaringan adiposa dapat dibedakan sebagai White Adipose Tissue (WAT) atau Brown Adipose Tissue (BAT), yang secara morfologis dan fungsional berbeda. WAT terutama terdiri dari sel-sel unilocular, dengan kapasitas tinggi untuk menyimpan trigliserida, sedangkan BAT mengandung adiposit multilokular, yang kaya akan mitokondria. Yang paling penting, BAT mengeluarkan energi dalam bentuk panas pada stimulasi β -adrenergik. Proses ini dimediasi oleh uncoupling protein 1 (UCP1), sebuah protein yang berada di membran mitokondria bagian dalam, yang melepaskan kekuatan motif proton dari rantai pernapasan, dengan demikian membakar energi sebagai panas (Klingenspor *et al*, 2008).

Dalam sebagian besar spesies, termasuk ikan, tikus dan manusia, adiposit sebagian besar diatur dalam depot jaringan adiposa yang secara anatomis berbeda, yang dapat secara luas dibagi menjadi depot intra-perut (sekitar organ perut) dan subkutan (di bawah kulit) (Pond, 1992). Situs utama penyimpanan energi bervariasi di antara spesies, dengan invertebrata, seperti amfibi dan reptil

yang secara istimewa menyimpan energi di dalam perut, sedangkan mamalia mengumpulkan lemak di dalam perut dan secara subkutan (Cinti, 2007; Pond, 1992).



Gambar 2.4 Sebaran Lemak Pada Tikus Wistar

Pada manusia, depot jaringan adiposa subkutan (SAT) terdiri dari depot kranial, wajah, perut, femoral, dan gluteal dan diyakini berfungsi sebagai perlindungan terhadap kerusakan mekanis dan kehilangan panas, meskipun penelitian terbaru menunjukkan bahwa jaringan adiposa dermal terutama bertanggung jawab untuk isolasi (Alexander *et al*, 2015; Kasza *et al*, 2014).

Trigliserida intra-abdominal disimpan dalam omentum serta retroperitoneal dan viseral (jaringan adiposa putih visceral, VAT), di mana VAT berfungsi untuk melindungi organ. Namun, rasio individu SAT terhadap VAT bervariasi tergantung pada usia, jenis kelamin, nutrisi dan homeostasis energi dari depot spesifik serta genetika individu (Bjørndal *et al*, 2011; Shungin *et al*, 2015; Wajchenberg *et al*, 2002). Meta-analisis mengidentifikasi dimorfisme seksual dalam dasar genetik dari distribusi lemak (Heid *et al*, 2010; Randall *et al*, 2013).

Dalam keadaan obesitas, wanita biasanya menunjukkan peningkatan akumulasi



SAT, yang mengarah pada apa yang disebut bentuk tubuh pir yang terkait dengan risiko metabolisme yang lebih rendah untuk diabetes tipe 2 dan penyakit kardiovaskular. Sebaliknya, pria secara klasik mengumpulkan lebih banyak VAT, menghasilkan bentuk apel yang terkait dengan risiko metabolisme yang lebih tinggi (Gesta *et al*, 2007).

Pada tikus, SAT termasuk subkutan posterior (psWAT, termasuk inguinal, dorso-lumbar dan gluteal WAT) dan jaringan adiposa putih subkutan anterior (asWAT). Adiposit kulit membentuk depot yang berdiri sendiri, berbeda dari SAT (Driskell *et al*, 2014; Festa *et al*, 2011), dengan fungsi potensial dalam siklus folikel rambut, penyembuhan luka dan infeksi bakteri (Alexander *et al*, 2015; Festa *et al*, 2011; Marangoni *et al*, 2015; Zhang *et al*, 2015). Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan peran metabolisme jaringan adiposa dermal.

WAT Murine terutama terdiri dari mesenterika (mWAT), retroperitoneal (rpWAT), perirenal (prWAT) dan jaringan adiposa putih perigonadal (pgWAT) (Cinti, 2007; Tran dan Kahn, 2010).

Depot BAT pada hewan pengerat dan bayi manusia terutama ditemukan di daerah inter dan subscapular (iBAT / sBAT), aksila (aBAT) dan serviks (cBAT) (Cinti, 2007; de Jong *et al*, 2015). Aktivitas BAT dapat ditingkatkan pada paparan dingin dan stimulasi noradrenergik, dan juga secara farmakologis (Giordano *et al*, 2016) dan dengan puasa (Migliorini *et al*, 1997). Pada manusia, BAT aktif diyakini hanya ada di leher dan bahu bayi baru lahir dan anak-anak kecil, di mana fungsinya dikaitkan dengan pemeliharaan suhu tubuh pada paparan dingin untuk mengkompensasi kurangnya shivering-thermogenesis (Lean, 1989)

2.3.2 Definisi Lemak Viseral

Lemak viseral adalah lemak yang disimpan dalam jaringan adiposa tubuh bagian perut (area rongga perut) sering disebut sebagai lemak organ atau lemak intra-abdominal. Lemak viseral yang terakumulasi menempel pada organ-organ vital di dalam rongga perut. Lemak yang disimpan dalam jaringan adiposa (kumpulan sel adiposa atau jaringan yang berfungsi untuk menimbun lemak) biasanya berwujud sebagai trigliserida (Mohan *et al*, 2004).

Komponen jaringan lemak tubuh yang utama salah satunya adalah *white adipose tissue* (WAT), berperan menjadi sumber asam lemak bebas dan digunakan sebagai sumber energi. Depot utama WAT berada di intra-abdominal sekitar omentum, usus dan daerah perineal serta di area subkutan pada pantat, paha dan perut (Balisteri *et al*, 2010). Lemak viseral dalam rongga perut mengelilingi dan membungkus organ-organ dalam tubuh manusia seperti lambung, hati, usus, jantung dan ginjal. Lemak viseral berbeda dengan lemak subkutan (di bawah kulit) dan lemak intramuskular (mengelilingi otot rangka).

Lemak di perut sebagian besar memiliki bentuk semi cairan. Kelebihan lemak viseral juga terkait dengan diabetes tipe 2, resistensi insulin, dan penyakit terkait obesitas lainnya (Mlinar *et al*, 2007).

2.3.3 Faktor Yang Mempengaruhi Lemak Viseral

1. Usia

Usia adalah salah satu faktor yang tidak dapat diubah terhadap kejadian obesitas sentral akibat akumulasi lemak viseral. Usia yang terus bertambah akan meningkatkan kandungan lemak tubuh, terutama distribusi lemak perut (Gutierrez-Fisac *et al*, 2004). Penurunan massa otot

dan perubahan beberapa jenis hormon yang memicu penumpukan lemak visceral pada bagian perut terjadi pada lansia. Jaringan adiposa meningkat dengan bertambahnya umur. Perempuan cenderung lebih berisiko obesitas sentral, terutama setelah menopause. Perempuan post menopause memiliki persentase lemak perut, kolesterol total dan trigliserida yang tinggi (Demerath *et al*, 2007).

2. Jenis Kelamin

Tingginya prevalensi obesitas sentral terjadi pada perempuan dibandingkan dengan laki-laki karena adanya perbedaan tingkat aktivitas fisik dan asupan energi pada laki-laki dan perempuan (Jakicic dan Otto, 2005). Lemak visceral pada perut lebih tinggi pada perempuan yang lebih tua daripada laki-laki muda. Perempuan mengontrol kelebihan energi sebagai lemak simpanan, sedangkan laki-laki menggunakan kelebihan energinya untuk mensintesis protein. Pola penggunaan energi untuk keseimbangan energi dan deposit lemak pada perempuan disebabkan oleh dua alasan. Pertama, penyimpanan lemak jauh lebih efisien daripada protein. Kedua, penyimpanan energi sebagai lemak akan berperan pada rendahnya rasio jaringan bebas lemak dengan jaringan lemak dengan hasil tidak meningkatnya resting metabolite rate (RMR) pada kecepatan yang sama sebagai massa tubuh (Demerath *et al*, 2007).

3. Merokok

Konsentrasi kortisol mempengaruhi tingkat lemak visceral. Perokok aktif memiliki konsentrasi kortisol plasma lebih tinggi daripada orang yang tidak merokok. Tingginya konsentrasi kortisol adalah akibat aktivitas sympathetic nervous system yang diinduksi oleh rokok. Lemak visceral

meningkat disertai penurunan testosteron pada laki-laki yang dipengaruhi oleh kebiasaan merokok. Peningkatan kortisol didalam tubuh menyebabkan meningkatnya insulin, leptin dan neuropeptida Y (NPY) yang berpengaruh ke sistem reward di otak (Asmadi, 2008). Hal ini dapat dijelaskan karena senyawa-senyawa dalam rokok merupakan racun bagi tubuh yang mengakibatkan hati harus bekerja lebih keras untuk mengeluarkannya melalui proses detoksifikasi. Hal ini akan meningkatkan stres pada tubuh yang mengakibatkan peningkatan produksi hormon kortisol. Hormon kortisol ini berpengaruh terhadap bentuk tubuh karena pengaruhnya dalam menghilangkan massa otot dan menimbun lemak (Chiolero *et al*, 2007).

4. Aktivitas Fisik

Pencegahan peningkatan berat badan secara signifikan berkontribusi untuk menurunkan berat badan dalam jangka waktu yang panjang dan mengurangi risiko kesehatan yang berhubungan dengan penyakit kronis. Pencegahan peningkatan berat badan dapat dilakukan dengan peningkatan aktifitas fisik seperti olahraga. Hubungan kuat terjadi antara aktivitas fisik dan lingkaran perut. Aktivitas fisik secara nyata dapat mengubah efek dari faktor genetik seseorang. Peningkatan aktivitas fisik lebih berhubungan secara nyata dengan lingkaran perut daripada IMT (Mustelin, *et al*, 2009). Lingkaran perut menurun secara signifikan dengan lari pada semua umur, namun penurunan lebih nyata pada perempuan yang lebih tua daripada yang lebih muda. Olahraga tingkat berat dapat menghindarkan penumpukan lemak yang bertambah seiring dengan umur (Williams dan Satariano, 2005).

5. Alkohol

Hubungan tingginya asupan minuman beralkohol dengan IMT tidak konsisten. Tingginya asupan minuman beralkohol menyebabkan penurunan konsentrasi testosteron pada laki-laki dan rendahnya sekresi lipid hormon steroid yang menyebabkan peningkatan akumulasi lemak viseral (Riserus dan Ingelsson, 2007).

6. Diet Tinggi Lemak

Penelitian yang dilakukan terhadap 33.542 orang Spanyol berumur 29-69 tahun menunjukkan bahwa makanan seperti gorengan (fried food) yang mengandung lemak berhubungan positif dengan obesitas umum dan obesitas sentral akibat asupan energi tinggi yang disimpan sebagai lemak dalam tubuh dan terdistribusi ke berbagai organ tubuh termasuk bagian perut (Guallar *et al*, 2007).

7. Stres

Penelitian yang dilakukan pada anak-anak mengenai stres dan adipositas sentral menunjukkan bahwa peningkatan reaktivitas heart rate pada waktu stres dapat mengakibatkan peningkatan lemak tubuh, IMT, dan lemak perut.13 Studi lain menunjukkan bahwa stress pada tingkat kronis dikaitkan dengan hypercortisolemia ringan dan aktivasi *sympathetic nervous system* yang berkepanjangan sehingga mengakibatkan penumpukan lemak viseral (Kyrou dan Tsigos, 2009). Respon neuroendokrin terhadap tekanan psikososial telah diketahui. Reaksi ini ditandai dengan peningkatan aktivitas *corticotropin releasing factor adreno corticotropin hormone (cortisol axis)*, sehingga terjadi penghambatan sekresi gonadotropin. Gangguan endokrin tersebut diikuti

oleh penyimpangan proses metabolisme dalam tubuh dan juga oleh penumpukan lemak viseral. Ketika faktor genetik identik, akumulasi lemak viseral dikaitkan dengan peningkatan stress psikososial dan perubahan hormonal secara bersamaan. Secara tidak langsung stres psikososial yang terjadi menyebabkan perubahan hormonal yang menyebabkan penumpukan lemak viseral (Marniemi *et al*, 2002).

8. Genetik

Hasil penelitian yang diperoleh hingga saat ini menunjukkan bahwa sejumlah besar gen, lokus, dan kromosom yang didistribusikan menuju kromosom lain berperan dalam menentukan distribusi lemak tubuh pada manusia. Semua kromosom kecuali kromosom Y berpotensi terlibat dalam etiologi obesitas. Sejumlah gen yang terlibat dalam akumulasi dan distribusi jaringan adiposa di daerah perut telah diidentifikasi. Mutasi gen reseptor adrenergik- β_3 (β_3 AR) terkait dengan obesitas viseral dan resistensi insulin yang terjadi di Finlandia dan di Jepang. Begitu juga dengan apo-B-100 gene EcoR-1 polymorphism ditemukan pada keadaan resistensi insulin dan obesitas viseral (Wajchenberg, 2000).

2.4 Obesitas

2.4.1 Definisi Obesitas

Obesitas dimaksud dengan peningkatan berat badan yang disebabkan oleh penumpukan jaringan adiposa, dan cukup banyak untuk menimbulkan dampak yang tidak diinginkan terhadap kesehatan manusia. (Badman, 2005). Ada beberapa teknik untuk mengukur akumulasi lemak, yaitu: Indeks Massa Tubuh (IMT) = $(\text{berat bada dalam kilogram})/(\text{tinggi badan dalam meter})^2$, pengukuran

lipatan kulit (skinfold measurements), lilitan tubuh (yang sering dipakai ialah rasio lilitan pinggul terhadap panggul) (Guyton & Hall, 2006). Index Massa Tubuh (IMT) atau Body Mass Index (BMI) adalah suatu alat bantu untuk mengetahui status gizi seseorang. Index Massa Tubuh tersedia dalam kriteria Asia Pasifik dan WHO. Terdapat perbedaan kategori dalam kriteria Asia Pasifik dan WHO. Kriteria Asia Pasifik diperuntukkan untuk orang-orang yang berdomisili di daerah Asia, karena Index Massa Tubuhnya lebih kecil sekitar 2-3 kg/m² dibanding orang Afrika, orang Eropa, orang Amerika, ataupun orang Australia. Rumus Index Massa Tubuh adalah : Berat Badan (kg) / Tinggi Badan(m²).

Tabel 2.2 Indeks Massa Tubuh Menurut WHO

IMT (Kg/m ²)	Kelas
<18,5	Underweight
18,5-22,9	Batas Normal
>23	Overweight
23-24,9	Mempunyai Risiko
25-29,9	Obese Kelas I
>30	Obese Kelas II

2.4.2 Etiologi dan Patofisiologi

Penyebab obesitas adalah kompleks dan sukar untuk dipahami. Faktor genetik, lingkungan dan psikologi memainkan peranan penting dalam patofisiologi obesitas. Secara ringkas, obesitas merupakan gangguan keseimbangan energi. Penggunaan (*expenditure*) serta pengambilan (*intake*) energi diregulasi oleh mekanisme neural dan hormonal tubuh, dan berat badan bisa tetap dijaga dalam rentang yang sempit untuk beberapa tahun (Guyton & Hall, 2006). Keseimbangan ini dijaga oleh set point dalaman (lipostat), yang bisa mendeteksi kuantiti cadangan energi (jaringan adiposa) dan meregulasi asupan makanan serta penggunaan energi. Beberapa tahun belakangan ini, gen



obesitas' telah diidentifikasi. Gen-gen ini mempunyai kode untuk komponen molekular untuk sistem fisiologis yang mengatur keseimbangan energi. Salah satu gen penting yang berperan dalam homeostasis energi ialah gen LEP serta produknya, leptin. Leptin merupakan sejenis sitokin yang disekresi oleh sel adiposa, berfungsi untuk meregulasi asupan makanan dan penggunaan energi. Efek leptin adalah untuk mengurangi pengambilan makanan dan meningkatkan penggunaan energi.

Dalam keadaan normal, keseimbangan energi berubah-ubah dari makanan satu ke makanan yang lain, dari hari ke hari, minggu ke minggu tanpa ada perubahan kekal dalam cadangan tubuh atau berat badan. Beberapa mekanisme fisiologis berperan penting dalam diri individu untuk menyeimbangkan keseluruhan asupan energi dengan keseluruhan energi yang digunakan dan untuk menjaga berat badan stabil dalam jangka waktu yang cukup panjang. Obesitas hanya akan muncul apabila terjadi keseimbangan energi positif untuk periode waktu yang cukup panjang (WHO, 2000).

Mekanisme neurohormonal yang meregulasi keseimbangan energi dan berat badan adalah sangat kompleks. Secara ringkas, mekanisme tersebut terbahagi kepada 3 komponen:

- 1) Sistem aferen, di mana sinyal muncul dari berbagai tempat pada tubuh. Komponen utamanya adalah leptin (jaringan adiposa), insulin (pankreas), ghrelin (lambung), peptida YY (ileum dan usus besar). Leptin mengurangi pengambilan makanan. Sekresi pemrosesan hipotalamus yang juga dikenali sebagai sistem melanokortin sentral, mengintegrasikan tipe sinyal-sinyal aferen yang berbeda dan menghasilkan sinyal-sinyal eferen.

2) Sistem ghrelin menstimulasi selera makan, dan bisa berfungsi sebagai

“sinyal untuk mula makan”. Peptida YY, yang dilepaskan selepas makan oleh sel-sel endokrin di ileum dan usus besar, merupakan sinyal yang menunjukkan kekenyangan (satiety).

3) Sistem eferen yang membawa sinyal dihasilkan di hipotalamus, ini mengawal pengambilan makanan dan penggunaan energi.

Sekresi leptin diregulasi oleh jumlah cadangan lemak, tetapi mekanismenya belum jelas. Dengan jaringan adiposa yang banyak, sekresi leptin

distimulasi, dan hormon tersebut sampai ke hipotalamus, di mana ia berikatan

dengan reseptor leptin pada dua kelas neuron. Satu kelas neuron yang sensitif

terhadap leptin menghasilkan neuropeptida yang memicu nafsu makan

(orexigenic), neuropeptida Y (NPY) dan protein agouti-related (AgRP). Kelas

neuron dengan reseptor leptin yang satu lagi menghasilkan peptida yang

menghambat nafsu makan (*anorexigenic*), hormon *alpha-melanocyte stimulating*

(α -MSH) dan transkrip yang berhubung dengan kokain- dan amfetamin- (CART).

Kerja neuropeptida anoreksigenik dan oreksigenik ditunjukkan dengan berikatan

pada set reseptor lain, yang paling utama adalah reseptor NPY dan reseptor

melanokortin 4 (MC4R), di mana AgRP dan α -MSH masing-masing berikatan.

Pengikatan leptin mengurangkan asupan makanan dengan cara menstimulasi

produksi α -MSH dan CART (peptida anoreksigenik) dan menghambat sintesis

NPY dan AgRP (peptida oreksigenik). Keadaan yang sebaliknya berlaku apabila

cadangan lemak tubuh tidak adekuat: sekresi leptin berkurang dan pengambilan

makanan meningkat. Pada individu dengan berat badan yang stabil, proses ini

dalam keadaan seimbang (Kumar *et al*, 2013).

Seperi yang telah dibahas sebelumnya, leptin bukan saja meregulasi nafsu makan, tetapi juga penggunaan energi, melalui mekanisme tertentu. Oleh itu, kadar leptin yang tinggi meningkatkan aktivitas fisik, penghasilan panas, dan penggunaan energi. Mediator-mediator neurohormonal untuk penggunaan energi yang dipicu oleh leptin kurang diketahui. Termogenesis mungkin merupakan efek katabolik paling utama yang dipicu oleh leptin melalui hipotalamus. Termogenesis sebagiannya dikawal oleh sinyal hipotalamus yang meningkatkan pelepasan norepinefrin daripada ujung syaraf simpatetik di jaringan adiposa. Sel lemak memaparkan reseptor β -adrenergik yang akan menyebabkan hidrolisis asam lemak dan penghasilan energi *uncouple* dari cadangan apabila distimulasi oleh norepinefrin (Kumar *et al*, 2013).

Pada mencit dan manusia, mutasi yang mempengaruhi jaras melanokortin sentral akan menyebabkan obesitas masif. Mencit dengan mutasi yang menghambat gen leptin atau reseptornya akan terus menerus makan dan bertambah berat badannya. Mencit ini gagal untuk mendeteksi bahawa cadangan lemak telah cukup, oleh karena itu ia berkelakuan seperti ia kekurangan gizi. Hal ini sama juga pada manusia. Namun, pasien seperti ini jarang ada. Paling sering adalah mutasi pada gen MC4R menyebabkan berlakunya obesitas, seperti 4-5% pasien dengan obesitas masif. Obesitas pada manusia dalam bentuk monogenik adalah jarang, dan dikatakan terdapat gangguan didapat (*acquired*) yang lain terlibat dalam patogenesis obesitas.

Contohnya, kadar leptin darah yang tinggi pada kebanyakan individu obesitas, menunjukkan resistensi terhadap leptin dibandingkan defisiensi leptin adalah lebih sering terjadi pada manusia. Tidak dinaifkan bahwa genetik mempunyai peran penting dalam mengawal berat badan. Namun, dengan adanya ciri-ciri

kompleks, obesitas bukanlah gangguan genetik semata-mata. Terdapat pengaruh dari lingkungan yang definitive. Prevalensi obesitas pada orang Asia yang pindah ke Amerika adalah lebih tinggi berbanding dengan yang tinggal di Asia. Hal ini mungkin merupakan akibat daripada perubahan tipe dan jumlah asupan gizi. Bagaimanapun kondisi genetik individu itu, obesitas tidak mungkin akan terjadi tanpa pengambilan makanan (Kumar *et al*, 2013).

2.5 Sistem Melanocortin

Sistem melanocortin memainkan peran kunci dalam sejumlah proses endokrin dan homeostatik. Agonis Melanocortin semua berasal dari gen preprohormone *Proopiomelanocortin* (POMC). POMC dibelah oleh *prohormone convertases* PC1 dan PC2 untuk menghasilkan sejumlah peptida termasuk anggota keluarga opioid dan melanocortin. Peptida melanocortin yang berasal dari POMC termasuk hormon *adrenocorticotrophic* (ACTH) dan α , β dan γ -*melanocyte-stimulating hormone* (MSH), dan semua mengandung rangkaian asam amino inti *signature* yang sama, His-Phe-Arg-Trp, yang diperlukan untuk mengikat keluarga dengan lima reseptor melanocortin yang digabungkan dengan G-protein. Istilah 'melanocortin' berasal dari fakta bahwa semua peptida ini menunjukkan aktivitas melanotropik dan/atau adrenocorticotropic. Selain peptida melanocortin, pembelahan POMC juga mengarah pada produksi peptida opioid, β -endorphin, *uncleavage product* yang mengandung β -MSH dan β -endorphin yang disebut β -lipotropin, dan peptida lobus menengah seperti corticotrophin.

Pada hewan pengerat, POMC pada prinsipnya diekspresikan dalam lobus intermedia hipofisis dan di otak, di nukleus arkuata dari hipotalamus (ARC) dan nucleus tractus solitaries (NTS) dari batang otak (Joseph *et al*. 1983). Namun, POMC juga diekspresikan di kulit, usus, plasenta dan pankreas (Smith & Funder

1988). Selain itu, sistem melanocortin adalah unik di antara sistem neuropeptida yang juga diatur oleh dua antagonis protein kecil endogen, agouti (Bultman *et al.* 1992; Woychik 1992) dan *agouti-related protein* (AgRP) (Ollmann *et al.* 1997; Shutter *et al.*,1997). Agouti diekspresikan pada sel epitel folikel rambut, yang disekresikan untuk mengatur ekspresi melanin oleh folikel melanocytes yang berdekatan. AgRP diekspresikan dalam korteks adrenal dan neuropeptida Y (NPY) neuron pada ARC (Ollmann *et al.* 1997; Shutter *et al.* 1997).

Ada lima reseptor melanocortin yang diketahui, MC1-5R yang sesuai dengan urutan di mana mereka dikloning, yang diekspresikan dalam sejumlah situs dan memiliki afinitas yang berbeda untuk peptida melanocortin yang berbeda. Tabel 2.3 menunjukkan ringkasan ligan utama dan fungsi masing-masing reseptor. Reseptor melanocortin adalah anggota dari keluarga reseptor G-protein yang digabungkan, yang melalui Gs untuk menstimulasi peningkatan cAMP intraseluler. Sedikit yang diketahui tentang kaskade sinyal hilir spesifik yang dihasilkan dari aktivasi reseptor melanocortin.

Tabel 2.3 Ringkasan Ligan, Lokasi, dan Fungsi Utama Reseptor Melanokortin

Reseptor	Potensi Aktivasi Ligan	Lokasi Utama	Fungsi Utama
MC1-R	α -MSH = ACTH > β -MSH > γ -MSH	Melanosit	Pigmentasi
MC2-R	ACTH	Kelenjar adrenal	Steroidogenesis
MC3-R	α -MSH = ACTH = β -MSH = γ -MSH	Otak	Homeostasis energi, natriuresis
MC4-R	α -MSH = ACTH > β -MSH > γ -MSH	Otak	Homeostasis energi
MC5-R	α -MSH > ACTH > β -MSH > γ -MSH	Kelenjar eksokrin	Sekresi kelenjar eksokrin

1. MCR-1

MC1-R diekspresikan sebagian besar dalam melanosit pada kulit dan rambut di mana ia terlibat dalam merangsang pigmentasi eumelanin dalam berbagai spesies termasuk manusia (Rees, 2003). Aksi dari agonis endogen α -MSH pada MC1-R meningkatkan produksi cAMP, yang menyebabkan peningkatan rasio eumelanin (hitam/coklat): pheomelanin (merah/kuning) yang mempromosikan pigmentasi gelap (Cone *et al.* 1996). Aksi agonis antagonis endogen pada MC1-R bertindak untuk memblokir efek α -MSH pada reseptor ini, mempromosikan ekspresi pheomelanin, yang mengarah ke dominasi pigmentasi merah/kuning. Contoh klasiknya adalah tikus agouti kuning (Ay) (Wolff *et al.*, 1999), yang secara ektopik mengekspresikan agouti di semua sel somatik yang mengarah pada pengembangan warna bulu kuning dan kegemukan.

2. MCR-2

MC2-R mengkodekan reseptor *adrenocorticotropin* (ACTH) (Mountjoy *et al.* 1992), yang diekspresikan pada korteks adrenal dan sangat penting dalam pengaturan aksis hipotalamus-pituitari-adrenal. Peran utama ACTH dalam sumbu ini adalah untuk mengontrol regulasi sintesis dan sekresi kortikosteroid oleh kelenjar adrenal; namun, ACTH juga penting untuk pengembangan korteks adrenal itu sendiri.

3. MCR-3

MC3-R pada prinsipnya diekspresikan dalam sistem saraf pusat (Roselli-Reh fuss *et al.* 1993) dan telah terlibat dalam sejumlah proses fisiologis termasuk natriuresis, regulasi kardiovaskular dan homeostasis energi. Dalam otak hewan pengerat, MC3-R mRNA sebagian besar

diekspresikan di hipotalamus, tetapi juga ditemukan pada tingkat yang lebih rendah di daerah limbik (Roselli-Rehfuess *et al.* 1993). Ligan utama untuk MC3-R adalah α - dan γ -MSH dan MC3-R diyakini memediasi efek natriuretik dari peptida ini (Ni *et al.* 1998, 2003). Tikus dengan penghapusan spesifik MC3-R menunjukkan fenotipe obesitas kompleks (Butler *et al.* 2000; Chen *et al.* 2000) yang melibatkan MC3-R dalam regulasi homeostasis energi. Secara singkat, tikus kecil MC3-R null menunjukkan peningkatan massa lemak dan penurunan massa ramping tanpa adanya peningkatan berat badan yang signifikan atau peningkatan yang terukur dalam asupan makanan. Selain diekspresikan di otak, MC3-R juga diekspresikan di sejumlah situs perifer termasuk jaringan adiposa, jantung, otot rangka, ginjal (Chhajlani, 1996), lambung, duodenum, plasenta dan pankreas (Gantz *et al.*, 1993). Tikus *knockout* MC3-R juga telah ditunjukkan untuk menunjukkan peningkatan kepekaan terhadap hipertensi yang sensitif terhadap garam (Ni *et al.*, 2003).

Dalam ARC, MC3-R mRNA diekspresikan dalam neuron POMC (Jegou *et al.*, 2000) yang mengarah ke saran bahwa sistem melanocortin dapat menggunakan MC3-R sebagai bagian dari mekanisme umpan balik pengaturan, sehingga telah diusulkan bahwa MC3-R bertindak sebagai penghambat *autoreceptor* yang mengatur nada *melanocortinergic*. Memang, telah ditunjukkan bahwa agonis spesifik MC3-R, D-Trp8- γ -MSH menghambat laju penembakan spontan neuron POMC (Cowley *et al.* 2001), dan administrasi senyawa merangsang asupan makanan (Marks *et al.*, 2005). Dengan demikian, reseptor melanocortin ini memiliki

beberapa fungsi, dan perannya dalam homeostasis energi tampak kompleks, bertindak untuk menghambat neuron POMC *anorexigenic*, namun muncul untuk memiliki efek *anorexigenic* kolektif sejak penghapusan gen menyebabkan obesitas pada tikus.

4. MCR-4

MC4-R diekspresikan terutama dalam sistem saraf pusat (SSP), tetapi memiliki distribusi yang jauh lebih luas daripada MC3-R. Studi menggunakan hibridisasi in situ (Mountjoy *et al*, 1994; Kishi *et al*, 2003) dan tikus transgenik mengekspresikan protein fluorescent hijau di bawah kendali promotor MC4-R (Liu *et al* 2003), telah melokalisasi MC4-R ke berbagai situs di otak hewan pengerat termasuk korteks, serebelum, striatum, hippocampus, hipotalamus, otak tengah, amigdala, talamus dan batang otak. Memang, MC4-R telah dilokalisasi ke semua area yang diketahui menunjukkan α -MSH binding (Tatro 1990). Distribusi ekspresi yang luas dari MC4-R menunjukkan bahwa itu mungkin terlibat dalam mediasi sejumlah proses neuroendokrin dan otonom (Mountjoy *et al*. 1994). Hipotesis ini telah diperpanjang menggunakan mouse MC4R-GFP. Pada otak belakang tikus MC4R-GFP, immunoreactivity GFP ditemukan dalam sel-sel yang mengandung kolin-asetiltransferase penanda neuron preganglionik otonom (Liu *et al*, 2003). Selain itu, dalam model tikus yang sama, *GFP-immunoreactivity* dalam nukleus paraventrikular dari hipotalamus ditemukan dalam *thyrotropin releasing hormone* dan neuron oksitosin (Liu *et al*, 2003) yang melibatkan MC4-R dalam memodulasi proses neuroendokrin. Salah satu fungsi MC4-R yang paling baik adalah pengaturan homeostasis energi (Fan *et al*, 1997; Huszar *et al*, 1997).

Tikus MC4-R null dalam keadaan *hyperphagic*, *hyperinsulinemic*, obesitas dan menunjukkan peningkatan pertumbuhan linear, dan dengan demikian mencerminkan fenotipe agouti obesitas. Mouse null MC4-R. Karena penyebarannya yang luas, fungsi lain juga dimodulasi oleh MC4-R, termasuk regulasi kardiovaskular (Li *et al*, 1996) dan fungsi ereksi (Poggioli *et al*, 1995; Wessells *et al*, 2003).

5. MCR-5

MC5-R diekspresikan sebagian besar dalam kelenjar eksokrin seperti kelenjar adrenal, lakrimal dan sebaceous, di mana berfungsi untuk mengatur sintesis dan sekresi berbagai macam produk kelenjar eksokrin (Chen *et al*, 1997). Tikus MC5-R null menunjukkan cacat pada produksi sejumlah produk yang disekresikan dari kelenjar eksokrin, termasuk porfirin, lipid sebaceous dan feromon (Chen *et al*, 1997). Sebagai hasil dari dugaan perubahan dalam sekresi feromon, tikus MC5-R null juga menunjukkan perubahan dalam agresi dan perilaku defensif (Caldwell & Lepri 2002; Morgan *et al*, 2004a, b).

2.5.1 Interaksi Antara Leptin Dan Sistem Melanocortin Sentral

Hormon adipostatik leptin, terutama diproduksi oleh adiposit, dilepaskan ke dalam sirkulasi dan memberikan efeknya pada homeostasis energi terutama melalui reseptor leptin yang diekspresikan di otak. Ada banyak bukti untuk menunjukkan bahwa sistem melanocortin sentral penting dalam memediasi efek leptin. Pertama, reseptor leptin diekspresikan pada sebagian besar neuron POMC pada ARC (Cheung *et al*, 1997) dan efek anorektik dari leptin yang diberikan secara eksogen pada hewan pengerat sebagian dibalik oleh pengobatan dengan SHU9119 (Seeley *et al*, 1997), menunjukkan bahwa sistem

melanocortin sentral adalah hilir dari reseptor leptin yang memberi sinyal dan memainkan peran kunci dalam memediasi efek hormon adipostatik yang penting. Selain itu, setelah pemberian leptin perifer, ekspresi protein yang terlibat dalam reseptor leptin yang menandakan kaskade seperti pSTAT-3 (transduser sinyal terfosforilasi dan aktivator transkripsi 3) dan SOCS-3 (penekan pensinyalan sitokin 3) diregulasi dalam neuron POMC dari ARC (Elias *et al*, 1999; Munzberg *et al*, 2003).

2.5.2 Sistem Melanocortin Sentral dan Sel Adiposa

2.5.2.1 Sistem Melanocortin Sentral Dan Persarafan Simpatis Jaringan

Adiposa

Salah satu mekanisme yang diusulkan dimana sistem melanocortin sentral mempengaruhi komposisi tubuh adalah melalui perubahan aktivitas saraf simpatis yang menginervasi jaringan adiposa. Pusat administrasi agonis α -MSH atau MTH dan AgRP antagonis meningkatkan dan menurunkan aktivitas simpatis dalam BAT (Haynes *et al*, 1999; Yasuda *et al*, 2004). Selain itu, pada tikus baik administrasi ventrikel ketiga dan keempat MTH menyebabkan up-regulasi mRNA UCP-1 dalam BAT (Williams *et al*, 2003) demikian, pensinyalan melanocortin dapat mengatur homeostasis energi dengan mempromosikan pengeluaran energi melalui mekanisme termogenik. Faktor adipostatik leptin juga meningkatkan aktivitas saraf simpatis ke BAT, tetapi beberapa penelitian menunjukkan bahwa tidak seperti efek leptin dalam asupan makanan, peningkatan aktivitas saraf simpatis BAT tidak dapat diblokir setelah pemberian antagonis MC3/4-R SHU9119 (Haynes *et al*, 1999) menunjukkan bahwa efek leptin pada asupan makanan dan pengeluaran energi dapat sebagian dimediasi

oleh jalur yang berbeda. Namun, ini kontroversial karena kelompok lain telah menemukan bahwa antagonis MC3/4-R SHU9119 mampu menghambat leptin yang diinduksi meningkatkan tingkat mRNA UCP-1 dalam BAT (Satoh *et al*, 1998).

Neuron POMC dari ARC lateral telah ditunjukkan menggunakan retrograde tracing untuk memproyeksikan secara transinaptik ke BAT (Oldfield *et al*, 2002) memberikan bukti anatomi untuk hubungan antara sistem melanocortin pusat dan situs efektor kritis ini. Namun, tikus MC4-R null mampu termoregulasi secara normal pada 4°C dan tidak memiliki peningkatan yang signifikan dalam tingkat mRNA UCP-1 dalam BAT di bawah kondisi basal, menunjukkan bahwa sistem melanocortin sentral tampaknya tidak terlalu penting dalam pengaturan BAT oleh suhu lingkungan (Butler *et al*, 2001).

2.6 Leptin

Leptin adalah hormon yang diproduksi oleh jaringan adipose, berperan sebagai sensor massa lemak dalam bagian *negative feedback loop* yang menjaga *set point* untuk lemak tubuh yang disimpan. Konsentrasi leptin yang bersirkulasi hampir paralel dengan lemak tubuh yang disimpan (Ashwini *et al*, 2010), peningkatan sel adipose juga akan meningkatkan produksi leptin, yang akan menghambat intake makanan dan sebaliknya. Karena itu, baik manusia maupun tikus yang tidak memiliki gen yang diturunkan atau mutasi pada gen yang mengkode leptin atau pada reseptornya akan menunjukkan obesitas dini yang parah (*severe early onset obesity*) (Farooqi *et al*, 2007).

2.6.1 Reseptor Leptin

Meskipun kisaran fenotip klinis dari defisiensi leptin kongenital dan defisiensi reseptor leptin serupa, defisiensi reseptor leptin pada manusia menghasilkan fenotipe yang lebih tidak parah (Farooqi *et al*, 2007). Defisiensi reseptor leptin juga diyakini lebih umum daripada defisiensi leptin, dan dapat mencapai hingga 3% dari semua kasus obesitas dini yang ekstrim. *Hypothalamic Arcuate Nucleus* (ARC) adalah area utama untuk persinyalan leptin dan resistensi leptin (Ashwini *et al*, 2010). Dalam ARC, ada dua kelas neuron yang berbeda; Satu kelas neuron yang sensitif terhadap leptin menghasilkan neuropeptida yang memicu nafsu makan (orexigenic), neuropeptida Y (NPY) dan *protein agouti-related* (AgRP). Kelas neuron dengan reseptor leptin yang satu lagi menghasilkan peptida yang menghambat nafsu makan (*anorexigenic*), yaitu peptide POMC (propiomelanocortin) dan transkrip yang berhubung dengan kokain- dan amfetamin- (CART) (Coll *et al*, 2008). Reseptor leptin sangat diekspresikan pada membran kedua jenis neuron tersebut yang memungkinkan leptin secara timbal balik mengatur kedua populasi ini.

Reseptor leptin merupakan protein membrane selapis yang menunjukkan kemiripan struktur dengan Famili Reseptor Sitokin Kelas I (Ashwini, *et al*, 2010).

Ada beberapa isoform alternatif yang berbeda disambung dari reseptor leptin (ObR), masing-masing dengan domain intraseluler yang khas. Tergantung pada panjang domain intraseluler, isoform diklasifikasikan sebagai pendek atau panjang. Isoform pendek (ObRa, ObRb, ObRc, ObRd, ObRe, dan ObRf) memiliki kapasitas sinyal yang terbatas sedangkan isoform lama ObRb diyakini sebagai bentuk sinyal utama dari reseptor (Ashwini *et al*, 2010). ObRa dan ObRc diekspresikan pada tingkat tinggi di microvessels otak yang merupakan *Blood-*

Brain Barrier dan memainkan peran kunci dalam transportasi leptin ke Sistem Saraf Pusat (Hileman *et al*, 2002). Transportasi leptin sangat terganggu pada kedua tikus yang kekurangan ObR dan pada model tikus obesitas yang diinduksi diet (Hileman *et al*, 2002). Secara umum diasumsikan bahwa kerusakan transportasi ini dihasilkan dari kejenuhan transporter leptin karena tingginya level leptin endogen pada tikus ini.

2.6.2 Resistensi Leptin

Ada sejumlah mekanisme molekuler yang diusulkan yang digunakan untuk menggambarkan fenomena resistensi leptin. Ini mencakup spektrum gangguan molekuler dan fungsional, yang secara luas dapat dicirikan menjadi: (i) gangguan transportasi leptin melintasi sawar darah otak dan (ii) gangguan fungsi reseptor leptin dan pemberian sinyal. Yang penting, bukti yang meyakinkan menunjukkan bahwa leptin sendiri dapat memainkan peran penting dalam pengembangan resistensi terhadap efeknya sendiri, yang disebut “resistensi leptin yang diinduksi leptin.” Kadar leptin yang meningkat secara kronis yang menjadi ciri obesitas menurunkan transportasi leptin ke SSP dan merusak sifat *signaling* reseptor leptin. Resistensi yang dihasilkan oleh leptin memberikan peningkatan kerentanan pada pasien *diet-induced obesity*, ketika diet dikonsumsi oleh pasien akan terjadi peningkatan leptin lebih lanjut dan semakin memperburuk resistensi leptin yang mengarah ke lingkaran setan kenaikan berat badan. Oleh karena itu selain menjadi penyebab utama obesitas, resistensi leptin juga merupakan konsekuensi penting (Scarpace *et al*, 2009).

Tikus obesitas yang diinduksi diet adalah sistem yang dikarakterisasi dengan baik untuk mempelajari perkembangan resistensi leptin dan patogenesis

obesitas. Pada tahap awal obesitas, tikus mengembangkan resistensi terhadap leptin yang dikirim secara perifer, tetapi tidak terpusat; ini telah dikaitkan dengan *downregulation* atau saturasi dari sistem transportasi yang mengangkut leptin melintasi penghalang darah-otak (Zachary *et al*, 2010). Setelah paparan jangka panjang untuk diet tinggi lemak (>20 minggu), tikus menjadi kebal terhadap leptin bahkan ketika itu langsung dimasukkan ke otak melalui ventrikel serebral (Munzberg *et al*, 2004). Pada hewan coba, neuron responsif leptin orde pertama tampaknya kehilangan kemampuan untuk mengaktifkan jalur sinyal di hilir reseptor leptin.

Dua model diusulkan mengenai paparan diet tinggi lemak dapat mengganggu sensitivitas leptin neuron-neuron. Yang pertama adalah bahwa resistensi leptin disebabkan oleh peningkatan kadar leptin plasma, yang menghasilkan rangsangan kronis reseptor leptin dan aktivasi jalur umpan balik negatif yang menghalangi pensinyalan leptin lebih lanjut. Model ini didukung oleh fakta bahwa leptin menstimulasi ekspresi SOCS-3, protein yang secara langsung menghambat pensinyalan leptin (Knobelspies *et al*, 2010) dan bahwa ablasi SOCS-3 dalam neuron meningkatkan sensitivitas leptin dan melindungi terhadap *diet-induced obesity* (Kievit *et al*, 2006). Selain itu, ekspresi yang ditargetkan dari bentuk konstitutif dari STAT3, yang merupakan mediator kunci dari pensinyalan leptin, cukup untuk menginduksi resistensi leptin di hipotalamus (Ernst *et al*, 2009).

Penjelasan alternatif untuk pengembangan resistensi leptin adalah bahwa lemak makanan itu sendiri, bukan hiperleptinemia yang bertanggung jawab.

Lemak bisa langsung memblokir pensinyalan leptin atau mengaktifkan proses seluler, seperti stres dan peradangan endoplasma retikulum (ER), yang merusak

neuron responsif leptin (Ozcan *et al*, 2009). Selain itu, resistensi leptin diketahui berkembang paling kuat di nukleus arkuatus dari hipotalamus, yang relatif terhadap daerah lain di otak telah meningkatkan akses ke sirkulasi nutrisi (Munzberg *et al*, 2004).

2.7 Hewan Coba

2.7.1 Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Banyak peneliti yang menggunakan tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) karena banyak yang menganggap aspek perilaku dan fisiologis tikus lebih relevan dengan manusia dan lebih mudah diamati, dipelihara dibandingkan dengan mencit. Terdapat beberapa galur tikus yang dapat digunakan untuk percobaan yaitu wistar albino, Long-evans, dan Sprague dawley, namun yang sering digunakan dalam penelitian adalah tikus wistar albino (Widiartini *et al*, 2013).

Terdapat beberapa alasan tikus digunakan sebagai hewan coba karena memiliki daya adaptasi yang baik, fungsi dan bentuk organ, serta proses biokimia dan biofisik antara tikus dan manusia memiliki banyak persamaan. Tikus dipilih sebagai hewan coba karena penanganannya dan pemeliharaannya mudah, biaya yang dibutuhkan tidak mahal, umur relatif pendek, sifat reproduksi menyerupai mamalia besar, lama kebuntingan singkat, angka kelahiran tinggi. Hewan ini banyak digunakan untuk tujuan penelitian ilmiah seperti uji pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, dan embriologi (Widiartini *et al*, 2013).

Menurut Hedrich (2006), taksonomi tikus wistar adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Subfilum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

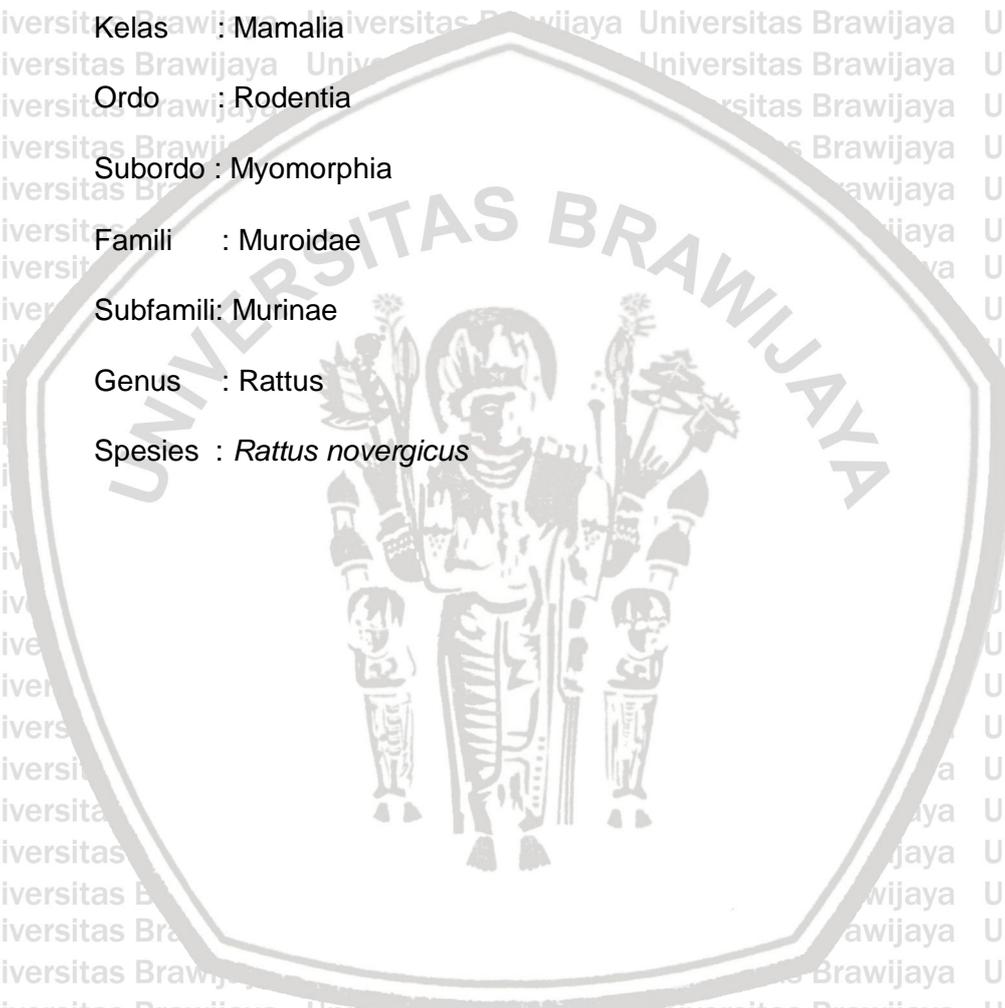
Subordo : Myomorpha

Famili : Muridae

Subfamili: Murinae

Genus : Rattus

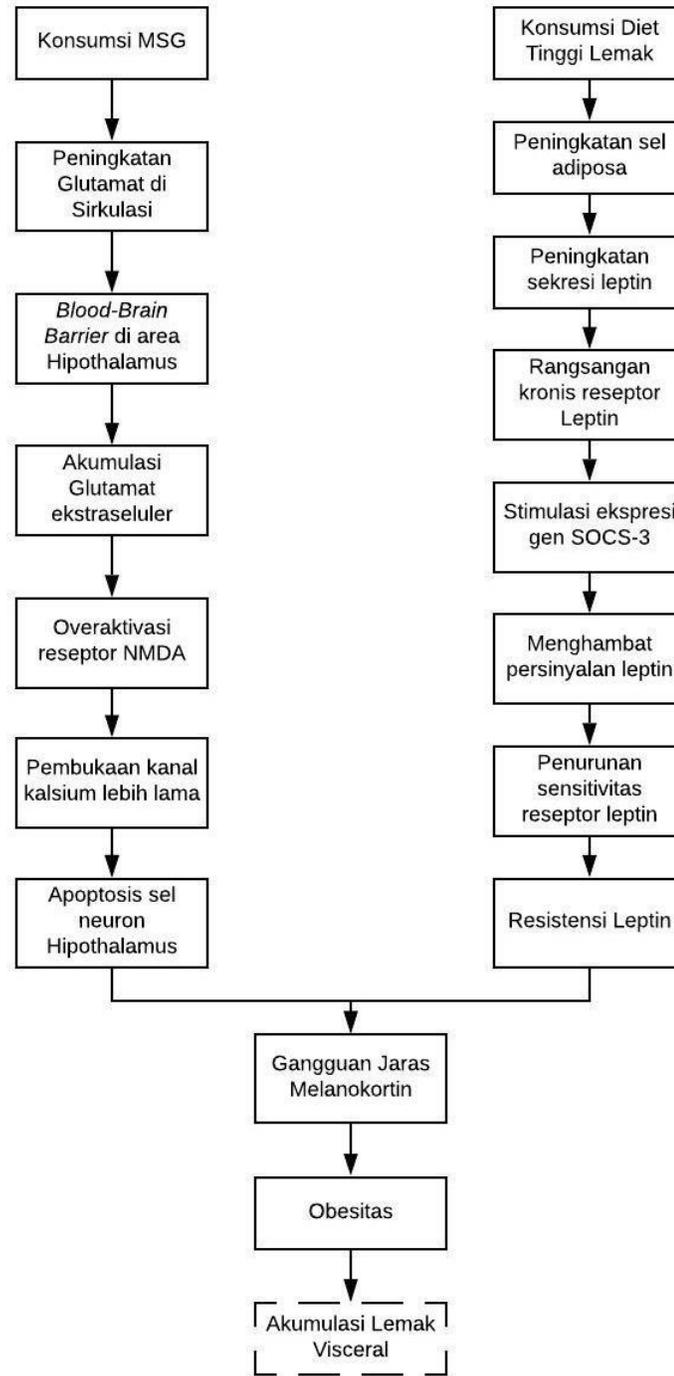
Spesies : *Rattus norvegicus*



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

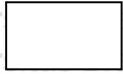
3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :



= Yang diamati



= Yang tidak diamati

Keterangan kerangka konsep penelitian :

Konsumsi monosodium glutamat dapat menyebabkan peningkatan glutamat yang berada di sirkulasi tubuh. Glutamat memasuki otak melalui *blood-brain barrier* yang renggang di hipotalamus. Wilayah otak yang paling rentan terhadap paparan glutamat adalah zona kontak neurohemal khusus yang ditemukan di beberapa daerah antara ventrikel serebral dan permukaan eksternal otak (Olney 1979, Weindl dan Joynt 1972). Hal ini dapat menyebabkan kadar glutamat meningkat di ekstraseluler sehingga menstimulasi reseptor NMDA secara berlebihan. Akibatnya kanal kalsium terbuka lebih lama, menyebabkan influks kalsium meningkat ke dalam sitoplasma. Peningkatan kadar kalsium dapat mengaktifkan kaskade apoptosis yang dapat menyebabkan apoptosis neuron di hipotalamus khususnya nucleus arcuatus yang terdapat banyak reseptor leptin yaitu reseptor MC4-R (Dawson *et al*, 1997).

Penurunan densitas reseptor MC4-R menyebabkan terganggunya jaras melanokortin. Gangguan jaras ini dapat menginduksi obesitas akibat dari peningkatan hormon leptin dalam darah. Ketika kadar hormon leptin meningkat di dalam darah, leptin sendiri akan menstimuli ekspresi SOCS-3, protein yang secara langsung akan menghambat persinyalan dari leptin (Knobelspies *et al*, 2010).

Keadaan hiperleptinemia dalam jangka waktu lama akan menyebabkan penurunan transportasi leptin ke sistem saraf pusat dan merusak sifat *signaling* reseptor leptin sehingga terjadi resistensi reseptor leptin MC4-R di otak. Karena penurunan persinyalan leptin, maka sinyal rasa kenyang untuk berhenti makan menurun, sehingga tubuh akan tetap merasa lapar dan terus makan. Peningkatan jumlah sel adiposa, akan meningkatkan kadar leptin dalam darah. Kadar leptin yang semakin meningkat, akan semakin merusak persinyalan leptin itu sendiri. Hal ini disebut dengan *leptin-induced leptin resistance* dan menyebabkan terganggunya mekanisme keseimbangan energi tubuh sehingga memicu terjadinya obesitas (Scarpace *et al*, 2009).. Obesitas akan meningkatkan lemak viseral.

Di sisi lain, Konsumsi diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan jumlah sel adiposa. Peningkatan jumlah sel adiposa akan menyebabkan peningkatan sekresi hormone leptin. Sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, keadaan hiperleptinemia dalam jangka waktu lama akan menyebabkan resistensi leptin. Peningkatan jumlah sel adiposa akan menyebabkan kondisi hiperleptinemia dan reseptor leptin menjadi insensitif terhadap leptin secara perifer dalam minggu ke-8 konsumsi diet tinggi lemak (Buettner *et al*, 2007). Selanjutnya, kegagalan *down-regulation* intake makanan oleh leptin akan menyebabkan insensitivitas leptin perifer berkembang menjadi insensitivitas leptin sentral. Perkembangan resistensi leptin sentral pada mencit membutuhkan paparan diet tinggi lemak selama minimal 20 minggu (Zhang dan Scarpace, 2006). Resistensi leptin menyebabkan terganggunya mekanisme keseimbangan energi tubuh dan memicu terjadinya obesitas. Pada individu obesitas terjadi peningkatan deposisi lemak viseral.

3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

Kombinasi monosodium glutamate dan diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan berat lemak visceral pada tikus wistar dewasa.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan *randomized control group post test design*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina jenis *Rattus novergicus strain wister*.

4.2 Sampel Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus betina jenis *Rattus novergicus strain wister*. Tikus yang digunakan berumur 6-8 minggu dengan berat badan 140-200 gram, tidak terdapat kelainan morfologi, memiliki bulu rata berwarna putih, sehat, mata jernih, bergerak aktif, dan tingkah laku normal.

4.2.1 Kriteria Inklusi

- 1) Jenis kelamin tikus : Betina
- 2) Berat badan tikus : 140-200 gram
- 3) Umur tikus : 6-8 minggu
- 4) Sehat ditandai dengan pergerakan yang aktif, mata berwarna jernih, tidak ada kelainan morfologi dan bulu yang tebal berwarna putih.

4.2.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus yang kondisinya menurun karena hal yang tidak berkaitan dengan penelitian selama penelitian berlangsung
- 2) Tikus yang mati selama penelitian berlangsung

4.2.3 Jumlah Sampel

Jumlah pengulangan (n) pada setiap perlakuan (p) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut (Notoadmodjo, 2010) :

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

p = jumlah perlakuan; n = jumlah ulangan tiap perlakuan

Pada penelitian ini $p = 6$ sehingga jumlah pengulangan adalah

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21, n \geq 3,5 \text{ dibulatkan menjadi } n \geq 4$$

Jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap perlakuan adalah 4 ekor tikus.

Untuk setiap perlakuan diberikan penambahan 1 ekor tikus, sehingga total sampel yang dibutuhkan $5 \times 6 = 30$ ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

Variable pada penelitian ini ada dua yaitu variabel tergantung dan variabel bebas :

4.3.1 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah berat lemak viseral tikus dewasa jenis *Rattus novergicus*.

4.3.2 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian MSG dan diet tinggi lemak. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,2; 0,05; 0,35 mg/gBB tikus.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilakukan selama 56 hari.

Lama waktu percobaan didasarkan pada penelitian Heriansyah (2013) pada tikus putih jenis *Rattus novvergicus* jantan yang diberikan diet tinggi lemak selama 56 hari secara signifikan menunjukkan peningkatan kadar TG, LDL, dan penurunan kadar HDL tikus.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Monosodium Glutamat (MSG)

Monosodium glutamate yang digunakan adalah *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% yang didapatkan dari TCI Biowalt Company. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,2; 0,35 mg/gBB (Megawati, *et al.*, 2005).

4.5.2 Diet Tinggi Lemak

Komposisi makanan yang terdiri dari tepung jagung, gula pasir, korsvet, margarin, *soybean oil*, gelatin, kasein, *carboxyl methyl cellulose* (CMC), air, asam kolat (Handayani, 2012). Diet tinggi lemak diberikan 25g/hari selama 56 hari.

4.5.3 Diet Normal

Diet normal adalah pakan normal tikus yang terdiri dari tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, *soybean oil* 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, CMC 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml. Pakan normal yang diberikan adalah 25g/hari (Handayani, 2012).

4.5.4 Berat Lemak Viseral

Berat lemak viseral tikus wistar dewasa ditimbang segera setelah dibedah dan diambil dari rongga peritoneum dan dibersihkan dari organ-organ tikus seperti hati, pancreas, dan intestinum.

4.6 Instrumen Penelitian

4.6.1 Alat

4.6.1.1 Alat Untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus yang berupa box plastic berukuran 15 x 30 x 42 cm sebanyak 30 buah diisi dengan sekam dan ditutup dengan kawat kasa. Masing-masing kandang ditempati 1 ekor tikus.

b. Tempat makan tikus

c. Botol minum tikus

4.6.1.2 Alat Pembuat dan Pemberian Bahan Makanan Hewan Coba

Baskom plastik, timbangan, sarung tangan, gelas ukur, wadah minum, pengaduk, sonde lambung dan nampan.

4.6.1.3 Alat Bedah Hewan Coba

Toples, gunting bedah, stereoform, pinset, pisau bedah, spuit, dan kapas.

4.6.1.4 Alat Penimbang Berat Badan Hewan Coba

Neraca Ohaus Sartorius.

4.6.2 Bahan

4.6.2.1 Bahan Makanan Tikus

- a. Pakan normal yang diberikan saat aklimatisasi memiliki komposisi (untuk 1 kg pakan) : tepung jagung 615 gram, gula pasir 85 gram, *soybean oil* 45 gram, gelatin 65 gram, kasein 90 gram, CMC 51 gram, vitamin dan mineral 5 butir, air 750 ml. Pakan normal yang diberikan adalah 25g/hari (Handayani,2012).
- b. MSG *L-glutamic acid monosodium salt hydrate* 99% yang diperoleh dari TCI Biowalt Company. Dosis MSG yang diberikan adalah 0,7; 0,05; 0,2; dan 0,35 mg/gBB tikus masing-masing dilarutkan dalam 1 ml akuades (Megawati *et al.*, 2005).
- c. Diet Tinggi Lemak memiliki komposisi (untuk 2,5 kg pakan): tepung jagung 550 gram, gula pasir 457,5 gram, korvet 275 gram, margarin 275 gram, *soybean oil* 130 gram, gelatin 130 gram, kasein 335 gram, CMC 132,5 gram, vitamin dan mineral 25 butir, air 375 gram, dan asam kolat 5 gram, Diet tinggi lemak yang diberikan adalah 25g/hari (Handayani, 2012).
- d. Minuman hewan coba adalah air matang.

4.6.2.2 Bahan Untuk Pembedahan Hewan Coba

Ketamin 0,2 ml, Formalin.

4.7 Operasional Penelitian

4.7.1 Pembuatan Diet Normal

Komposisi pembuatan diet normal dapat dilihat pada table 4.1.

Tabel 4.1 Komposisi untuk 2,5 kg Pakan Normal (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung Jagung	615 gram
Gula Pasir	85 gram
Soybean Oil	45 gram
Gelatin	65 gram
Kasein	90 gram
CMC	51 gram
Vitamin dan mineral	5 butir
Air	750 ml

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari

Bahan ditimbang sesuai dengan jumlah dan komposisi kemudian dicampur.

Pakan dibentuk bulatan-bulatan kemudian ditimbang sesuai dengan konsumsi pakan tikus basah yaitu 15% dari BB tikus. Dalam penelitian ini rata-rata berat badan tikus adalah 160,6 gr sehingga kebutuhan pakan = $15\% \times 160,6 = 24,09$ gram (dibulatkan menjadi 25 gram).

4.7.2 Pembuatan Diet Tinggi Lemak

Komposisi pembuatan diet tinggi lemak untuk sediaan 2,5 kg dapat dilihat pada tabel 4.2



Tabel 4.2 Komposisi untuk 2,5 kg Diet Tinggi Lemak (Handayani, 2012)

Komposisi	Jumlah
Tepung jagung	550 gram
Gula pasir	457,5 gram
Korvet	275 gram
Margarin	275 gram
<i>Soybean oil</i>	130 gram
Gelatin	130 gram
Kasein	335 gram
CMC	132,5 gram
Vitamin dan mineral	25 butir
Air	375 gram
Asam Kolat	5 gram

Kebutuhan pakan tikus per hari = 25 gram/tikus/hari

Bahan ditimbang sesuai dengan jumlah dan komposisi lalu dicampur, air dan gula dipanaskan hingga mendidih dicampur gelatin serta dengan bahan lain yang sudah dicampur dan setelah itu diaduk rata. Pakan dibentuk bulatan-bulatan kemudian ditimbang sesuai dengan konsumsi pakan tikus basah yaitu 15% dari BB tikus. Dalam penelitian ini rata-rata berat badan tikus adalah 160,6 gr sehingga kebutuhan pakan = $15\% \times 160,6 = 24,09$ gram (dibulatkan menjadi 25 gram).

4.7.3 Pemaparan MSG pada Tikus

Monosodium Glutamat (MSG) dilarutkan dalam 1 ml aquades diberikan secara intragastrik menggunakan sonde lambung setiap pagi hari secara oral dengan dosis masing-masing sesuai kelompok selama 56 hari.

4.7.4 Perlakuan Terhadap Tikus

4.7.4.1 Adapatasi Hewan Coba

1. Sebelum dilakukan perlakuan, hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari dan diberi pakan normal. Masing-masing tikus mendapatkan 25 gram.

Pakan dan minum diberikan *ab libitum*.

2. Setelah aklimatisasi, tikus dibiarkan selama 10 hari dengan pemberian pakan normal untuk mengetahui siklus estrus normal tikus dalam dua kali siklus.

3. Hewan coba sesuai dengan kriteria inklusi sebanyak 30 ekor tikus dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap dilakukan agar setiap hewan coba berpeluang sama untuk mendapatkan kesempatan sebagai sampel baik dalam kelompok penelitian maupun dalam kelompok kontrol.

4.7.4.2 Penentuan Kelompok Perlakuan

Setelah diaklimatisasi, tikus putih *Rattus novergicus* sebanyak 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok dengan metode rancangan acak lengkap yang terdiri dari :

- a. Tikus kelompok kontrol negatif (-) : tikus yang diberi diet normal 25 g/hari.
- b. Tikus kelompok kontrol positif (+) 1 : tikus yang diberi diet tinggi lemak 25g/hari.
- c. Tikus kelompok kontrol positif (+) 2 : tikus yang diberi diet normal dan MSG 0,7 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.
- d. Tikus kelompok Perlakuan 1 (P1) : tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,05 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.

e. Tikus kelompok Perlakuan 2 (P2) : tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,2 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml.

f. Tikus kelompok Perlakuan 3 (P3) : tikus yang diberi diet tinggi lemak + MSG 0,35 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1ml.

Pemberian MSG diberikan pada kelompok kontrol positif (+) 2, dan kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3). Dosis MSG yang diberikan mengacu pada penelitian Megawati dkk. (2005) dimana kelompok perlakuan diberikan pada penelitian tersebut adalah MSG dengan dosis 77 mg, 98 mg, 119 mg, dan 140mg/200gBB tikus. Pemberian dosis MSG 140mg/200gBB tikus menunjukkan bahwa jumlah folikel sekunder dan korpus luteum menurun serta folikel atresia jumlahnya meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan dosis MSG sebesar 0,7 mg/gBB tikus pada kelompok kontrol positif (+) 2. Peneliti melakukan penurunan dosis pada kelompok percobaan mendekati dosis yang dikonsumsi oleh manusia. Konsumsi MSG pada manusia berdasarkan penelitian Andarwulan dkk., (2011), di Bogor (847,04 mg/orang/hari) lebih tinggi dibandingkan dengan Jakarta (615,87mg/orang/hari). Maka rata-rata konsumsi MSG dapat diperkirakan $(847,04 + 615,87) / 2 = 731,455$ mg/orang/hari. Jika dikonversikan ke dosis tikus (200 g) maka $731,455 \times 0,018$ (Tabel. 4.3) = 13,17 mg/ 200gr BB = 0,06 mg/gram BB. Peneliti menggunakan dosis pertama 0,05 mg/gBB dan pemberian dosis kedua dan ketiga menggunakan interval 1,5 yaitu 0,2 mg/gBB dan 0,35 mg/gBB. MSG dicampurkan ke dalam aquades 1 ml dengan dosis yang sesuai dengan

kelompok perlakuan. MSG diberikan secara oral dengan menggunakan sonde.

Tabel 4.3 Konversi Perhitungan Dosis dari Manusia ke Tikus

	Mencit (20g)	Tikus (200g)	Marmot (400g)	Kelinci (1,5kg)	Kera (4kg)	Anjing (12kg)	Manusia (70kg)
Mencit (20g)	1,0	7,0	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
Tikus (200g)	0,14	1,0	1,74	3,9	9,2	17,8	56,0
Marmot (400g)	0,08	0,57	1,0	2,25	5,2	10,2	31,5
Kelinci (1,5kg)	0,04	0,25	0,44	1,0	2,4	4,5	14,2
Kera (4kg)	0,016	0,11	0,19	0,42	1,0	1,9	6,1
Anjing (12kg)	0,008	0,06	0,10	0,22	0,52	1,0	3,1
Manusia (70kg)	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,16	0,32	1,0

Sumber: Donatus, 1996

4.7.4.3 Proses Pemeliharaan Hewan Coba

- Setiap tikus ditempatkan pada sebuah kandang yang berupa box plastic berukuran 15 x 30 x 42 cm yang diisi dengan sekam, ditutup dengan kawat kasa, dan di dalamnya diberi botol air.

- b. Sebelum perlakuan, berat badan tikus ditimbang, yaitu pada awal masa adaptasi sehingga dapat dipantau berat badan tikus.
- c. Pemberian diet tinggi lemak diberikan sebagai pakan tikus.
- d. Pemberian MSG dilakukan melalui sonde lambung sesuai dengan takaran pada tiap kelompok. Hal ini dilakukan untuk menjaga dosis pemberian MSG pada tikus.
- e. Dilakukan penimbangan bahan makanan pada tikus tiap kelompok perlakuan setiap hari untuk mengetahui asupan makanan tikus.
- f. Perlakuan pada tikus dilakukan secara bersamaan selama 56-61 hari dan sekam diganti setiap 4 kali/hari atau bila sekam kotor.
- g. Pada akhir penelitian setelah 56-61 hari semua tikus ditimbang berat badannya untuk selanjutnya dibedah pada fase proestrus dan dilakukan pengambilan organ untuk diteliti lebih lanjut.

4.7.4.4 Penentuan Fase Estrus dan Waktu Pembedahan

Waktu pembedahan didasarkan pada fase estrus. Penentuan fase estrus ini menggunakan pemeriksaan swab vagina pada hari ke-56 paparan. Langkah-langkah pengambilan swab vagina adalah:

1. Mempersiapkan *cotton buds*, kaca objek, *cover glass*, cat *Metilen Blue*, dan mikroskop.
2. Masukkan *cotton buds* ke lubang vagina untuk mendapatkan lendir.
3. Meletakkan lendir pada kaca objek.
4. Meneteskan cat *Metilen Blue* pada lendir dan menutup lendir menggunakan *cover glass*.
5. Slide swab vagina kemudian diperiksa menggunakan mikroskop untuk menentukan fase proestrus.

Pada penelitian ini pembedahan dilakukan pada fase proestrus karena fase ini ovarium dalam keadaan proliferasi dan terjadi peningkatan estrogen. Apabila pada hari ke-56 ada tikus yang belum mencapai fase proestrus, maka penelitian tetap dilanjutkan kurang lebih 4-5 hari sampai mencapai fase proestrus yaitu sampai pada hari ke-61.

4.7.5 Prosedur Pengambilan Lemak Viseral

1. Proses Anestesi

Prosedur anestesi merupakan prosedur pertama yang dilakukan di laboratorium lapangan. Anestesi bertujuan untuk meimobilisasi gerak tikus serta mengurangi rasa sakit yang timbul akibat proses pengambilan darah dan pembedahan. Anestesi dilakukan dengan cara menginjeksikan ketamin sebanyak 0,2 ml, dan dibiarkan selama 2-5 menit sampai anestesi bekerja. Penilaian anestesi sudah mulai bekerja terlihat dari aktivitas tikus yang mulai menurun, tikus tampak lemas, laju pernafasan, dan denyut jantung tikus menurun. (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017)

2. Proses Pembedahan

Sisi ventral tikus ditempatkan di atas nampan bersih. Permukaan ventral diusap/semprot dengan alkohol dan dilap dengan kapas. Kulit bagian bawah perut dicubit dengan pinset/forceps. Gunting tumpul runcing ditempatkan di bawah jari/forcep dengan kemudian potong hingga menembus kulit dan otot-otot perut. Satu sisi gunting yang tumpul dimasukkan ke dalam sayatan dan dibuat satu potongan dengan pola lurus dari perut kearah dada. Potongan kulit dan otot-otot yang berada di atas diafragma ditarik untuk mengekspos rongga perut sepenuhnya. Lemak

viseral diambil dari rongga peritoneum dan dibersihkan dari organ-organ sekitarnya, kemudian lemak viseral dimasukkan ke dalam wadah berisi formalin untuk ditimbang selanjutnya (Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017).

3. Proses penimbangan

Lemak viseral ditimbang menggunakan timbangan digital. Hasil dicatat dan dirata-rata berat lemak viseral dari masing-masing kelompok perlakuan.

4.8 Analisis Data

Pengambilan data dan analisa dilakukan setelah 56 hari penelitian. Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 25.00 for Windows* dengan tingkat signifikansi 0,05 ($p < 0,05$). Jika nilai p (p values) $> 0,05$ dikatakan tidak signifikan, dan jika p values $< 0,01$ dikatakan sangat signifikan. Langkah-langkah uji data adalah sebagai berikut:

- a. Uji normalitas data: bertujuan untuk mengetahui apakah data memiliki sebaran/distribusi yang normal atau tidak. Penyajian data yang terdistribusi normal menggunakan *mean* dan standar deviasi sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Penyajian data yang tidak terdistribusi normal menggunakan median dan minimum-maksimum sebagai pasangan ukuran pemusatan dan penyebaran. Apabila distribusi/sebaran data, maka uji hipotesis menggunakan uji parametric, sedangkan jika sebaran data yang tidak normal, maka uji hipotesis menggunakan uji non-parametrik. Uji normalitas yang digunakan pada penelitian ini adalah uji Saphiro-Wilk karena jumlah sampel yang

digunakan kurang dari 50 ($n \leq 50$). Data dikatakan memiliki persebaran normal jika $p > 0,05$.

b. Uji homogenitas varian (menggunakan uji Levene): jika varian dalam kelompok homogen, maka asumsi untuk menggunakan Anova telah terpenuhi. Pada penelitian ini menggunakan uji Levene. Data dikatakan memiliki varian yang homogen apabila signifikansinya $p > 0,05$.

c. Uji *One Way ANOVA (Analysis of Variance)*: bertujuan untuk membandingkan nilai rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui bahwa minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Perbedaan pada kedua kelompok dianggap signifikan bila $p < 0,05$.

d. *Post hoc test*: untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari uji ANOVA. Uji *Post Hoc* yang digunakan adalah uji Fisher's LSD dengan tingkat signifikansi 95% ($p < 0,05$).

4.9 Etik Penelitian

Dalam memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan dilakukan prinsip 3 R 5 F yaitu (Santoso, 2011):

1) *Replacement*: dalam penelitian ini, digunakan hewan coba sebagai subjek untuk memperoleh bukti efek kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap berat lemak viseral.

2) *Reduction*: penelitian ini menggunakan jumlah sampel hewan coba minimal berdasarkan rumus Notoadmodjo (2010) yaitu $p(n - 1) \geq 15$ dengan p : jumlah perlakuan, n : jumlah ulangan. Jumlah perlakuan sebanyak 6, jadi dilakukan minimal 4 kali pengulangan untuk masing-masing kelompok. Untuk

setiap perlakuan diberikan penambahan 1 kali pengulangan sebagai cadangan, sehingga total sampel yang dibutuhkan adalah 5 ekor tikus x 6 kelompok = 30 ekor tikus.

3) *Refinement* adalah memperlakukan hewan percobaan secara manusiawi.

Prinsip *refinement* berarti membebaskan hewan coba dari beberapa kondisi, yaitu:

a) *Freedom from hunger and thirst*

Memastikan hewan coba tidak kelaparan dan kehausan dengan memberikan makan dan minum secara teratur setiap hari dengan memperhatikan komposisi sesuai dengan kelompok perlakuan serta memantau konsumsi makanan setiap hari.

b) *Freedom from pain*

Selama perlakuan hewan coba diberikan MSG melalui sonde lambung dengan cara memegang hewan coba pada bagian tengkuk secara hati-hati namun mantap menggunakan ibu jari dan telunjuk sehingga kepala tikus tidak bergerak-gerak dan sonde lambung dapat dimasukkan. Pada saat pembedahan untuk mengurangi rasa sakit pada hewan dilakukan anaestesi terlebih dahulu sebelum dilakukan pembedahan.

c) *Freedom from injury and disease*

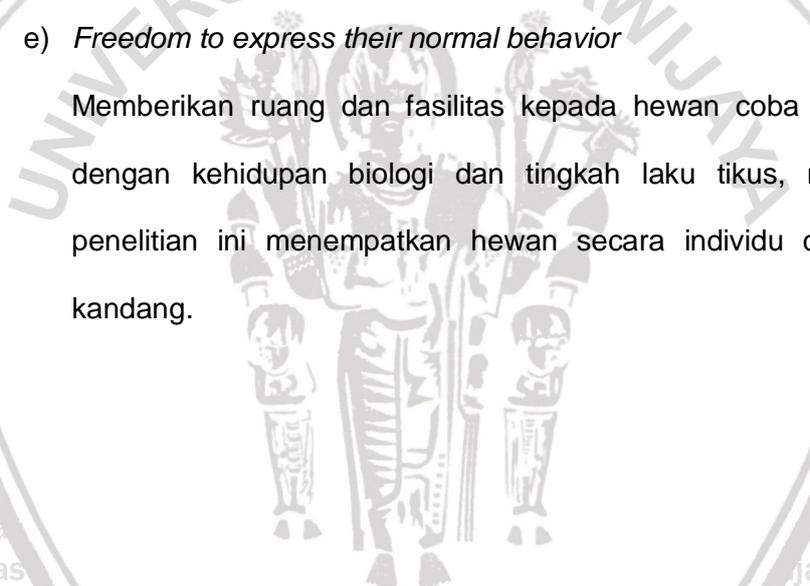
Hewan coba tidak diberikan perlakuan yang menimbulkan nyeri dan penyakit secara langsung. Hewan coba akan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan jika diperlukan dengan catatan pengobatan penyakit tidak mengganggu penelitian.

d) *Freedom from distress and feeling discomfort*

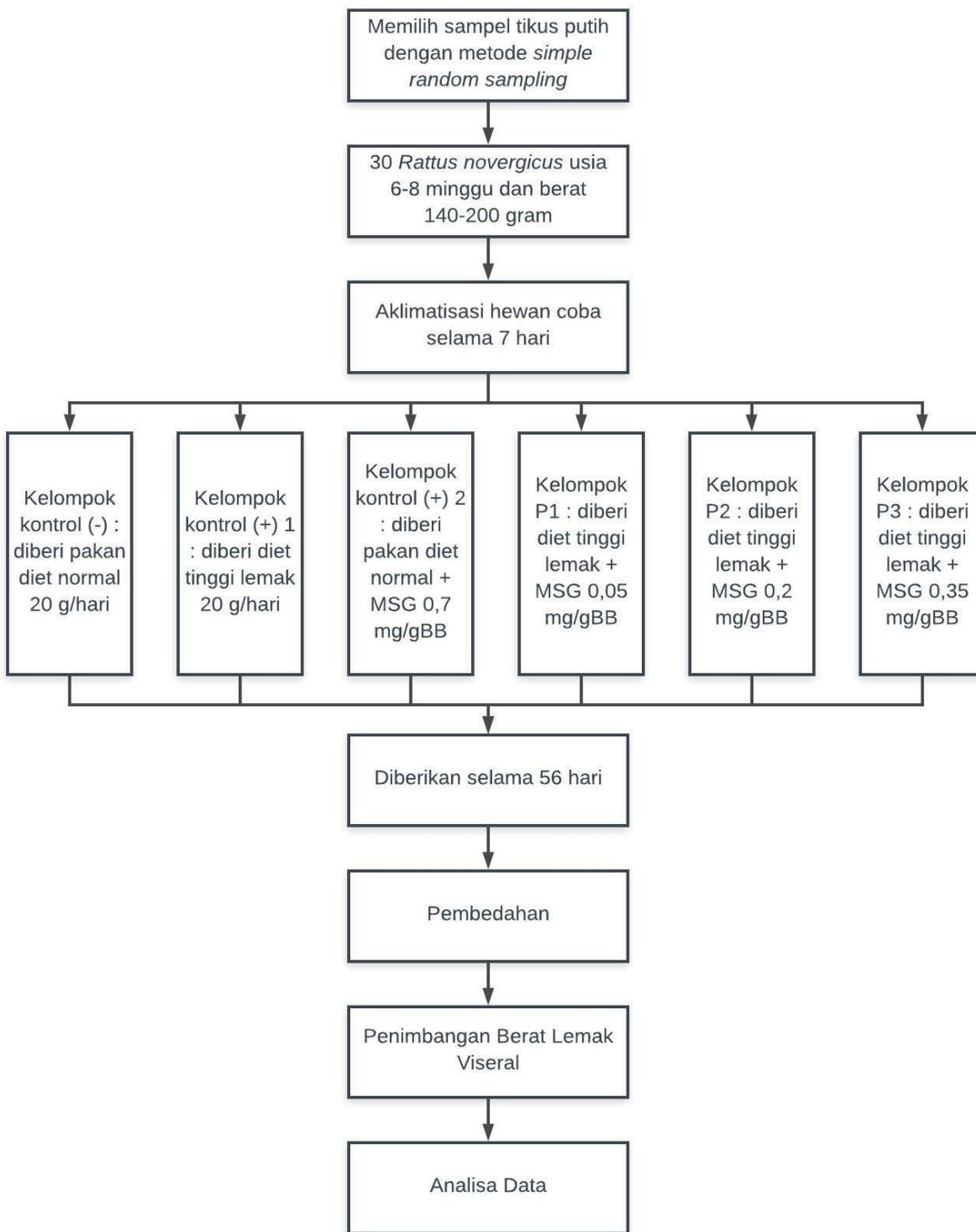
Melakukan adaptasi hewan coba pada 7 hari pertama. Tikus diadaptasi di laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya selama 7 hari dan kemudian dibagi secara acak ke dalam 6 kelompok. Selama adaptasi tikus diberi pakan standar atau diet normal. Selanjutnya, selama perlakuan dilakukan perawatan kandang pada hewan coba, pembersihan kandang, dan penggantian sekam dilakukan setiap 2 kali dalam 1 minggu dengan memperhatikan cahaya, suhu, dan kelembapan.

e) *Freedom to express their normal behavior*

Memberikan ruang dan fasilitas kepada hewan coba yang sesuai dengan kehidupan biologi dan tingkah laku tikus, maka dalam penelitian ini menempatkan hewan secara individu dalam setiap kandang.



4.10 Skema Alur Penelitian



BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Faal, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dari bulan Agustus sampai dengan bulan November 2017. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode rancangan *Randomized control group post test design* yang bertujuan untuk menguji tentang pengaruh pemberian kombinasi diet tinggi lemak dan MSG terhadap berat lemak viseral tikus *Rattus novergicus* galur wistar betina.

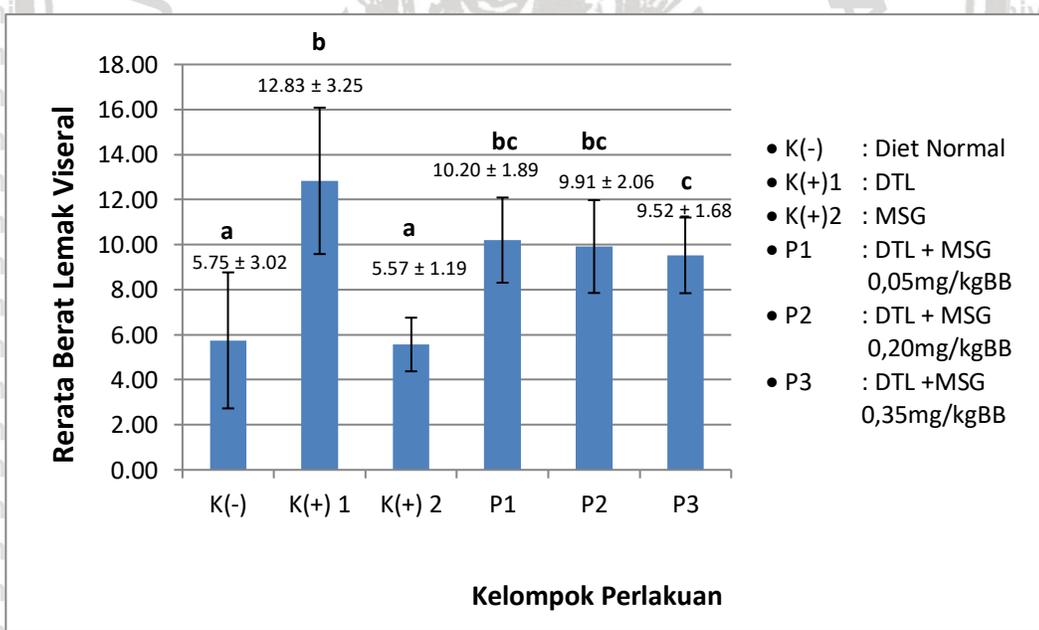
Hewan coba yang digunakan adalah tikus betina jenis *Rattus novergicus* galur wistar betina sebanyak 30 ekor yang sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Terdapat 6 kelompok perlakuan pada penelitian ini yaitu: 1) kelompok kontrol (-) tikus wistar yang diberi diet normal 25 g/hari; 2) kelompok kontrol positif (+) 1 tikus yang diberi diet tinggi lemak 25 g/hari; 3) kelompok kontrol positif (+) 2 tikus yang diberi diet normal+MSG 0,7 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml; 4) kelompok P1 tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,05 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml; 5) kelompok P2: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,2 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml; dan 6) kelompok P3: tikus yang diberi diet tinggi lemak+MSG 0,35 mg/gBB yang dilarutkan dalam akuades 1 ml. Perlakuan dilakukan selama 56 hari, kemudian tikus dibedah. Lemak Viseral tikus ditimbang menggunakan Neraca Ohaus Sartorius.

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Analisis Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Pengujian asumsi normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk*. Pengujian asumsi homogenitas ragam dilakukan dengan menggunakan uji *Levene*. Berdasarkan hasil pengujian normalitas data berat lemak viseral didapatkan *p-value* >0,05 sedangkan hasil uji homogenitas data didapatkan *p-value* >0,05 sehingga, dari pengujian ini dapat disimpulkan bahwa asumsi normalitas dan homogenitas data telah terpenuhi.

5.1.2 Rerata Berat Lemak Viseral Tikus Wistar



Gambar 5.1 Pengaruh Pemberian Kombinasi Monosodium Glutamat dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Berat Lemak Visceral

*Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi *p*<0,05



Berdasarkan gambar 5.1 di atas, tikus pada kelompok kontrol positif 2 (MSG 0,70mg/gBB) adalah kelompok dengan rerata berat lemak visceral paling rendah, sedangkan kelompok kontrol positif 1 memiliki rerata berat lemak visceral yang paling tinggi. Pada kelompok perlakuan yang diberi diet kombinasi diet tinggi lemak dengan MSG, didapatkan kecenderungan penurunan berat lemak visceral dari dosis MSG yang terendah yaitu 0,05mg/gBB hingga yang tertinggi yaitu 0,35mg/gBB. Untuk melihat perbedaan berat lemak visceral apakah signifikan atau tidak, dilakukan pengujian dengan menggunakan uji ANOVA.

Tabel 5.1 Hasil Pengujian ANOVA Berat Lemak Visceral

Perlakuan	Mean ± SD	p-value
Kontrol (-)	5.75 ± 3.02	0,00
Kontrol (+) 1	12.83 ± 3.25	
Kontrol (+) 2	5.57 ± 1.19	
Perlakuan 1	10.20 ± 1.89	
Perlakuan 2	9.91 ± 2.06	
Perlakuan 3	9.52 ± 1.68	

Berdasarkan tabel 5.1 di atas, di dapatkan p-value sebesar 0,00, nilai p-value < 0,05 sehingga dari pengujian ini terdapat perbedaan yang sangat signifikan antara berat lemak visceral dari masing-masing perlakuan. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan rata-rata berat lemak visceral, dilakukan uji *post hoc test* dengan menggunakan uji Fisher's LSD. Hasil pengujian Fisher's LSD dapat dilihat pada Tabel 5.2.



Tabel 5.2 Fisher's LSD Berat Lemak Viseral

<i>p-value</i>	K(+) ¹	K(+) ²	P1	P2	P3
K(-)	0.000*	0.901	0.005*	0.009*	0.016*
K(+) ¹		0.000*	0.083	0.056	0.032*
K(+) ²			0.004*	0.006*	0.012*
P1				0.864	0.649
P2					0.791

p-value < 0,05 adalah bermakna (*).

K (-) adalah tikus yang tidak mendapatkan perlakuan; K (+) 1 adalah tikus yang diberikan DTL 25g/hari; K (+) 2 adalah tikus yang diberikan MSG 0,70mg/gBB; P1 adalah tikus yang diberikan DTL + MSG 0,05mg/gBB; P2 adalah tikus yang diberikan DTL + MSG 0,20mg/gBB; dan P3 adalah tikus yang diberikan DTL + MSG 0,35mg/gBB.

Dari hasil *post hoc test* dengan menggunakan uji Fisher's LSD, pada perbandingan kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif 1, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3, serta kelompok kontrol positif 1 dengan perlakuan 3, dan juga kelompok kontrol positif 2 dengan perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 didapatkan *p-value* <0,05. Hal ini menunjukkan bahwa pemaparan diet tinggi lemak, serta kombinasi diet tinggi lemak dan MSG berdampak pada peningkatan berat lemak viseral secara signifikan. Sedangkan perbedaan dosis MSG yang diberikan pada kelompok perlakuan kombinasi diet tinggi lemak dan MSG tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pemberian kombinasi MSG dosis 0,35mg/gBB dengan DTL menurunkan berat lemak viseral secara signifikan dibanding kelompok kontrol positif 1.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa terdapat perbedaan berat lemak visceral yang signifikan pada masing-masing perlakuan. Pengkombinasian DTL dengan MSG dosis harian menunjukkan perbedaan berat lemak visceral yang signifikan dibandingkan dengan diet normal, namun penambahan MSG pada diet tinggi lemak menunjukkan kecenderungan penurunan berat lemak visceral pada kelompok perlakuan kombinasi MSG dan DTL jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif 1.

Pada kelompok kontrol positif 1 dimana sampel diberikan DTL, didapatkan perbedaan yang signifikan dengan kelompok kontrol negatif ($p=0,001$). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Lin *et al*, (2000), dimana hasilnya menunjukkan peningkatan berat badan tikus sejak minggu kedua pemberian diet tinggi lemak. Konsumsi diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan jumlah sel adiposa. Peningkatan jumlah sel adiposa akan menyebabkan peningkatan sekresi hormone leptin, keadaan hiperleptinemia dalam jangka waktu lama akan menyebabkan resistensi leptin. Resistensi leptin secara perifer terjadi dalam minggu ke-8 konsumsi diet tinggi lemak (Buettner *et al*, 2007). Selanjutnya, kegagalan *down-regulation* intake makanan oleh leptin akan menyebabkan insensitivitas leptin perifer berkembang menjadi insensitivitas leptin sentral. Perkembangan resistensi

leptin sentral pada mencit membutuhkan paparan diet tinggi lemak selama minimal 20 minggu (Zhang dan Scarpace, 2006). Resistensi leptin menyebabkan terganggunya mekanisme keseimbangan energi tubuh dan memicu terjadinya obesitas. Pada individu obesitas terjadi peningkatan deposisi lemak viseral.

Pada kelompok kontrol positif 2 dimana sampel diberikan MSG 0,70mg/gBB, didapatkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Tanaka *et al*, (1978), dimana penelitian tersebut menggunakan 2mg/gBB MSG yang diberikan secara injeksi kepada hewan percobaan selama 30 hari dan hasilnya menunjukkan peningkatan berat badan hewan percobaan sejak minggu ketiga percobaan. Berbeda dengan efek MSG yang diamati dalam penelitian ini, beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian MSG menghasilkan peningkatan, bukan penurunan, dalam berat badan (dan massa lemak) (Hermaussen, *et al*, 2006). Namun, penelitian sebelumnya dirancang khusus untuk menghasilkan efek toksis di otak, melalui pemberian MSG dengan dosis yang sangat tinggi (2mg/gBB atau lebih, dan diberikan berulang kali) kepada hewan percobaan, baik dengan injeksi ataupun intubasi. Kejadian obesitas pada hewan yang diberi perlakuan dengan cara ini memiliki konsentrasi glutamat plasma yang sangat tinggi (Stegink *et al*, 1974), yang cukup untuk menembus ke sawar darah otak. Namun, peningkatan kadar glutamat plasma yang cukup tinggi untuk menembus otak bukanlah kejadian yang biasa terjadi (Walker, 2000). Studi-studi ini dengan demikian tidak memiliki relevansi dengan penelitian ini, karena pada

penelitian ini, hewan coba diberikan MSG dengan dosis rendah dan diberikan secara per oral.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Ren *et al*, (2011), dimana penelitian tersebut menggunakan diet tinggi lemak yang dikombinasikan dengan 1% larutan MSG monohidrat yang dilakukan selama 15 minggu. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan secara statistik antara diet tinggi lemak dengan air biasa dibandingkan dengan diet tinggi lemak yang dikombinasikan dengan MSG, namun terjadi kecenderungan penurunan rata-rata massa lemak hewan percobaan.

Pada kelompok perlakuan kombinasi DTL dan MSG 1, 2, dan 3, dimana masing-masing kelompok diberikan diet tinggi lemak yang dikombinasikan dengan MSG dengan dosis secara berurutan 0,05; 0,20; 0,35 mg/gBB menunjukkan terdapat peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Perbedaan dosis MSG yang diberikan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kontrol negatif. Rata-rata berat lemak visceral antar kelompok perlakuan kombinasi DTL dan MSG menunjukkan kecenderungan penurunan sebanding dengan dosis MSG yang diberikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (+) 1.

Penurunan berat lemak visceral pada kelompok kombinasi DTL dan MSG dibanding kelompok kontrol (+) 1 yang dimana hanya diberikan DTL saja, mulai berbeda secara signifikan pada pemberian MSG dosis 0,35mg/gBB. Penurunan berat badan tikus setelah pemberian MSG sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kondoh *et al*, (2008), dimana penelitian tersebut menggunakan 1% larutan MSG monohidrat yang diberikan secara per oral selama 15 minggu dan hasilnya menunjukkan

penurunan berat badan pada hewan percobaan sejak minggu keenam percobaan.

Pada penelitian tersebut, parameter yang diukur adalah berat badan, panjang naso-anal, massa tanpa lemak, asupan makanan, asupan kalori, tekanan darah, dan

kadar glutamat plasma. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa panjang naso-anal, massa tanpa lemak, asupan makanan, asupan kalori, tekanan darah, dan

kadar glutamat plasma tidak dipengaruhi oleh konsumsi MSG. Penurunan berat badan disebabkan oleh berkurangnya massa lemak pada hewan percobaan.

Konsumsi MSG dapat mengurangi penimbunan lemak, meningkatkan metabolisme lemak, atau keduanya. (Kondoh *et al*, 2008)

Fakta bahwa konsumsi MSG menurunkan berat badan tanpa mengubah asupan kalori menunjukkan bahwa MSG meningkatkan pengeluaran energi.

Diketahui bahwa konsumsi larutan MSG meningkatkan produksi panas yang disebabkan oleh diet pada tikus (Smriga *et al*, 2000). Konsumsi MSG saja tidak

mempengaruhi metabolisme basal, tetapi meningkatkan termogenesis yang dihasilkan oleh konsumsi makanan (Viarouge *et al*, 1992). Peningkatan *diet-induced*

thermogenesis mungkin merupakan bagian atau seluruh mekanisme dimana konsumsi MSG mengurangi kenaikan berat badan dalam penelitian ini.

Mekanisme *diet-induced thermogenesis* yang diaktivasi oleh MSG terjadi melalui reseptor glutamat terkait dengan saraf aferen yang ditemukan di mulut (San

Gabriel *et al*, 2005) dan di saluran pencernaan bagian atas dan bawah (misalnya aferen vagus di lambung) (San Gabriel *et al*, 2007). Karena sel lemak dari jaringan

adiposa terkait dengan fungsi sistem saraf simpatis (Scherrer *et al*, 1994) ada kemungkinan bahwa rute pensinyalan saraf yang berpusat pada usus atau yang

berpusat rongga mulut (atau keduanya) dapat mengirimkan sinyal glutamat ke sel-sel lemak melalui sistem saraf pusat dan aliran simpatiknya. Studi terbaru menunjukkan adanya sistem penginderaan glutamat lebih jauh di saluran pencernaan, terutama di lambung. Sebagai contoh, metabotropic GLU receptor subtype 1 (mGluR1) yang terletak di mukosa lambung tikus (San Gabriel *et al*, 2007). Aferen vagus di lambung menanggapi secara spesifik untuk glutamat dengan memproduksi zat bioaktif mukosa seperti nitrit oksida dan serotonin (Uneyama *et al*, 2006). Penemuan tersebut menunjukkan bahwa lambung menerima glutamat melalui reseptor mGluR1, glutamat yang dikonsumsi baik dalam bentuk bebas maupun terikat protein akan menstimuli jalur simpatis yang akan mengaktifkan termogenesis pada jaringan lemak.

Sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, peningkatan massa lemak pada kelompok kombinasi DTL dan MSG dikarenakan konsumsi diet tinggi lemak dan kecenderungan penurunan massa lemak pada hewan percobaan kemungkinan besar terjadi melalui peningkatan mekanisme *diet-induced thermogenesis* yang akan meningkatkan pengeluaran energi. Studi sebelumnya mengklaim bahwa MSG menginduksi obesitas. Namun, penelitian terbaru telah mulai mengubah gambaran ini (Kondoh *et al*, 2008).

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah tidak diukurnya pengeluaran energi dari hewan coba. Penelitian ini hanya mencatat asupan makan harian dari hewan coba, sehingga penjelasan mengenai mengapa terjadi kecenderungan penurunan berat lemak visceral tidak dapat dibuktikan secara nyata akibat dari pengeluaran energi yang berlebih. Kemudian, durasi penelitian ini dilakukan terlalu singkat

sehingga perbedaan rata-rata berat lemak viseral antar perlakuan terlalu kecil, karena kebanyakan literatur menunjukkan perubahan massa lemak baru dimulai sejak minggu keenam.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian monosodium glutamate dengan dosis 0,70mg/gBB tidak berpengaruh secara signifikan terhadap berat lemak visceral tikus wistar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. ($p=0,901$)
2. Pemberian diet tinggi lemak meningkatkan berat lemak visceral tikus wistar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. ($p=0,000$)
3. Pemberian kombinasi monosodium glutamate dan diet tinggi lemak meningkatkan berat lemak visceral tikus wistar jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi pakan diet normal, namun terdapat penurunan rata-rata berat lemak visceral pada pemberian dosis monosodium glutamat 0,35mg/gBB jika dibandingkan dengan kelompok yang diberi pakan diet tinggi lemak saja.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat diberikan pada penelitian ini adalah :

- a) Perlu dilakukan pengukuran pengeluaran energi hewan coba menggunakan kalorimetri

b) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai paparan glutamat terhadap reseptor glutamat di lambung dapat mempengaruhi asupan makanan dan perubahan berat lemak visceral.

c) Untuk penelitian selanjutnya dapat dilakukan dengan perbedaan lama paparan terhadap kombinasi diet tinggi lemak dan monosodium glutamate.



DAFTAR PUSTAKA

- Aandarwulan N, Nuraida L, Madanijah S, Lioe HN, and Zulaikhah. (2011). *Free glutamate content of condiment and seasonings and their intake in Bogor and Jakarta, Indonesia. Food Nutl' Sci* 2:764-769.
- Ardyanto, TD. (2004). *MSG dan Kesehatan: Sejarah, Efek dan Kontroversinya*. Volume 1(16), p. 52-6.
- Asmadi. (2008). *Konsep Dasar Keperawatan*. Mardella EA, editor. Jakarta: EGC. p. 209.
- Balisteri CR, Caruso C, Candore G. (2010). *The Role of Adipose Tissue and Adipokines in Obesity-Related Inflammatory Diseases. Mediators of Inflammation*. p.1.
- Badman MK, Flier JS. (2005). *The gut and energy balance: visceral allies in the obesity wars. Science*.307(5717):1909-1914.
- Barret, KE., Barman, SM., Boitano, S., Brooks, HL. (2012). *Ganong's Review of Medical Physiology*. 24th ed. New York: McGraw-Hill; p. 713.
- Bluher S, Mantzoros CS. (2009). *Leptin in humans: lessons from translational research. Am J Clin Nutr.*;89(3):991S-7S.
- Buettner R, Scholmerich J, Bolheimer Lc. (2007). *High-fat diets: Modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. Obesity* 15: 798-808.
- Bultman S.J, Michaud E.J, Woychik R.P. (1992). *Molecular characterization of the mouse agouti locus. J Biol Chem*. 267:1195-1204.
- Butler A.A, Kesterson R.A, Khong K, Cullen M.J, Pellemounter M.A, Dekoning J, Baetscher M, Cone R.D. (2000). *A unique metabolic syndrome causes obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse. Endocrinology*. 141:3518-3521.
- Butler A.A, Marks D.L, Fan W, Kuhn C.M, Bartolome M, Cone R.D. (2001). *Melanocortin-4 receptor is required for acute homeostatic responses to increased dietary fat. Nat. Neurosci.* 4:605-611.
- Caldwell H.K, Lepri J.J. (2002). *Disruption of the fifth melanocortin receptor alters the urinary excretion of aggression-modifying pheromones in male house mice. Chem. Senses*. 27:91-94.
- Chaudhari, N., Landin, AM., Roper, SD. (2000). *A Metabotropic Glutamate Receptor Variant Functions as A Taste Receptor. Nat Neurosci*, Volume 3, p. 113- 19.

Chen W, Kelly M.A, Opitz-Araya X, Thomas R.E, Low M.J, Cone R.D. (1997). *Exocrine gland dysfunction in MC5-R deficient mice: Evidence for coordinated regulation of exocrine gland function by melanocortin peptides*. Cell. 91:789–798.

Chen A.S. (2000). *Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass*. Nat. Genet. 26:97–102.

Cheung C.C, Clifton D.K, Steiner R.A. (1997). *Proopiomelanocortin neurons are direct targets for leptin in the hypothalamus*. Endocrinology. 138:4489–4492.

Cheung W, Yu P.X, Little B.M, Cone R.D, Marks D.L, Mak R.H. (2005). *Role of leptin and melanocortin signalling in uremia-associated cachexia*. J. Clin. Invest. 115:1659–1665.

Chhajlani V. (1996). *Distribution of cDNA for melanocortin receptor subtypes in human tissues*. Biochem. Mol. Biol. Int. 38:73–80.

Chiolero Et Al, F. D., Paccaud F, Cornuz J. (2008). *Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance*. American Journal Clinical Nutrition. 87: 801-809.

Cone R.D. (2005). *Anatomy and regulation of the central melanocortin system*. Nat. Neurosci. 8:571–578.

Cone R.D. (1996). *The melanocortin receptors: agonists, antagonists, and the hormonal control of pigmentation*. Recent Prog. Horm. Res. 51:287–317. discussion 318.

Cooper, AJL., Jeitner, TM. (2016). *Central Role of Glutamate Metabolism of Nitrogen Homeostasis in Normal and Hyperammonemic Brain*. Biomolecules, Mar;Volume 6, p. 16.

Cowley M.A, Smart J.L, Rubinstein M, Cerdan M.G, Diano S, Horvath T.L, Cone R.D, Low M.J. (2001). *Leptin activates anorexigenic POMC neurons through a neural network in the arcuate nucleus*. Nature. 411:480–484.

Dawson, R. (1997). *Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage*. Am. J. Physiol., Washington, D.C., v. 273, n. 1, p. 202-206.

Demerath EW, Sun SS, Rogers N, Lee M, Reed D, Choh AC et al. (2007). *Anatomical patterning of visceral adipose tissue: race, sex, and age variation*. Obesity. 15: 2984-93.

Donatus, I.A. (1996). *Petunjuk Praktikum Toksikologi*, Edisi 6, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, hal. 21, 27, dan 29.

Elias C.F, Aschkenasi C, Lee C, Kelly J, Ahima R.S, Bjorbaek C, Flier J.S, Saper C.B, Elmquist J.K. (1999). *Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area*. *Neuron*. 23:775–786.

Ernst MB, Wunderlich CM, Hess S, Paeher M, Mesaros A, et al. (2009) *Enhanced Stat3 activation in POMC neurons provokes negative feedback inhibition of leptin and insulin signaling in obesity*. *J Neurosci* 29: 11582–11593.

Evans J.F, Niu Q.T, Canas J.A, Shen C.L, Aloia J.F, Yeh J.K. (2004). *ACTH enhances chondrogenesis in multipotential progenitor cells and matrix production in chondrocytes*. *Bone*. 35:96–107.

Eweka, A., Om'Iniabo, F. (2007). *Histological Studies of The Effects of Monosodium Glutamate on The Liver of Adult Wistar Rats*. *J Gastroenterol Hepatol*, Volume 6, p. 2.

Fan W, Boston B.A, Kesterson R.A, Hruby V.J, Cone R.D. (1997). *Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome*. *Nature*. 385:165–168.

Farhud, D.D., 2015. *Impact of lifestyle on health*. *Iranian journal of public health*, 44(11), p.1442.

Farooqi IS, O'Rahilly S. (2009). *Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis*. *Am J Clin Nutr*.;89(3):980S-4S.

FDA. (2012). *Questions and Answer on Monosodium Glutamate (MSG)*. Available at: www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/

Filer, L.J., Garattini, S., Kare, MR., Reynolds, WA., Wurtman, R.J. (1979) *Free and Bound Glutamate in Natural Products*. New York: Raven Press, p. 25- 34

Gantz I, Konda Y, Tashiro T, Shimoto Y, Miwa H, Munzert G, Watson S.J, DelValle J, Yamada T. (1993). *Molecular Cloning of a Novel Melanocortin Receptor*. *J. Biol. Chem*. 268:8246–8250.

Geha, RS., Beiser, A., Ren, C., et al. (200). *Multicenter, Double-Blind, PlaceboControlled, Multiple-Challenge Evaluation of Reported Reactions to Monosodium Glutamate*. *J Allergy Clin Immunol*, Volume 106(5), p. 973-80.

Gill, S., Pulido, O. (2004). *Glutamate Receptors in Peripheral Tissue : Excitatory Transmission Outside The CNS*. Library of Congress Cataloging in Publication Data

Gutierrez-Fisac JL, Lopez E, Banegas JR, Graciani A, Rodriguez-Artalejo F. (2004). *Prevalence of overweight and obesity in elderly people in Spain*. *Obesity*. 12: 710-15.

Guallar Castillon P, Rodríguez-Artalejo F, Fornés NS, Banegas JR, Etxezarreta PA, Ardanaz E, et al. (2007). *Intake of fried foods is associated with obesity in the cohort of Spanish adults from the European prospective investigation into cancer and nutrition*. Am J Clin Nutr. 86:198-205.

Guyton, AC., Hall, JE. (2006). *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, p. 856

Handayani, D. (2012). *Prevention and Treatment of High Fat-Diet-Induced by Dietary Intake of Shiitake and Oat*. Thesis. Health and Behavioural Faculty. Wollongong University, Australia.

Haynes W.G, Morgan D.A, Djalali A, Sivitz W.I, Mark A.L. (1999). Interactions between the melanocortin system and leptin in control of sympathetic nerve traffic. Hypertension. 33:542–547.

Hermanussen M, Garcia AP, Sunder M, Voigt M, Salazar V, Tresguerres JAF. (2006). *Obesity, voracity, and short stature: the impact of glutamate on the regulation of appetite*. Eur J Clin Nutr, 60:25–31.

Huang L, Li C. (2000). *Leptin: a multifunctional hormone*. Cell Res.10(2):81-92

Huszar D. (1997). *Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice*. Cell. 88:131–141.

J. Marniemi, E. Kronholm, S. Aunola, T. Toikka, C.-E. Mattlar, M. Koskenvuo, Et Al. (2002). *Visceral fat and psychosocial stress in identical twins discordant for obesity*. Journal of Internal Medicine. 251(1): 35–43

Jakicic JM, Otto AD. (2005). *Physical activity considerations for the treatment and prevention of obesity*. Am J Clin Nutr. 82: 9S-226S.

Jegou S, Boutelet I, Vaudry H. (2000). *Melanocortin-3 receptor mRNA expression in pro-opiomelanocortin neurones of the rat arcuate nucleus*. J. Neuroendocrinol.12:501–505.

Joseph S.A, Pilcher W.H, Bennet-Clarke C. (1983). *Immunocytochemical localization of ACTH parikarya in nucleus Tractus solitarius: evidence for a second opiocortin neuronal system*. Neurosci. Lett. 38:221–225.

Khrisna, VN., Karthika, D., Surya, DM., Rubini, MF., Vishalini, M., Pradeepa, YJ. (2009). *Analysis of Monosodium L-Glutamate in Food Products by High Performance Thin Layer Chromatography*. J Young Pharm, Volume 2(3), p. 297-300.

Kishi T, Aschkenasi C.J, Lee C.E, Mountjoy K.G, Saper C.B, Elmquist J.K. (2003). *Expression of melanocortin 4 receptor mRNA in the central nervous system of the rat*. J. Comp. Neurol. 457:213–235.

- Kievit P, Howard JK, Badman MK, Balthasar N, Coppari R, et al. (2006) *Enhanced leptin sensitivity and improved glucose homeostasis in mice lacking suppressor of cytokine signaling-3 in POMC-expressing cells*. *Cell Metab* 4: 123–132.
- Knobelspies H, Zeidler J, Hekerman P, Bamberg-Lemper S, Becker W (2010) *Mechanism of attenuation of leptin signaling under chronic ligand stimulation*. *BMC Biochem* 11: 2.
- Kondoh, T. and Torii, K. (2008). *MSG intake suppresses weight gain, fat deposition, and plasma leptin levels in male Sprague–Dawley rats*. *Physiology & Behavior*, 95(1-2), pp.135-144.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. and Mitchell, R.N. (2013) *Robbins Basic Pathology*. 9th Edition, Saunders Elsevier, Philadelphia
- Kuo J.J, Silva A.A, Hall J.E. (2003). *Hypothalamic melanocortin receptors and chronic regulation of arterial pressure and renal function*. *Hypertension*. 41:768–774.
- Kyrou I ,Tsigos C. (2009). *Hormon stres: stres fisiologis dan regulasi metabolisme*. *Curr Opin Pharmacol*. 9: 787 - 93.
- Li S.J, Varga K, Archer P, Hrubby V.J, Sharma S.D, Kesterson R.A, Cone R.D, Kunos G. (1996). *Melanocortin antagonists define two distinct pathways of cardiovascular control by alpha- and gamma-melanocyte-stimulating hormones*. *J. Neurosci*.16:5182–5188.
- Liu H, Kishi T, Roseberry A.G, Cai X, Lee C.E, Montez J.M, Friedman J.M, Elmquist J.K. (2003). *Transgenic mice expressing green fluorescent protein under the control of the melanocortin-4 receptor promoter*. *J.Neurosci*. 23:7143–7154.
- Megawati, Dian Sutarno & Shanti Listyawati. (2005). *Siklus Estrus dan Struktur Histologis Ovarium Tikus Putih (Rattus norvegicus L.) Setelah Pemberian Monosodium Glutamat (MSG) Secara Oral*. *BioSMART*. 7(1): 47-52.
- Mlinar B, Marc J, Janez A, Pfeifer M. (2007). *Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases*. *Clinica Chimica Acta*. 375: 20-35.
- Mohan Anjana, Sreedharan Sandeep, Raj Deepa, Karani Santhanakrishnan Vimalaswaran, Syed Farooq, and Viswanathan Mohan. (2004). *Visceral and Central Abdominal Fat and Anthropometry in Relation to Diabetes in Asian Indians*. *Diabetes Care*. 27(12): 2948-53.
- Molina, PE. (2013). *Endocrine Physiology*. 4th ed. New York: McGraw-Hill
- Morgan C, Thomas R.E, Cone R.D. (2004). *Melanocortin-5 receptor deficiency promotes defensive behaviour in male mice*. *Horm. Behav*. 45:58–63.

Morgan C, Thomas R.E, Ma W, Novotny M.V, Cone R.D. (2004). Melanocortin-5 receptor deficiency reduces a pheromonal signal for aggression in male mice. *Chem. Senses.* 29:111–115.

Mountjoy K.G, Robbins L.S, Mortrud M.T, Cone R.D. (1992). The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors. *Science.* 257:543–546.

Mountjoy K.G, Mortrud M.T, Low M.J, Simerly R.B, Cone R.D. (1994). Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol. Endocrinol.* 8:1298–1308.

Munzberg H, Flier JS, Bjorbaek C. (2004). Region-specific leptin resistance within the hypothalamus of diet-induced obese mice. *Endocrinology* 145: 4880–4889.

Munzberg H, Huo L, Nillni E.A, Hollenberg A.N, Bjorbaek C. (2003). *Role of signal transducer and activator of transcription 3 in regulation of hypothalamic proopiomelanocortin gene expression by leptin.* *Endocrinology.* 144:2121–2131.

Mustelin L, Silventoinen K, Pietiläinen K, Rissanen A, and Kaprio J. (2009). *Physical activity reduces the influence of genetic effects on BMI and waist circumference: a study in young adult twins.* *Int J Obes.* 33: 29-36

Ni X.P, Kesterson R.A, Sharma S.D, Hruby V.J, Cone R.D, Wiedemann E, Humphreys M.H. (1998). *Prevention of reflex natriuresis after acute unilateral nephrectomy by melanocortin receptor antagonists.* *Am. J. Physiol.* 274:R931–R938.

Ni X.P, Pearce D, Butler A.A, Cone R.D, Humphreys M.H. (2003). *Genetic disruption of gamma-melanocyte-stimulating hormone signalling leads to salt-sensitive hypertension in the mouse.* *J. Clin. Invest.* 111:1251–1258.

Notoatmodjo, S. (2010). *Metodologi Penelitian Kesehatan.* Jakarta: Rineka Cipta, hal 51-53

Oldfield B.J, Giles M.E, Watson A, Anderson C, Colvill L.M, McKinley M.J. (2002). *The neurochemical characterisation of hypothalamic pathways projecting polysynaptically to brown adipose tissue in the rat.* *Neuroscience.* 110:515–526.

Ollmann M.M, Wilson B.D, Yang Y.-K, Kerns J.A, Chen Y, Gantz I, Barsh G.S. (1997). *Antagonism of central melanocortin receptors in vitro and in vivo by agouti-related protein.* *Science.* 278:135–137.

Olney, JW. (1969). *Brain lesions, Obesity, And Other Disturbances in Mice Treated with Monosodium Glutamate.* *Science,* Volume 164(3880), p. 719-21.

Olney, J.W. (1979) *Excitotoxic amino acids: research application and safety implications*. Raven Press New York, NY

Ozcan L, Ergin AS, Lu A, Chung J, Sarkar S, et al. (2009) Endoplasmic reticulum stress plays a central role in development of leptin resistance. *Cell Metab* 9: 35–51.

Prawirohardjono, W., Dwiprahasto, I., Indwiani, A., Hadiwandowo, S., Kristin, E., Muhammad, M., dan Michael, F.K. (2000). *The Administration to Indonesians of Monosodium L-glutamat in Indonesian Foods: An Assessment of Adverse Reactions in a Randomized*. *Journal Of Nutrition*. 130(4): 1074-1076

Poggioli R, Benelli A, Arletti R, Cavazzuti E, Bertolini A. (1995). *Nitric oxide is involved in the ACTH-induced behavioral syndrome*. *Peptides*. 16:1263–1268.

R. Dawson, M. A. Pelley, M. J. Millard, S. Liu, and B. Eppler, 1997, Attenuation of leptin-mediated effects by monosodium glutamate-induced arcuate nucleus damage. *The American Physiological Society*

Ren, X., Ferreira, J., Yeckel, C., Kondoh, T. and de Araujo, I. (2011). *Effects of ad libitum Ingestion of Monosodium Glutamate on Weight Gain in C57BL/6/J Mice*.

Rees, J.L., 2003. Genetics of hair and skin color. *Annual review of genetics*, 37(1), pp.67-90.

Risérus, U. and Ingelsson, E., 2007. Alcohol intake, insulin resistance, and abdominal obesity in elderly men. *Obesity*, 15(7), pp.1766-1773.

Roselli-Rehffuss, L., Mountjoy, K.G., Robbins, L.S., Mortrud, M.T., Low, M.J., Tatro, J.B., Entwistle, M.L., Simerly, R.B. and Cone, R.D., 1993. Identification of a receptor for gamma melanotropin and other proopiomelanocortin peptides in the hypothalamus and limbic system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(19), pp.8856-8860.

San Gabriel, A., Uneyama, H., Yoshie, S. and Torii, K., 2005. Cloning and characterization of a novel mGluR1 variant from vallate papillae that functions as a receptor for L-glutamate stimuli. *Chemical senses*, 30(suppl_1), pp.i25-i26.

San Gabriel, A.M., Maekawa, T., Uneyama, H., Yoshie, S. and Torii, K., 2007. mGluR1 in the fundic glands of rat stomach. *FEBS letters*, 581(6), pp.1119-1123.

Satoh, N., Ogawa, Y., Katsuura, G., Numata, Y., Masuzaki, H., Yoshimasa, Y. and Nakao, K., 1998. Satiety effect and sympathetic activation of leptin are mediated by hypothalamic melanocortin system. *Neuroscience letters*, 249(2-3), pp.107-110.

Scherrer, U., Randin, D., Tappy, L., Vollenweider, P., Jequier, E. and Nicod, P., 1994. Body fat and sympathetic nerve activity in healthy subjects. *Circulation*, 89(6), pp.2634-2640.

Seeley, R.J., Yagaloff, K.A., Fisher, S.L., Burn, P., Thiele, T.E., van Dijk, G., Baskin, D.G. and Schwartz, M.W., 1997. Melanocortin receptors in leptin effects. *Nature*, 390(6658), p.349.

Shutter, J.R., Graham, M., Kinsey, A.C., Scully, S., Lüthy, R. and Stark, K.L., 1997. Hypothalamic expression of ART, a novel gene related to agouti, is up-regulated in obese and diabetic mutant mice. *Genes & development*, 11(5), pp.593-602.

Lin, S., Thomas, T.C., Storlien, L.H. and Huang, X.F., 2000. Development of high fat diet-induced obesity and leptin resistance in C57Bl/6J mice. *International journal of obesity*, 24(5), p.639.

Schoelch, C., Hubschle, T., Schmidt, I. and Nuesslein-Hildesheim, B., 2002. MSG lesions decrease body mass of suckling-age rats by attenuating circadian decreases of energy expenditure. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 283(3), pp.E604-E611.

Smith, M.S., 1993. Lactation alters neuropeptide-Y and proopiomelanocortin gene expression in the arcuate nucleus of the rat. *Endocrinology*, 133(3), pp.1258-1265.

Smith, A.I. and Funder, J.W., 1988. Proopiomelanocortin processing in the pituitary, central nervous system, and peripheral tissues. *Endocrine reviews*, 9(1), pp.159-179.

Smriga, M., Murakami, H., Mori, M. and Torii, K., 2000. Use of thermal photography to explore the age-dependent effect of monosodium glutamate, NaCl and glucose on brown adipose tissue thermogenesis. *Physiology & behavior*, 71(3-4), pp.403-407.

Stegink, L.D., Shepherd, J.A., Brummel, M.C. and Murray, L.M., 1974. Toxicity of protein hydrolysate solutions: Correlation of glutamate dose and neuronal necrosis to plasma amino acid levels in young mice. *Toxicology*, 2(3), pp.285-299.

Stegink, L.D. and Filer, L.J., 1996. Effects of aspartame ingestion on plasma aspartate, phenylalanine and methanol concentrations in normal adults. *The clinical evaluation of a food additive. Assessment of Aspartame. Tschanz C, Butchko HH, Stargel WW, Kotsonis FN, Edts*, pp.67-86.

Storlien, L.H., James, D.E., Burleigh, K.M., Chisholm, D.J. and Kraegen, E.W., 1986. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 251(5), pp.E576-E583.

- Sukawan, U.Y., 2008. Efek toksik Monosodium Glutamat (MSG) pada binatang percobaan. *Sutisning*, 3, pp.306-314.
- Sherwood, L. Fisiologi Manusia. 6th ed. Jakarta: EGC; 2011.
- Sohrabi, M., Roushandeh, A.M., Alizadeh, Z., Vahidinia, A., Vahabian, M. and Hosseini, M., 2015. Effect of a high fat diet on ovary morphology, in vitro development, in vitro fertilisation rate and oocyte quality in mice. *Singapore medical journal*, 56(10), p.573.
- Tanaka, K., Shimada, M., Nakao, K. and Kusunoki, T. (1978). Hypothalamic lesion induced by injection of monosodium glutamate in suckling period and subsequent development of obesity. *Experimental Neurology*, 62(1), pp.191-199.
- Tallam, L.S., Stec, D.E., Willis, M.A., da Silva, A.A. and Hall, J.E., 2005. Melanocortin-4 receptor-deficient mice are not hypertensive or salt-sensitive despite obesity, hyperinsulinemia, and hyperleptinemia. *Hypertension*, 46(2), pp.326-332.
- Tatro, J.B., 1990. Melanotropin receptors in the brain are differentially distributed and recognize both corticotropin and α -melanocyte stimulating hormone. *Brain research*, 536(1-2), pp.124-132.
- Uneyama, H., Niiijima, A., San Gabriel, A. and Torii, K., 2006. Luminal amino acid sensing in the rat gastric mucosa. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 291(6), pp.G1163-G1170.
- Viarouge, C., Caulliez, R. and Nicolaidis, S., 1992. Umami taste of monosodium glutamate enhances the thermic effect of food and affects the respiratory quotient in the rat. *Physiology & behavior*, 52(5), pp.879-884.
- Wajchenberg, B.L., 2000. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocrine reviews*, 21(6), pp.697-738.
- Walker, R. and Lupien, J.R., 2000. The safety evaluation of monosodium glutamate. *The Journal of nutrition*, 130(4), pp.1049S-1052S.
- Weide, K., Christ, N., Moar, K.M., Arens, J., Hinney, A., Mercer, J.G., Eiden, S. and Schmidt, I., 2003. Hyperphagia, not hypometabolism, causes early onset obesity in melanocortin-4 receptor knockout mice. *Physiological genomics*, 13(1), pp.47-56.
- Wessells, H., Hruby, V.J., Hackett, J., Han, G., Balse-Srinivasan, P. and Vanderah, T.W., 2003. Ac-Nle-c [Asp-His-DPhe-Arg-Trp-Lys]-NH₂ induces penile erection via brain and spinal melanocortin receptors. *Neuroscience*, 118(3), pp.755-762.

World Health Organization. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization.

Williams, D.L., Bowers, R.R., Bartness, T.J., Kaplan, J.M. and Grill, H.J., 2003. Brainstem melanocortin 3/4 receptor stimulation increases uncoupling protein gene expression in brown fat. *Endocrinology*, 144(11), pp.4692-4697.

Williams, P.T. and Satariano, W.A., 2005. Relationships of age and weekly running distance to BMI and circumferences in 41, 582 physically active women. *Obesity research*, 13(8), pp.1370-1380.

Wolff G.L, Roberts D.W, Mountjoy K.G. Physiological consequences of ectopic agouti gene expression: the yellow obese mouse syndrome. *Physiol. Genomics*. 1999;1:151–163. [PubMed]

Wolff, G.L., Roberts, D.W. and Mountjoy, K.G., 1999. Physiological consequences of ectopic agouti gene expression: the yellow obese mouse syndrome. *Physiological genomics*, 1(3), pp.151-163.

Woychik, R.P., 1992. Molecular characterization of the mouse agouti locus. *Cell*, 71(7), pp.1195-1204.

Yasuda, T., Masaki, T., Kakuma, T. and Yoshimatsu, H., 2004. Hypothalamic melanocortin system regulates sympathetic nerve activity in brown adipose tissue. *Experimental biology and medicine*, 229(3), pp.235-239.

Uke, Y.H., 2008. Efek Toksik Monosodium Glutamat (MSG) Pada Binatang Percobaan; Jakarta.

Yurika Marthalia Utami , Dani Rosdiana , Yanti Emalia. 2014. Gambaran asupan gizi pada penderita sindrom metabolik di RW 04 kelurahan Sidomulyo Barat Kecamatan Tampan Kota Pekanbaru. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Riau*, 1(2), pp.1-10.

Zhang, Y. and Scarpance, P.J., 2006. The role of leptin in leptin resistance and obesity. *Physiology & behavior*, 88(3), pp.249-256.

Zhou, Q., Chen, H., Yang, S., Li, Y., Wang, B., Chen, Y. and Wu, X., 2014. High-fat diet decreases the expression of Kiss1 mRNA and kisspeptin in the ovary, and increases ovulatory dysfunction in postpubertal female rats. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), p.127.