

**DISERTASI**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK CANGKANG TELUR AYAM RAS  
TERHADAP PROFIL LIPID (KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA,  
LDL, HDL), KALSIMUM SERUM, VITAMIN D DAN INDEKS MASSA  
TUBUH (IMT) TIKUS WISTAR (*Rattus novergicus* )  
JANTAN OBESITAS**

***THE EFFECT OF CHICKEN EGGSHELL EXTRACT ON THE  
PROFILE OF LIPID (TOTAL CHOLESTEROL, TRIGLYCERIDES,  
LDL, HDL), SERUM CALCIUM, VITAMIN D AND BODY MASS  
INDEX (BMI) IN OBESE MALE WISTAR RATS (*Rattus novergicus*)***



**ROSNAH  
C013181022**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK CANGKANG TELUR AYAM RAS  
TERHADAP PROFIL LIPID (KOLESTEROL TOTAL,  
TRIGLISERIDA, LDL, HDL), KALSIUM SERUM, VITAMIN D, DAN  
INDEKS MASSA TUBUH (IMT) TIKUS WISTAR  
(*Rattus novergicus* ) JANTAN OBESITAS**

Disertasi  
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi  
Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

**ROSNAH**

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

DISERTASI

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK CANGKANG TELUR AYAM RAS TERHADAP PROFIL LIPID (KOLESTEROL TOTAL, TRIGLISERIDA, LDL, HDL), KALSIMUM SERUM, VITAMIN D DAN INDEKS MASSA TUBUH (IMT) TIKUS WISTAR (*Rattus novergicus*) JANTAN OBESITAS

THE EFFECT OF CHICKEN EGG SHELL EXTRACT ON THE PROFILE OF LIPID (TOTAL CHOLESTEROL, TRIGLYCERIDES, LDL, HDL), SERUM CALCIUM, VITAMIN D AND BODY MASS INDEX (BMI) IN OBESE MALE WISTAR RATS (*Rattus novergicus*)

Disusun dan diajukan oleh

Rosnah

C013181022

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 23 September 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Promotor,



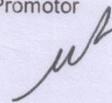
Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK(K)  
Nip. 195610201985032001

Co. Promotor

Co. Promotor



Dr. dr. A. Makbul Aman, Sp.PD-KEMD  
Nip. 19640623199103 1 004



Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes  
Nip. 19671103 199802 1 001

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,



dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)  
Nip. 19700821 199903 1 001



Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed  
Nip. 19661213 199603 1 009

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : ROSNAH  
Nomor mahasiswa : C013181022  
Program studi : Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari disertasi ini terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 10 Juni 2021  
yang menyatakan



10000  
é,  
METEKA  
TEMBEL  
1BFAJX485126451  
ROSNAH

## ABSTRAK

**ROSNAH.** *Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras terhadap Profil Lipid (Kolesterol Total, Trigliserida, LDL, HDL), Kalsium Serum, Vitamin D, dan Indeks Massa Tubuh (IMT) Tikus Wistar (Rattus norvegicus) Jantan Obesitas (dibimbing oleh Nurpudji Astuti Daud, Andi Makbul Aman, dan Irfan Idris).*

Penelitian ini bertujuan menganalisis efek pemberian ekstrak cangkang telur ayam ras (ECTA) terhadap profil lipid, kalsium serum, vitamin D, dan indeks massa tubuh (IMT) pada tikus wistar jantan yang diinduksi obesitas menggunakan pelet tinggi lemak.

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan laboratoris dengan desain *randomized pre-posttest only control group*. Pemeliharaan hewan coba, induksi obesitas, dan suplementasi ECTA dilakukan di Laboratorium Farmako Fakultas Farmasi UMI Makassar selama Desember 2019 sampai dengan Mei 2020. Pengukuran antropometri meliputi berat badan, panjang badan (nasional), dan IMT dilakukan setiap tujuh hari dan konsumsi pelet setiap hari. Sebanyak 28 ekor tikus putih wistar jantan, umur 2 bulan, berat badan 150-200 gram. Tikus diaklimatisasi selama 7 hari dan dilanjutkan induksi obesitas 8 minggu. Kemudian, suplementasi ECTA 8 minggu. Tikus dibagi empat kelompok: 1 kelompok diberi pakan standar (KN), 1 kelompok diberi pakan tinggi lemak (KP), dan 2 kelompok diberi ECTA pakan tinggi lemak, tiap-tiap dosis 9 mg/200 g BB (ECTA I) dan dosis 21,6 mg/200 g BB (ECTA II). Pengambilan darah melalui ekor tikus, sebelum dan sesudah suplementasi ECTA. Pemeriksaan profil lipid, kalsium serum, dan vitamin D di Laboratorium Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar pada Mei 2020.

Hasil penelitian menunjukkan suplementasi ECTA dosis 21,6 mg/200 g BB selama 8 minggu dapat menurunkan berat badan, IMT, memperbaiki profil lipid, meningkatkan kadar kalsium serum dan Vitamin D secara signifikan pada tikus wistar jantan obesitas. Artinya, suplementasi ekstrak cangkang telur ayam ras (ECTA) pada dosis 21,6 mg/200 g BB berpotensi sebagai agen antiobesitas dan antidislipidemia.

Kata kunci: ekstrak cangkang telur ayam ras, profil lipid, kalsium serum, Vitamin D, indeks massa tubuh (IMB), obesitas



## ABSTRACT

**ROSNAH.** *The Effects of Giving Raised Chicken Egg Shell Extract on Lipid Profiles (Total Cholesterol, Triglycerides, LDL, HDL). Serum Calcium, Vitamin D, and Body Mass Index (BMI) of Wistar Rats (Rattus norvegicus) in Obesity Males* (supervised by Nurpudji Astuti Daud, Andi Makbul Aman, and Irfan Idris)

The aim of the study is to analyze the effect of giving broiler egg shell extract (ECTA) on lipid profile, serum calcium, vitamin D, and body mass index (BMI) in male wistar rats induced to obesity males using high-fat pellets.

This type of research was experimental laboratory, randomized pre-post-test only control group design. Maintenance of experimental animals, induction of obesity and ECTA supplementation were conducted in the Pharmacy Laboratory of Faculty of Pharmacy, UMI, Makassar from December 2019 to May 2020. Anthropometric measurement including body weight, body length (nasoanal), body mass index (BMI) was performed every seven days and daily pellet consumption. There was a total of 28 male wistar white rats, two months old with body weight 150-200 gr. Mice were acclimatized for seven days, followed by obesity induction for eight weeks, and ECTA supplementation for eight weeks. Rats were divided into four groups. One group was given a standard diet (KN); one group was given a high fat diet (KP), and two groups were given ECTA + high fat diet, each dose of nine mg/200 g BW (ECTA I), and a dose of 21.6 mg/200 g BW (ECTA II). Blood sampling was done through rat tails before and after ECTA supplementation. Examination of lipid profiles, serum calcium, and vitamin D was conducted in Molecular Biology and Immunology Laboratory, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar in May 2020.

The results of this research indicate that ECTA supplementation at a dose of 21.6 mg/200 g BW for eight weeks can reduce body weight and body mass index (BMI), improve lipid profiles, increase serum calcium levels, and significantly increase serum calcium levels and vitamin D in obese male wistar rats. Thus, supplementation of broiler egg shell extract (ECTA) at a dose of 21.6 mg/200 g BW has a potential as an anti-obesity and anti-dyslipidemic agent.

Keywords: chicken egg, shell extract, lipid profile, serum calcium, vitamin D, Body Mass Index (BMI), obesity



## DAFTAR TIM PENGUJI

- Promotor : Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK (K)
- Ko Promotor I : Dr. dr. Andi Makbul Aman, Sp, PD-KEMD
- Ko Promotor II : Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
- Anggota : Dr. Gaga Irawan Nugraha, dr. Sp.GK. M.Gizi  
Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc. Sp.GK (K)  
Dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D. Sp.GK (K)  
Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS  
Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA. Apt  
dr. Aminuddin, M.Nut & Diet. Ph.D

## PRAKATA



Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmatNya berupa ilmu, kesehatan dan kesempatan, sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi berjudul **“Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras Terhadap Profil Lipid (Kolesterol Total, Trigliserida, LDL, HDL), Kalsium Serum, Vitamin D, dan Indeks Massa Tubuh (IMT) Tikus Wistar (*Rattus novergicus*) Jantan Obesitas”**, yang merupakan salah satu persyaratan akademik guna memperoleh gelar Doktor dalam Program Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK (K) sebagai Promotor, Dr. dr. Andi Makbul Aman, Sp, PD-KEMD sebagai Ko Promotor I, Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes sebagai Ko Promotor II, yang dengan ketulusan hati telah menyediakan waktu memberikan bimbingan, perhatian dan dorongan serta semangat kepada penulis selama penyelesaian disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada para penguji Dr. Gaga Irawan Nugraha, dr. Sp.GK. M.Gizi sebagai penguji eksternal, Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc. Sp.GK (K), Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA. Apt, dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K), Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS, dr. Aminuddin, M.Nut & Diet. Ph.D, sebagai penguji internal yang telah banyak memberikan masukan, saran, koreksi, dorongan, serta dukungan untuk penyempurnaan disertasi ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A, Kepala Badan BPPSDM Kesehatan, Pusdik SDM Kesehatan Kemenkes RI. Direktur Poltekkes Kemenkes Kendari Askrening, SKM, M.Kes, Direktur Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc. Ketua Program Studi dr. Agussalim Bukhari M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K) yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk dapat menempuh jenjang pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Kepala Balai Besar Laboratorium Kesehatan Makassar. Kepala Lab. Kimia Makanan Ternak Jurusan Nutrisi dan Makanan Fakultas Peternakan Unhas. Kepala Lab. Farmako Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia (UMI) Makassar, dan Ibu Iva (staf laboratorium), Prof. Dr. Mochammad Hatta, Sp.MK(K), Ph.D dan staf Lab. Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar. Terimakasih juga saya ucapkan kepada tenaga administrasi prodi S3 Kedokteran, pak Akmal, pak Mumu dan pak Rahmat, tenaga administrasi pascasarjana, teman-teman seangkatan TA 2018 : ibu Karlina, ibu Maulita, ibu Trees, ibu Andi Fatmawati, ibu Fitriyani, ibu Syahrida, drg. Arni, pak Ismail yang sudah banyak membantu selama proses pendidikan dan penelitian.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya dan doa yang tulus kepada ayahanda H. Gunawan Tongasa, ibunda tercinta (alm) Hj.Hanifa Toondu, bapak dan ibu mertua (alm.) H. Muhammad Kasim Kakajo dan ibunda Hj.Sitti Maulana Polingai. Terimakasih kepada suami tercinta Drs. Syaifudin Suhri Kasim, M.Si, dan anak-anak tersayang Muhammad Shidiq Akbar Nugraha, Muhammad Faza Almaliki Syaifudin, dan Muhammad Farhan Hamid Syaifudin, serta saudara-saudaraku atas doa, kesabaran, dan pengorbanannya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Akhir kata penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu penulis mulai dari awal pendidikan, penelitian hingga dapat menyelesaikan pendidikan Doktor di Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan keberkahanNya pada kita semua. Aamiin.

Makassar, 10 Juni 2021

Penulis,

Rosnah

## ABSTRAK

ROSNAH. Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras Terhadap Profil Lipid (Kolesterol Total, Trigliserida, LDL, HDL), Kalsium Serum, Vitamin D, dan Indeks Massa Tubuh (IMT) Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) Jantan Obesitas (dibimbing oleh Nurpudji Astuti Daud, Andi Makbul Aman, dan Irfan Idris)

**Latar belakang:** Obesitas adalah tantangan kesehatan yang serius di seluruh dunia dengan berbagai komorbiditas yang diakibatkannya. Salah satu upaya mengurangi obesitas, dengan mengonsumsi kalsium. Ekstrak cangkang telur ayam ras merupakan bahan alam yang mengandung tinggi kalsium. Beberapa mekanisme yang mungkin untuk efek anti obesitas dari kalsium, yaitu. melalui modulasi metabolisme lemak, dengan penurunan sintesis lemak (lipogenesis) dan peningkatan pemecahan lemak (lipolisis), promosi proliferasi dan apoptosis adiposity, peningkatan termogenesis, penekanan penyerapan lemak dan promosi ekskresi lemak tinja, serta modifikasi komposisi dan keanekaragaman mikrobiota usus. **Tujuan:** menganalisis efek pemberian ekstrak cangkang telur ayam ras (ECTA) terhadap profil lipid, kalsium serum, vitamin D, dan Indeks Massa Tubuh (IMT) pada tikus wistar jantan yang diinduksi obesitas menggunakan pellet tinggi lemak. **Metode:** Jenis penelitian eksperimental laboratoris, desain *randomized pre post test only control group*. Pemeliharaan hewan coba, induksi obesitas dan suplementasi ECTA di Lab. Farmako Fakultas Farmasi UMI Makassar. pada Desember 2019 - Mei 2020. Pengukuran antropometri meliputi berat badan, panjang badan (nasoanal), indeks massa tubuh (IMT), dilakukan setiap 7 hari dan konsumsi pelet setiap hari. Sebanyak 28 ekor tikus putih wistar jantan, umur 2 bulan, berat badan 150-200 gr. Tikus diaklimatisasi 7 hari, dilanjutkan induksi obesitas 8 minggu, kemudian suplementasi ECTA 8 minggu. Tikus dibagi 4 kelompok : 1 kelompok diberi pakan standar (KN), 1 kelompok diberi pakan tinggi lemak (KP) dan 2 kelompok diberi ECTA + pakan tinggi lemak, masing-masing dosis 9 mg/200 g BB (ECTA I) dan dosis 21,6 mg/200 g BB (ECTA II). Pengambilan darah melalui ekor tikus, sebelum dan sesudah suplementasi ECTA. Pemeriksaan profil lipid, kalsium serum dan vitamin D di Lab. Biologi Molekuler dan Imunologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, Mei 2020. Pengukuran kadar kolesterol total metode ELISA, HDL dan LDL metode homogen (DiaSys), trigliserida metode kolorimetri enzimatis GPO—PAP (DiaSys), kalsium serum metode fotometrik arsenazo III, dan vitamin D metode Elisa. Prosedur pengukuran mengikuti protocol yang terdapat dalam kit. Data hasil analisis dinyatakan sebagai mean  $\pm$  SD. Perbedaan antar perlakuan dianalisis dengan uji One way Anova dan uji lanjut LSD dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok, pada taraf kepercayaan  $\alpha = 95\%$  ( $p < 0,05$ ). menggunakan SPSS 22 for windows.

**Hasil :** Suplementasi ECTA dosis 21,6 mg/200 g BB selama 8 minggu dapat menurunkan berat badan, indeks massa tubuh (IMT), memperbaiki profil lipid, meningkatkan kadar kalsium serum dan vitamin D secara signifikan pada tikus wistar jantan. **Kesimpulan:** suplementasi ekstrak cangkang telur ayam ras (ECTA) pada dosis 21,6 mg/200 g BB berpotensi sebagai agen anti obesitas dan anti dislipidemia.

**Kata kunci :** Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras, Profil lipid, Kalsium Serum, Vitamin D, Indeks Massa Tubuh (IMT), Obesitas.

## ABSTRACT

ROSNAH. *The Effect of Chicken Eggshell Extract on The Profile of Lipid (Total Cholesterol, Triglycerides, LDL, HDL), Serum Calcium, Vitamin D and Body Mass Index (BMI) in Obese Male Wistar Rats (Rattus novergicus). Guided by Nurpudji Astuti Daud, Andi Makbul Aman, and Irfan Idris)*

**Background:** This study aimed to analyze the effect of broiler-chicken eggshell extract (ECTA) on lipid profile, calcium serum, vitamin D, and Body Mass Index (BMI) in male Wistar rats obesity induced by high-fat pellets. **Methods:** This research was experimental laboratory, randomized pre- and post-test only control group design conducted in the Laboratory of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, from December 2019 - May 2020. The pellet was given daily, while anthropometric measurements of body weight, body length (nasoanal), body mass index (BMI) were performed every 7 days. A total of 28 male Wistar rats, aged 2 months old, bodyweight 150-200 g, were acclimatized for 7 days, followed by obesity induction for 8 weeks and ECTA supplementation for 8 weeks. The rats were divided into 4 groups: 1 group was given standard feed (KN), 1 group was given a high-fat diet (KP), and 2 groups were given ECTA + high-fat diet (each dose of 9 mg/200 g BW (ECTA I) and 21.6 mg/200 g BW (ECTA II). Blood sampling was taken through the tails, before and after supplementation. Lipid profiles were determined by ELISA (total cholesterol), homogeneous method (DiaSys) (HDL and LDL), and GPO-PAP (DiaSys) enzymatic colorimetric (triglyceride). Meanwhile, calcium serum and vitamin D were determined by arsenazo III photometric method and Elisa's method. Data analysis results were expressed as mean  $\pm$  SD. The One Way Anova test and LSD test were conducted to determine differences between groups at a confidence level of 95% ( $p < 0.05$ ), using SPSS 22 for windows. **Results:** ECTA supplementation at a dose of 21.6 mg/200 g BW for 8 weeks reduced body weight, body mass index (BMI), improved lipid profile, increased calcium serum and vitamin D levels significantly in obese male Wistar rats. **Conclusion:** Supplementation of broiler eggshell extract (ECTA) at a dose of 21.6 mg/200 g BW potentially used as an anti-obesity and anti-dyslipidemic agent.

**Keywords:** Chicken Egg Shell Extract, Lipid Profile, Calcium Serum, Vitamin D, Body Mass Index (BMI), Obesity.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	ii
LEMBAR PENGUJI .....	iii
PRAKATA .....	iv
ABSTRAK .....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
Tujuan Umum .....	4
Tujuan Khusus .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Obesitas	
1. Pengertian dan Prevalensi Obesitas .....	6
2. Faktor Penyebab Obesitas .....	6
3. Patofisiologi dan Mekanisme Regulasi Energi Pada Obesitas .....	9
4. Penentuan Status Gizi pada Obesitas .....	14
5. Penentuan Jenis Obesitas .....	16
6. Jaringan adiposa .....	17
7. Komorbid Obesitas .....	20
8. Obesitas Sebagai Penginduksi Dislipidemia .....	24

9. Pencernaan dan Absorpsi Lipid .....	26
10. Metabolisme Lipoprotein.....	27
11. Apoprotein .....	28
12. Jalur Metabolisme Eksogen .....	30
13. Jalur Metabolisme Endogen .....	32
14. Metabolisme HDL dan <i>Reverse Cholesterol Transport</i> .....	34
15. Upaya Pencegahan dan Penanggulangan Obesitas ...	36
B. Kalsium .....	37
1. Digesti, Absorpsi, Transportasi dan Homeostasis Kalsium .....	37
2. Homeostasis Kalsium di Ekstraseluler .....	38
3. Angka Kecukupan Kalsium .....	40
4. Efek Defisiensi Kalsium .....	40
5. Efek Kelebihan Kalsium .....	42
6. Mekanisme Kalsium Dalam Menurunkan Berat Badan .....	42
C. Vitamin D .....	53
1. Sumber Vitamin D .....	53
2. Metabolisme Vitamin D .....	53
3. Defisiensi Vitamin D .....	55
4. Peran Vitamin D pada Metabolisme Lipid .....	56
5. Vitamin D dan Obesitas .....	56
D. Cangkang Telur Ayam Ras .....	59
1. Ekstrak Tepung Cangkang Telur Ayam Ras .....	59
E. Tikus Putih ( <i>Rattus Novergicus</i> ) Strain Wistar .....	66
1. Persiapan Hewan Coba Tikus Putih ( <i>Rattus Novergicus</i> ) Strain Wistar .....	66
2. Prosedur Pembuatan Pellet .....	66
3. Pakan Standar (Normal Diet) dan Pakan Tinggi Lemak (High Fat Diet, HFD) pada Tikus Putih ( <i>Rattus Novergicus</i> ) Strain Wistar .....	66
4. Pembuatan dan Pemberian Pakan Tinggi Lemak Untuk Tikus Putih .....	70
F. Kerangka Teori .....	74

	G. Kerangka Konsep .....	75
	H. Hipotesa Penelitian .....	75
BAB III	METODE PENELITIAN .....	76
	A. Jenis dan Desain Penelitian .....	76
	B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	76
	C. Identifikasi Variabel Penelitian dan Defenisi Operasional Variabel Penelitian .....	76
	D. Populasi dan Teknik Sampel .....	79
	E. Besar Sampel Penelitian .....	80
	F. Prosedur Penelitian.....	80
	1. Persiapan dan Pengelompokan Hewan Coba.....	80
	2. Persiapan Pakan .....	82
	3. Perhitungan Konsumsi Pakan.....	83
	4. Penentuan Dosis Sediaan Kalsium .....	84
	5. Prosedur pembuatan ekstrak cangkang telur ayam ras	86
	6. Analisa Komposisi Kimia Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras.....	87
	7. Berat Badan dan Panjang Badan Tikus.....	87
	8. Tingkat Obesitas .....	88
	9. Prosedur pengambilan darah.....	88
	10. Pengukuran Kolesterol Total (TC) .....	89
	11. Pengukuran Kadar Trigliserida .....	90
	12. Kadar Low-Density Lipoprotein (LDL Kolesterol).....	93
	13. Kadar High Density Lipoprotein (HDL) .....	95
	14. Kadar Kalsium Serum.....	96
	15. Kadar Vitamin D .....	98
	G. Analisis Data.....	100
	H. Etika Penelitian.....	100
	I. Alur Penelitian .....	100
BAB IV.	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	102
	A. HASIL PENELITIAN .....	102
	B. PEMBAHASAN .....	117
BAB V.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	136

A. KESIMPULAN .....	136
B. SARAN .....	136
DAFTAR PUSTAKA .....	138
LAMPIRAN	152

## DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 1. Klasifikasi Berat Badan Lebih dan Obesitas Berdasarkan IMT	15
Tabel 2. Nilai Referensi Kolesterol Serum (mg/dl) Tikus Albino Jantan dari Berbagai Usia .....	79
Tabel 3. Pengelompokan Hewan Coba Berdasarkan Perlakuan .....	82
Tabel 4. Uji t test berpasangan parameter antropometri dan asupan tikus wistar jantan sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	103
Tabel 5. Uji one way anova parameter antropometri dan asupan pakan pada tikus wistar jantan sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	104
Tabel 6. Uji t berpasangan profil lipid tikus sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	107
Tabel 7. Uji one way anova pada profil lipid tikus wistar jantan sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	108
Tabel 8. Uji t berpasangan Kalsium serum dan vitamin D tikus wistar jantan sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	110
Tabel 9. Uji one way anova kalsium serum dan vitamin D tikus wistar jantan sebelum dan sesudah suplementasi ECTA .....	111
Tabel 10. Perbandingan Hasil Pengukuran dengan Nilai Referensi Serum Profil Lipid Tikus Putih Jantan .....	121
Tabel 11. Karakteristik Fisikokimia Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras Hasil Ekstrasi Larutan HCl 4% dan CH <sub>3</sub> COOH 2 N.....	220
Tabel 12. Komposisi kimia pelet HFD FII dan pakan standar.....	224
Tabel 13. Karakteristik fisik pelet HFD FI dan HFD FII .....	225

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Ukuran Massa Lemak Tubuh Hasil dari Keseimbangan Antara Asupan Energi dan Pengeluaran Energi .....	7
Gambar 2. Faktor Perifer dan Pusat yang Terlibat Dalam Regulasi Homeostasis Energi .....	11
Gambar 3. Obesitas dan Penyakit Kronis yang Terkait. Inflamasi Sistemik (SI); Endothelial Function (EF); Diabetes Mellitus Type 2 (DM T2); Cardiovascular Disease (CVD)	22
Gambar 4. Obesitas dan Penyakit yang Berhubungan dengan Perluasan Jaringan Adiposa .....	22
Gambar 5. Gambaran disfungsi adiposit pada obesitas.....	23
Gambar 6. Ukuran, Densitas, dan Komposisi Lipoprotein .....	27
Gambar 7. Pengambilan Ulang dan Degradasi LDL Dalam Sel .....	30
Gambar 8. Jalur Metabolisme Eksogen dan Endogen .....	33
Gambar 9. Metabolisme HDL dan <i>Reverse Cholesterol Transfer</i> ...	35
Gambar 10. Pengaturan Homeostasis Kalsium Serum .....	40
Gambar 11. Peran Kalsitriol dan Diet Kalsium pada Modulasi Adiposa dan Metabolisme Lipid .....	46
Gambar 12. Modulasi Keseimbangan Energi oleh Kalsium dan Vitamin D .....	48
Gambar 13. Mekanisme yang mungkin untuk efek anti obesitas dari kalsium makanan .....	48
Gambar 14. Mekanisme Kerja Vitamin D pada Obesitas .....	58
Gambar 15. Penampakan Artistik Tampilan Penampang Kulit Telur Ayam.....	60
Gambar 16. Kerangka Teori .....	74
Gambar 17. Kerangka Konsep .....	75
Gambar 18. Diagram alir penelitian .....	101
Gambar 19. Ekstrak cangkang telur ayam ras hasil maserasi larutan HCl 4% dan CH <sub>3</sub> COOH) 2 N.....	220
Gambar 20. Pellet Pakan HFD I dan HFD II .....	225

## DAFTAR LAMPIRAN

No.

1. Rekomendasi persetujuan etik
2. Penyiapan Simplisia Cangkang Telur Ayam Ras
3. Pembuatan ekstrak cangkang telur ayam ras
4. Hasil analisa komposisi kimia ekstrak cangkang telur ayam ras
5. Prosedur pembuatan pellet pakan tikus tinggi lemak
6. Hasil analisa komposisi kimia pellet pakan tikus tinggi lemak (HFD)
7. Pemeliharaan dan perlakuan hewan coba (adaptasi, bulan 1-4)
8. Master tabel berat badan tikus wistar
9. Master tabel panjang badan tikus wistar (cm)
10. Master tabel Indeks Massa Tubuh (IMT) tikus wistar ( $\text{gcm}^{-2}$ )
11. Master tabel rerata jumlah konsumsi pakan tikus per minggu (g)
12. Hasil uji statistik parameter antropometri tikus wistar
13. Master tabel profil lipid tikus (kolestrol total, trigliserida, LDL, HDL)
14. Master tabel hasil pengukuran kalsium serum dan vitamin D
15. Master tabel hasil uji statistik profil lipid tikus
16. Hasil uji statistik kadar kalsium serum dan vitamin D tikus wistar
17. Cara Pembuatan dan Perhitungan Kebutuhan Bahan Ekstrak Tepung Cangkang Telur Ayam Ras (Ecta)
18. Histogram Parameter Antropometri Tikus Wistar
19. Histogram Profil Lipid Tikus Wistar
20. Histogram Kadar Kalsium Serum Dan Vitamin D Tikus Wistar
21. *Pembuatan dan Uji Fisiko Kimia Ekstrak Cangkang Telur Ayam Ras*
22. *Pembuatan dan Analisa Fisiko Kimia Pakan Tinggi Lemak / High Fat Diet (HFD) untuk Tikus Wistar*

## DAFTAR SINGKATAN

TC	Total Cholesterol
TG	Triglyceride
LDL	: Low Density Lipoprotein
HDL	: High Density Lipoprotein
CETP	Cholesterylester Transfer Protein
FAA	Free Fatty Acids
PAI-1	: Plasminogen Activator Inhibitor-1
ROS	Reactivities Oxygen Species
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1
NPY	: Neuropeptida-Y
POMC	: Proopiomelanocortin
PPAR $\gamma$	: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor $\gamma$
AgRP	<i>Agouti-related Peptide</i>
MCH	<i>Melanin-concentrating hormone</i>
$\alpha$ -MSH	<i>Alpha-Melanocyte Stimulating Hormon</i>
MC4-R	Reseptor Melanokortin-4
CCK	<i>Cholecystokinin</i>
GLP-1	<i>Glukagon-like peptide1</i>
PYY	<i>Peptide YY</i>
FAS	: Fatty Acid Synthase
UCP	: <i>Uncoupling Protein</i>
HFD	: High Fat Diet
DIO	: Diet Induced Obesity
DIT	Diet Induced Thermogenesis
FOR	: Fat Oxidation Rate
IMT	: Indeks Massa Tubuh
ELISA	: Enzyme Linked Immunosorbent Assay
PTH	: Paratiroid Hormon
HCl	Hidrogen Klorida
CH <sub>3</sub> COOH	Asam asetat

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Obesitas merupakan tantangan kesehatan yang serius di seluruh dunia dan dikaitkan dengan berbagai komorbiditas, termasuk dislipidemia, diabetes tipe 2, penyakit kardiovaskular, hipertensi, hiperkolesterolemia, penyakit jantung koroner, stroke, kanker, dan osteoarthritis (Panchal & Brown, 2011; Gutiérrez-Salmerón et al., 2017, Zhang, Fenglin, et.al. 2019). Penderita obesitas yang terinfeksi Covid-19 juga menyebabkan kondisi pasien jauh lebih buruk, terutama risiko lebih besar untuk memerlukan rawat inap, ventilasi mekanis karena gagal pernapasan akut (Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, et.al. 2020).

Peningkatan prevalensi obesitas secara global pada berbagai usia memiliki dampak ekonomi dan kesehatan yang sangat besar. Faktor genetik dan lingkungan memainkan peran penting dalam perkembangan obesitas, dan pola makan merupakan salah satu faktor utama yang berkontribusi langsung terhadap fenotipe obesogenik. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa peningkatan asupan lemak berkaitan dengan peningkatan berat badan yang memicu terjadinya obesitas (Bastías-Pérez et al., 2020).

Secara nasional prevalensi obesitas sentral penduduk usia  $\geq 15$  tahun terus mengalami peningkatan, berdasarkan laporan riset kesehatan dasar (Riskesdas) tahun 2007, 2013 dan 2018 berturut-turut sebesar 18,8%, 26,6%, dan 31,0% (Kemenkes RI, 2018).

Obesitas adalah suatu kondisi patologis, ditandai dengan penumpukan lemak di jaringan adiposa ke tingkat yang bisa membahayakan kesehatan. Obesitas terjadi karena penyimpanan energi dalam sel lemak yang meningkat dan menyebabkan bertambahnya jumlah serta ukuran sel lemak (Mopuri et al., 2015; Ma et al. 2017). Sehingga itu diperlukan pengembangan strategi yang efektif untuk mencegah obesitas. Salah satu strategi potensial untuk mengurangi obesitas adalah dengan mengonsumsi kalsium, yang telah terlibat dalam mengurangi berat badan (Zhang, Fenglin, et.al. 2019).

Peran kalsium sebagai anti obesitas telah diteliti oleh beberapa peneliti sebelumnya. Hasil penelitian Sandeep & Dipayan (2017) mengenai peran diet rendah dan tinggi kalsium terhadap metabolisme adiposit pada tikus wistar jantan,

menyatakan bahwa kalsium memainkan peran penting dalam mengatur adiposit tubuh. Diet tinggi kalsium mampu menunjukkan efek menguntungkan pada profil lipid yang menurunkan kadar total trigliserida, hal ini akibat terjadinya saponifikasi asam lemak bebas sehingga menurunkan penyerapan lipid dalam usus tikus. Sedangkan diet kalsium rendah mengarah ke akumulasi trigliserida yang lebih besar di jaringan adiposa. Sebaliknya, diet kalsium tinggi mengurangi ukuran adiposity dengan meningkatkan aktivitas lipolitik yang mencegah akumulasi lemak berlebih dalam adiposit tikus. Hal ini memungkinkan untuk terjadinya penghambatan obesitas dalam tubuh.

Das & Choudhuri, (2020a) menyatakan bahwa suplementasi kalsium secara signifikan meningkatkan parameter antropometri dan menurunkan kadar kolesterol serum, trigliserida, FFA dan enzim hepatic, pada tikus NAFLD yang diinduksi pakan tinggi lemak.

El-Zeftawy, Marwa, et.al (2020) menyatakan bahwa suplementasi kalsium dari cangkang telur ayam untuk terapi pada tikus obesitas yang diinduksi pakan tinggi lemak, menunjukkan perbaikan secara signifikan pada profil lipid, enzim hati, fungsi ginjal, leptin, adiponektin, kalsium serum, vitamin D, TSH, fT4, dan kadar PTH. Juga terjadi penurunan berat badan, IMT, glukosa darah, insulin, dan HOMA-IR. Selain itu, meningkatkan sistem antioksidan di jaringan hati dan adiposa di mana konsentrasi NO dan TBARS berkurang, dan aktivitas spesifik SOD meningkat. Selain itu, penurunan ekspresi dan regulasi TNF- $\alpha$  dan ADAM17. El-Zeftawy, Marwa, et.al (2020) menyimpulkan bahwa ada bukti baik pada diet yang dilengkapi kalsium dari cangkang telur ayam dikaitkan dengan pengurangan komplikasi obesitas terutama mengatur pemrosesan dan penyimpanan lemak dalam tubuh.

Zhang, Fenglin, et.al. (2019) menyatakan terdapat beberapa mekanisme yang mungkin untuk efek anti obesitas dari kalsium makanan, yaitu. melalui : (1) regulasi adipogenesis, dengan stimulasi pada sel punca mesenkim (MSC) (atau tahap komitmen) dan penghambatan pada preadiposit (atau tahap diferensiasi); (2) modulasi metabolisme lemak, dengan penurunan sintesis lemak (lipogenesis) dan peningkatan pemecahan lemak (lipolisis); (3) promosi proliferasi dan apoptosis adiposit (prekursor); (4) peningkatan termogenesis, dengan peningkatan aktivasi jaringan adiposa coklat (BAT) dan browning jaringan adiposa putih (WAT);

(5) penekanan penyerapan lemak dan promosi ekskresi lemak tinja; dan (6) modifikasi komposisi dan keanekaragaman mikrobiota usus.

Souza (2015) menyatakan pada penderita obesitas bioavailabilitas vitamin D rendah karena deposisi atau sekuestrasi dalam jaringan lemak dan massa lemak tubuh yang lebih tinggi dikaitkan dengan risiko kekurangan vitamin D. Vitamin 25 (OH)D juga berperan dalam regulasi kalsium intraseluler adiposit pada proses lipogenesis dalam jaringan adiposa.

Kekurangan vitamin D dapat menurunkan penyerapan kalsium pada jaringan adiposa, sehingga terjadi lipolisis dan asam lemak bebas meningkat, sintesis VLDL dan LDL hati juga meningkat. Kekurangan 25-hydroxyvitamin D secara independen terkait dengan dislipidemia pada subyek India (Chauduri,2013).

Cangkang atau kulit telur ayam adalah salah satu sumber kalsium yang sangat baik (Oliveira et al., 2013), mengandung kalsium karbonat lebih dari 90% (Vaclavik & Christian, 2014; Rosnah, et.al 2021), mengandung kalsium rata-rata 378 mg per gram kulit telur (Milbradt et al., 2015), mengandung kalsium sekitar 39% (Schaafsma *et al.*, 2000), dan 35,5% pada penelitian Rosnah, et.al (2021).

Hasil penelitian tentang kinetika pelepasan kalsium dalam lambung buatan menunjukkan kalsium lebih cepat dilepaskan dari tablet yang mengandung kalsium sitrat dari kulit telur daripada kalsium karbonat sintetis (Barbara, Marta, Beata, & Florian, 2017). Kelarutan kalsium karbonat dari cangkang telur ayam lebih tinggi dibandingkan dari cangkang tiram, dan keberadaan komponen mineral berharga (strontium, barium) menjadikannya bahan biomaterial yang sangat baik untuk produksi suplemen makanan (Szeleszczuk, Pisklak, Kuras, & Wawer, 2015); Miss.A.P.Chakraborty (2016).

Kandungan kalsium yang tinggi dari cangkang telur ayam dan ketersediaannya berlimpah, dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan suplemen kalsium, yang dapat membantu menurunkan berat badan atau lemak tubuh sebagai salah satu alternatif terapi gizi untuk pencegahan obesitas, maupun bahan fortifikasi pada berbagai produk pangan dengan berbagai manfaat lainnya.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap profil lipid (kolesterol total, Trigliserida, LDL, HDL) tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
2. Bagaimana efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap kadar vitamin D tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
3. Bagaimana efek pemberian kalsium dari cangkang telur ayam ras terhadap kadar kalsium serum tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
4. Bagaimana efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap indeks massa tubuh (IMT) tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.

## **C. Tujuan Penelitian**

### **Tujuan Umum**

Untuk menganalisis efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap profil Lipid (kolesterol total, Trigliserida, LDL, HDL), kadar vitamin D, kalsium serum dan indeks massa tubuh (IMT) tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.

### **Tujuan Khusus**

1. Menganalisis efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap profil Lipid (kolesterol total, Trigliserida, LDL, HDL) tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
2. Menganalisis efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap kadar vitamin D tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
3. Menganalisis efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap kadar kalsium serum tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.
4. Menganalisis efek pemberian kalsium ekstrak dari cangkang telur ayam ras terhadap indeks massa tubuh (IMT) tikus (*Rattus novergicus*) wistar jantan obesitas.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Bidang Akademik**

- a. Memberikan informasi ilmiah mengenai efek pemberian kalsium dari ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap profil Lipid (kolesterol total, Triglicerida, LDL,HDL), vitamin D, kalsium serum dan indeks massa tubuh (IMT) tikus (*Rattus novergicus* ) wistar jantan obesitas.
- b. Menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya dalam penggunaan ekstrak cangkang telur ayam ras sebagai suplemen makanan (*food supplement*) yang berpotensi memperbaiki profil lipid (kolesterol total, triglicerida, LDL, HDL), meningkatkan kalsium serum dan membantu penurunan berat badan.

### **2. Manfaat Praktis**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menghasilkan produk suplemen tinggi kalsium, berupa ekstrak cangkang telur ayam ras (ECTA) yang berpotensi sebagai anti obesitas dan dapat diaplikasikan ke masyarakat dalam rangka mencegah peningkatan prevalensi obesitas. Selain itu ECTA dapat diaplikasikan sebagai bahan fortifikasi, bahan tambahan pangan (*food additive*) pada berbagai produk pangan dengan berbagai manfaat lainnya.

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Obesitas**

#### **1. Pengertian dan Prevalensi Obesitas**

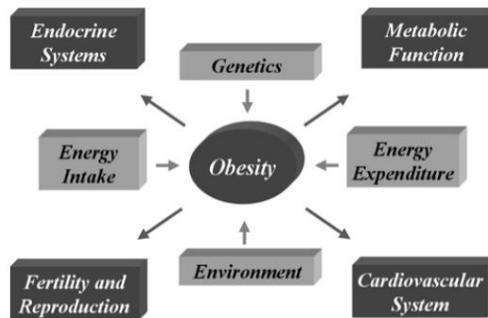
Obesitas adalah suatu kondisi patologis, ditandai dengan penumpukan lemak di jaringan adiposa ke tingkat yang bisa membahayakan kesehatan (Prokesch A, *et.al.* 2009; Rahman *et al.*, 2012). Obesitas merupakan suatu peningkatan massa jaringan lemak tubuh yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara asupan nutrisi dengan penggunaan energi (Hofbauer, 2002).

*World Health Organization* (WHO) menyatakan tahun 2013 terdapat sekitar satu milyar penduduk dunia mengalami *overweight* dan sedikitnya 300 juta menderita obesitas secara klinis (WHO, 2014). Secara nasional proporsi obesitas sentral penduduk usia  $\geq 15$  tahun pada tahun 2007, 2013 dan 2018 berturut-turut sebesar 18,8%, 26,6%, dan 31,0% (Kemenkes RI, 2018).

#### **2. Faktor Penyebab Obesitas**

Penyebab terjadinya obesitas berkaitan dengan berbagai faktor, menurut Mukherjee, *et.al.* (2013) faktor-faktor terkait dengan kejadian obesitas meliputi: faktor lingkungan dan sosial, gangguan sistem saraf dan endokrin, faktor gaya hidup, konsumsi makanan tinggi lemak, konsumsi makanan berlebihan, umur, faktor psikologi/stres, perilaku merokok, dan konsumsi alkohol.

Hofbauer, KG (2002) menyatakan jika asupan energi terlalu tinggi dibandingkan pengeluaran energi, obesitas akan berkembang dalam jangka panjang. Ketidakseimbangan antara asupan dan pengeluaran energi dapat disebabkan oleh faktor genetik atau lingkungan. Pada sebagian besar kasus, baik faktor genetik dan lingkungan bertindak bersama dalam patogenesis kelebihan berat badan dan obesitas. Jaringan adiposa tidak hanya berupa depot energi penting, tetapi juga organ endokrin aktif, yang memiliki pengaruh pada fungsi kardiovaskular dan metabolisme, kesuburan dan sistem endokrin.



Gambar 1. Ukuran massa lemak tubuh hasil dari keseimbangan antara asupan energi dan pengeluaran energi (Hofbauer, KG, 2002)

Penjelasan lain dari beberapa sumber mengenai faktor-faktor penyebab terjadinya obesitas adalah sebagai berikut:

a. Faktor genetik

Soetjningsih (2004) menyatakan, *parental fatness* merupakan faktor genetik yang berperan besar pada manusia. Anak yang terlahir dari orang tua yang obesitas memiliki kesempatan lebih dari 70% mengalami obesitas pada saat dewasa. Obesitas dapat diturunkan dari generasi ke generasi berikutnya dalam sebuah keluarga. Kedua orang tua yang mengalami obesitas akan memberikan kemungkinan 80% untuk keturunannya mengalami obesitas. Satu orang tua yang mengalami obesitas akan memberikan kemungkinan 40% untuk keturunannya mengalami obesitas dan bila kedua orang tua tidak mengalami obesitas kemungkinan anak mengalami obesitas 14%. Faktor genetik dapat memodulasi respon tubuh untuk melakukan perubahan pada faktor lingkungan seperti diet dan aktivitas fisik (Balaban dan Silva, 2004).

b. Faktor asupan nutrisi

Obesitas merupakan dampak dari kelebihan asupan nutrisi dibandingkan kebutuhan normal tubuh sehingga disimpan dalam bentuk lemak. Kandungan makanan yang akan diubah menjadi energi adalah karbohidrat, protein dan lemak. Asupan karbohidrat berlebih akan disimpan sebagai glikogen dalam jumlah terbatas dan sisanya sebagai lemak tubuh. Asupan lemak berlebih akan disimpan dalam jaringan lemak tubuh yang memiliki kemampuan menyimpan lemak tidak terbatas. Faktor-faktor dari asupan makanan yang menyebabkan obesitas adalah kuantitas, porsi makan, kepadatan energi dari makanan yang dimakan serta kebiasaan makan (Nugraha, 2009).

Studi eksperimental menunjukkan bahwa makanan tinggi lemak menghasilkan respon kenyang yang lebih rendah dibandingkan dengan makanan yang mengandung karbohidrat tinggi. Pola makan yang tidak teratur dan makan dengan cepat juga dapat berkontribusi terhadap kejadian obesitas (Wilding, 2010).

#### c. Faktor hormonal

Gangguan hormonal dalam tubuh akan berpengaruh terhadap keseimbangan energi. Hipotalamus akan menerima sinyal (input) untuk menghambat atau mengaktivasi motor sistem dalam memodulasi sistem saraf dan hormonal untuk mencari atau menjauhi makanan. Hasil (output) dari sinyal yang diterima oleh otak akan mempengaruhi pemilihan jenis makanan, porsi makan, lama makan, absorpsi serta metabolisme zat gizi didalam tubuh (Nugraha, 2009).

Hormon tiroid yang berubah secara tidak normal juga bisa menyebabkan obesitas. *Tiroid hormone* dihasilkan oleh kelenjar tiroid dan berfungsi dalam sintesis *triiodothyronine* (T3) dan hormon tiroksin (T4). Tiroksin dapat merangsang peningkatan metabolisme dengan mempercepat jalur sintetik katabolisme dan anabolisme sehingga pengeluaran energi meningkat. Perubahan pada hormon tiroid (penurunan T3 dan T4 serta peningkatan TSH) akan berpengaruh terhadap *energy expenditure* dan memicu terjadinya obesitas (Mexitalia *et al.*, 2011).

Wilding (2010) menyatakan hormon leptin juga dapat menginduksi obesitas. Leptin dieksresikan oleh jaringan lemak dan tingkat sirkulasinya merefleksikan massa lemak. Konsentrasi leptin yang menurun akan menyebabkan peningkatan sekresi neuropeptida dan penurunan *α-melanocyte stimulating hormone* yang berasal dari POMC (*Proopiomelanocortin*) *gene*. Gangguan leptin, reseptor melanokortin-4 dan POMC *gene* telah terbukti menyebabkan obesitas pada manusia.

#### d. Faktor obat – obatan

Beberapa obat dapat menstimulasi peningkatan asupan nutrisi akibat nafsu makan yang meningkat. Obat-obatan yang sering berkaitan dengan obesitas berhubungan erat dengan hormon steroid dan sensitifitas sel pada masing-masing individu (Nugraha, 2009).

#### e. Faktor psikologi dan sosial

Individu yang mengalami obesitas cenderung menggunakan makanan untuk melampiaskan emosi dibandingkan untuk memenuhi rasa lapar. Individu yang tidak mampu mengenali dan mengekspresikan emosi seperti marah, takut,

dan cemas menyebabkan gangguan pola makan dan konsumtif secara berlebihan sehingga terjadi obesitas (Williams dan Caliendo, 1984).

Zhang *et al.* (2007) menyatakan anak-anak dengan status sosial ekonomi tinggi mempunyai resiko mengalami obesitas lebih tinggi dibandingkan anak dengan status sosial ekonomi rendah. Obesitas lebih menonjol di daerah kota (urban) daripada daerah pedesaan (Wahab, 2000).

### **3. Patofisiologi dan Mekanisme Regulasi Energi Pada Obesitas**

Obesitas adalah suatu penyakit kronis, tidak terjadi dalam waktu yang singkat tetapi merupakan konsekuensi dari perjalanan hidup seseorang (Stein, 2004). Mekanisme dasar terjadinya obesitas adalah jika asupan energi terlalu tinggi dibandingkan pengeluaran energi, kelebihan energi tersebut akan disimpan dalam jaringan lemak dan dalam jangka panjang mengakibatkan obesitas (Hofbauer, KG. 2002).

Asupan energi yang berlebihan, pengeluaran energi dalam bentuk aktivitas fisik yang rendah, atau kombinasi dari kedua faktor tersebut menyebabkan keseimbangan energi menuju ke arah positif (*balance energy positif*) yang sering menyebabkan peningkatan berat badan (Stein, 2004).

Mekanisme terjadinya obesitas pada dasarnya merupakan akibat faktor genetik atau lingkungan dalam hal :

#### **1. Pengendalian Asupan Makanan**

Pengontrolan nafsu makan dan tingkat kekenyangan seseorang diatur oleh mekanisme neural dan humoral (neurohumoral) yang dipengaruhi oleh genetik, nutrisi, lingkungan dan sinyal psikologis. Pengaturan keseimbangan energi diperankan oleh hipotalamus melalui 3 proses fisiologis, yaitu pengendalian rasa lapar dan kenyang, mempengaruhi laju pengeluaran energi dan regulasi sekresi hormon. Proses dalam pengaturan penyimpanan energi ini terjadi melalui sinyal-sinyal eferen (yang berpusat di hipotalamus) setelah mendapatkan sinyal aferen dari perifer (jaringan adiposa, usus dan jaringan otot).

Sinyal-sinyal tersebut bersifat anabolik (meningkatkan rasa lapar serta menurunkan pengeluaran energi) dan dapat pula bersifat katabolik (anoreksia, meningkatkan pengeluaran energi) dan dibagi menjadi 2 kategori, yaitu sinyal pendek dan sinyal panjang. Sinyal pendek mempengaruhi porsi makan dan waktu

makan, serta berhubungan dengan faktor distensi lambung dan peptida gastrointestinal, yang diperankan oleh kolesistokinin (CCK) sebagai stimulator dalam peningkatan rasa lapar. Sinyal panjang diperankan oleh fat-derived hormone leptin dan insulin yang mengatur penyimpanan dan keseimbangan energi (Sherwood, 2012).

Apabila asupan energi melebihi dari yang dibutuhkan, maka jaringan adiposa meningkat disertai dengan peningkatan kadar leptin dalam peredaran darah. Kemudian, leptin merangsang anorexigenic center di hipotalamus agar menurunkan produksi Neuro Peptida Y (NPY) sehingga terjadi penurunan nafsu makan. Demikian pula sebaliknya bila kebutuhan energi lebih besar dari asupan energi, maka jaringan adiposa berkurang dan terjadi rangsangan pada orexigenic center di hipotalamus yang menyebabkan peningkatan nafsu makan. Pada sebagian besar penderita obesitas terjadi resistensi leptin, sehingga tingginya kadar leptin tidak menyebabkan penurunan nafsu makan (Dipiro, et al., 2015).

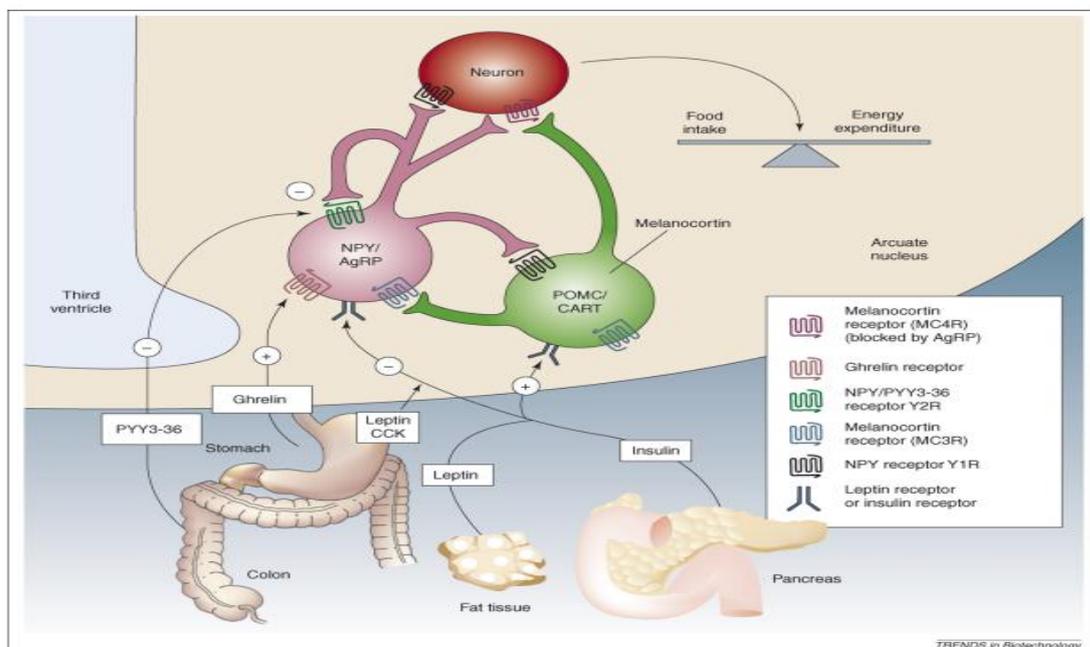
Nafsu makan bersumber dari sistem regulasi yang kompleks dari syaraf pusat dan perifer untuk memodulasi respon individu dalam proses asupan nutrisi. *Arcuate nucleus* (ARC) yang berdekatan dengan ventrikel III merupakan area utama pada hipotalamus yang berfungsi untuk mengontrol rasa lapar dan kenyang. Rasa lapar atau nafsu makan di ARC dikontrol oleh *Neuropeptida-Y* (NPY) dan AgRP (*Agouti-related Peptide*). Aktivasi dari NPY/AgRP akan menyebabkan dihasilkannya *orexin/hypocretin* dan MCH (*Melanin-concentrating hormone*) di lateral hipotalamus yang akan mengekspresikan rasa lapar. Aktivasi dari NPY/AgRP juga tergantung dari molekul perifer yaitu leptin (adiposit), insulin (pankreas), dan ghrelin (lambung). Signal adiposit dan insulin pada konsentrasi rendah serta ghrelin pada konsentrasi tinggi akan mengaktifkan NPY/AgRP sehingga rasa lapar dihasilkan (Stanley dan Hayley, 2006).

Rasa kenyang yang dihasilkan di ARC dikontrol oleh aktivasi POMC (*Proopiomelanocortin*) dan CART (*Cocain and Amphetamin regulated Transcript*). Aktivasi POMC dan CART menyebabkan dirilisnya  $\alpha$ -MSH ( $\alpha$ -*Melanocyte stimulating hormone*) dan MCH (*Melanin-concentrating hormone*) di lateral hipotalamus yang berfungsi sebagai ekspresor rasa kenyang. *Proopiomelanocortin* juga diaktivasi oleh molekul perifer yang tergolong *anorexigenic peptide* seperti CCK (*Cholecystokinin*), GLP-1 (*Glukagon-like peptide1*) dan PYY (*Peptide YY*)

yang memberikan signal positif melalui nervus vagus dan induksi NTS (*Nucleus of the Solitary Tract*) (Berridge, 2012)

Dalam hipotalamus, nukleus arkuata menghasilkan neuropeptide dan orexigenic (meningkatkan nafsu makan) atau anorexigenic (menurunkan nafsu makan). NPY dan AgRP bekerja bersama sebagai orexigenic peptida, sedangkan a-MSH (*Melanocyte Stimulating Hormon*), salah satu produk pembelahan POMC dan CART berfungsi sebagai peptida anorexigenic. Peptida lain yang mendukung orexigenic [orexins, galanin, cannabinoid, konsentrat melanocyte hormon (MCH)] atau anorexigenic [neurotensin, urocortin, hormon pelepas kortikotropin (CRH), serotonin, cholecystokinin (CCK) juga diproduksi dalam inti hipotalamus.

Sinyal perifer dari usus seperti ghrelin bekerja pada jalur NPY / AgRP untuk memfasilitasi asupan energi, sedangkan hormon usus lainnya (peptida YY3-36, cholecystokinin, serta GLP-1 dan oxyntomodulin) bekerja pada nukleus arkuata untuk memfasilitasi pengurangan asupan energi. Peptida dari jaringan adiposa (leptin) dan pankreas (insulin) mempengaruhi peptida orexigenic dan anorexigenic, tergantung pada komposisi tubuh dan / atau status energi untuk memungkinkan perubahan energi menyeimbangkan untuk menjaga penyimpanan lemak yang tepat.



Gambar 2. Faktor perifer dan pusat yang terlibat dalam regulasi homeostasis energi (Schwartz, M.W. and Morton, G.J. 2002)

Leptin disekresi adiposit ke sirkulasi dan ditranspor ke sistem saraf pusat untuk berikatan dengan reseptor leptin di nukleus arkuatus hipotalamus. Ikatan ini merangsang sintesis pro-opiomelanokortin (POMC). Dua zat yang dihasilkan dari POMC adalah *alpha-melanocyte stimulating hormone* ( $\alpha$ -MSH) dan *adrenocorticotrophine* (ACTH). Alpha-MSH selanjutnya berikatan dengan reseptor melanokortin-4 (MC4-R) di nukleus paraventricular hipotalamus yang akan menyebabkan penurunan asupan makanan (Clement K, et.al. 1996).

Secara genetik, kadar leptin individu kurus akan meningkat dan cukup untuk menghentikan penambahan badan setelah ada kenaikan berat badan 7 sampai 8 kg. Individu yang kenaikan berat badannya melebihi batas tersebut berarti tidak merespons leptin karena hormone tersebut tidak mampu masuk ke darah otak atau terjadi mutasi pada satu atau beberapa tahapan kerja leptin (Clement K, et.al. 1996).

Pada kondisi simpanan lemak berlebih, leptin diproduksi sebanding dengan tingginya simpanan energi dalam bentuk lemak. Leptin melalui sirkulasi darah mencapai hipotalamus, sedangkan  $\alpha$ -MSH merupakan mediator alur hilirnya. Sintesis dan sekresi  $\alpha$ -MSH oleh nukleus arkuatus hipotalami dikendalikan secara positif oleh ikatan antara leptin dengan reseptornya di badan saraf tersebut yang diikuti perubahan POMC menjadi  $\alpha$ -MSH.

Selanjutnya  $\alpha$ -MSH menekan pusat lapar dan melalui sirkulasi darah ke perifer meningkatkan metabolisme dengan memacu lipolisis di jaringan adiposa. Pada kondisi simpanan lemak kurang setelah pembatasan asupan makanan dan pembakaran lemak karena aktifitas, leptin turun sehingga kadar  $\alpha$ -MSH di hipotalamus berkurang. Keadaan ini memicu neuron pusat lapar di hipotalamus melepaskan agouti related protein (AGRP) yang sintesisnya di ditekan oleh leptin melalui ikatan dengan reseptornya. AGRP merangsang nafsu makan melalui mekanisme antagonis  $\alpha$ -MSH terhadap MC4-R. Selanjutnya, pengurangan sintesis  $\alpha$ -MSH dari POMC menekan katabolisme lemak sampai simpanan lemak di adiposit terisi kembali sebagai hasil kombinasi efek tersebut dengan perilaku makan. Bila simpanan lemak sudah cukup, mekanisme kontrol kembali ke penghambatan nafsu makan dan peningkatan penggunaan energi sehingga berat badan dapat dipertahankan pada rentang terbatas bertahun-tahun (Clement K, et.al. 1996).

## **Pengendalian Efisiensi Energi**

Pengendalian efisiensi energi merupakan proses biokimiawi yang mengendalikan tingkat besarnya energi yang digunakan dari makanan. Tinggi rendahnya efisiensi metabolik berbeda antar individu dan komponen pengendalinya. Sifat ini secara genetik diwariskan (Bouchard C, 1991).. Termogenesis adalah pemanfaatan kandungan energi dalam makanan untuk pembentukan panas, di samping penimbunan dalam bentuk lemak di adiposit. *Uncoupling protein* (UCP) mengendalikan penggunaan energi pada proses oksidasi di mitokondria dan ternyata ada kaitan antara obesitas dengan polimorfisme gen penyandi UCP. Kecenderungan peningkatan berat badan dan penurunan laju metabolisme istirahat berasosiasi dengan keberadaan satu dari dua allele utama gen penyandi UCP1 (Oppert JM, et.al. 1994).

*Uncoupling protein* (UCP) merupakan keluarga dari transporter bagian dalam membran mitokondria yang berperan pada gradien proton, melepaskan cadangan energi berupa panas dan berpotensi dalam mencegah obesitas. Dalam proses metabolisme energi, UCP memindahkan proton ke dalam matriks mitokondria, menghasilkan panas tanpa mensintesis ATP. Terdapat tiga bentuk UCP yang telah berhasil diidentifikasi, yaitu UCP1, UCP2 dan UCP3. UCP1 hanya terdapat pada jaringan adiposa coklat, merupakan gen utama yang berperan dalam pengaturan berat badan manusia. UCP2 terdistribusi secara luas dalam berbagai jaringan tubuh. UCP3 terutama terdapat pada otot skeletal, merupakan tempat termogenesis utama pada manusia, sehingga sering dijadikan target dalam penelitian yang berhubungan dengan pengaturan berat badan. Ekspresi UCP3 diatur oleh hormone tiroid, agonis  $\beta$ 3-adrenergik, leptin dan asupan lemak (Liu YJ, et.al. 2005).

## **Pengendalian Adipogenesis**

Pengendalian adipogenesis menghasilkan variasi karakteristik jaringan lemak antar individu. Variasi tersebut berupa hipertrofi yang pada umumnya didapatkan pada obesitas ringan, hiperplasia pada obesitas berat dan campuran keduanya pada obesitas sedang. Kajian tentang pengendalian adipogenesis ini berkaitan dengan konsep dasar diferensiasi dan ekspresi gen adiposit. Beberapa penelitian telah mengidentifikasi faktor transkripsi pendukung adipogenesis, antara lain PPAR $\gamma$  dan C/EBP (Wu Z, et.al. 1999).

*Peroxisome Proliferator Activated Peptide Receptor Gamma (PPAR- $\gamma$ )* adalah reseptor inti yang penting dalam adipogenesis dan *insulin signalling*. Peran reseptor ini dalam obesitas ditunjang oleh keberhasilan penggunaan thiazolidinedione untuk pengobatan obesitas visceral. Obat ini juga dikenal sebagai glitazon yang berikatan dengan reseptor PPAR $\gamma$  dengan akibat peningkatan sensitifitas terhadap insulin disertai perubahan metabolisme lemak termasuk reduksi asam lemak bebas melalui peningkatan asupan di jaringan perifer dan subkutan (Wu Z, et.al. 1999).

#### **4. Penentuan Status Gizi pada Obesitas**

Diagnosis obesitas dapat ditegakkan melalui penilaian status gizi secara langsung. Penilaian status gizi adalah pemeriksaan terhadap keadaan terhadap gizi seseorang. Penilaian status gizi secara langsung, antara lain dapat dilakukan dengan metode antropometri.

Antropometri adalah ukuran tubuh manusia. Ditinjau dari sudut pandang gizi, antropometri berhubungan dengan berbagai macam pengukuran dimensi tubuh dan komposisi dari berbagai tingkat umur dan tingkat gizi (Supriasa, 2002). Metode antropometri yang dapat digunakan untuk menentukan obesitas pada seseorang antara lain dengan indeks massa tubuh (IMT), skinfold thickness (SKF), rasio lingkaran pinggang pinggul (RLPP), dan *bioelectrical impedance analysis* (BIA) (Toto Sudargo, dkk. 2014).

##### **a. Indeks Massa Tubuh (IMT)**

Lyznicki JM. et.al. (2001) menyatakan mengukur lemak tubuh secara langsung sangat sulit sehingga sebagai penggantinya dipakai *body mass index* (BMI) atau indeks massa tubuh (IMT) untuk menentukan berat badan lebih dan obesitas pada orang dewasa. Selain IMT, menurut rekomendasi WHO lingkaran pinggang juga harus dihitung untuk menilai adanya obesitas sentral dan komorbid obesitas terutama pada IMT 25- 34,9 kg/m<sup>2</sup>. IMT merupakan indikator yang paling sering digunakan serta praktis untuk mengukur tingkat populasi berat badan lebih dan obesitas pada orang dewasa. Pengukuran ini merupakan langkah awal dalam menentukan derajat adipositas, dan dikatakan berkorelasi kuat dengan jumlah massa lemak tubuh.

BMI telah menggantikan persentase berat badan ideal sebagai kriteria untuk menilai obesitas karena beberapa alasan. BMI berkorelasi secara signifikan

dengan lemak tubuh, morbiditas, dan mortalitas, dapat dihitung dengan cepat dan mudah dalam pengaturan klinis yang ambang batas yang diterima secara umum untuk mengidentifikasi pasien yang berisiko lebih tinggi pada penyakit terkait obesitas, terutama diabetes tipe 2, hipertensi, dan penyakit kardiovaskular (Lyznicki JM. et.al. 2001).

Hasil tinjauan kritis Frank Q. Nuttall. (2015) menyatakan bahwa BMI adalah indikator persentase lemak tubuh yang agak buruk, terutama karena BMI tidak dapat menangkap informasi tentang massa lemak di tempat tubuh yang berbeda. Bukti saat ini menunjukkan ada berbagai BMI di mana risiko kematiannya sedang, dan hal ini terkait usia.

Klasifikasi IMT yang direkomendasikan untuk digunakan adalah klasifikasi yang diadopsi dari the National Institute of Health (NIH) dan *World Health Organization* (WHO). Definisi berat badan lebih dan obes sangat tergantung dengan ras, sebab setiap ras memiliki tipikal ukuran tubuh yang berbeda-beda. Bagi etnis Asia, seseorang dikatakan mengalami gizi lebih jika IMT melebihi 23 kgm<sup>-2</sup>. Klasifikasi WHO yang sering digunakan untuk ras Asia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Klasifikasi Berat Badan Lebih dan Obesitas Berdasarkan IMT

Klasifikasi	IMT (kg/m <sup>2</sup> )	Risiko Komorbiditas
Berat badan kurang	< 18,5	Rendah
Kisaran normal	18,5 - 22,9	Rata-rata
Berat badan lebih	> 23	
Praobesitas	23 – 26,9	Meningkat
Obesitas	≥ 27	Tinggi

Sumber : WHO (2004)

### b. Skinfold Thickness (SKF)

Obesitas adalah kelebihan lemak di dalam tubuh. Skinfold Thickness (SKF) adalah pengukuran lemak tubuh. Pengukuran lemak tubuh dilakukan melalui pengukuran ketebalan lemak bawah kulit (skinfold) pada beberapa bagian tubuh. Menurut Supariasa (2002), bagian tubuh yang biasa diukur ketebalan lemaknya, antara lain lemak pada bagian lengan atas (*triceps dan biceps*), lengan bawah (*forearm*), tulang belikat (*subscapular*), di tengah garis ketiak (*midaxillary*),

sisi dada (*pectoral*), perut (*abdominal*), suprailiaka, paha, tempurung lutut (*suprapatellar*) dan pertengahan tungkai bawah (*medial calf*). Teknik SFK mengukur lapisan lemak subkutan yang menutupi tubuh dengan menggunakan kaliper. Kaliper yang digunakan telah dikalibrasi sehingga mengerahkan tekanan konstan  $10 \text{ g/mm}^2$  (Ellis, 2001).

### **c. Rasio Lingkar Pinggang Panggul (RLPP)**

Rasio Lingkar Pinggang Panggul (RLPP) adalah metode sederhana yang dapat menjelaskan distribusi penimbunan lemak di bawah kulit dan jaringan adiposa intra abdominal (Waspadji, 2003).

Rasio Lingkar Pinggang Panggul (RLPP) adalah perbandingan antara lingkar pinggang yang diukur pada bagian terkecil dari perut secara horizontal dengan lingkar panggul yang diukur melewati bagian paling maksimal dari panggul. Lingkar pinggang dan lingkar panggul diukur dengan pita metlin dan diukur secara langsung. Parameter Rasio Lingkar Pinggang Panggul (RLPP) pada laki-laki dikategorikan obes jika  $RLPP > 0,90$  dan tidak obes jika  $RLPP \leq 0,90$ . Perempuan dikategorikan obes jika  $RLPP > 0,80$  dan tidak obes jika  $RLPP \leq 0,80$ .

### **d. Bioelectrical Impedance Analysis (BIA)**

Metode penilaian komposisi tubuh yang paling umum dan paling praktis digunakan dilapangan adalah *bioelectrical impedance analysis (BIA)*. Pengukuran BIA dilakukan dengan melampirkan sepasang elektroda pada pergelangan tangan dan kaki sehingga arus listrik yang lemah (800 mAmp) dapat melewati tubuh (Ellis, 2001).

Karada scan adalah salah satu alat untuk menilai komposisi tubuh berdasarkan metode *bioelectrical impedance analysis (BIA)*. Karada scan adalah alat pengukuran berat badan, persentase lemak tubuh, persentase otot, indeks massa tubuh (IMT), lemak visceral, dan resting metabolis (RM) yang cepat dan mudah (Omron Karada Scan HBF 356, 2003).

## **5. Penentuan Jenis Obesitas**

Menurut Soetjiningsih (2004), terdapat 3 tipe obesitas berdasarkan kondisi sel dalam tubuh yaitu tipe hiperplastik, hipertropik dan hiperplastikhipertropik. Tipe

hiperplastik menunjukkan jumlah sel dalam tubuh lebih banyak dibandingkan dengan kondisi normal, namun ukuran sel masih tetap normal. Tipe hipertropik ditandai dengan jumlah sel yang normal namun ukuran sel lebih besar dibandingkan dengan sel normal. Tipe hiperplastik-hipertropik menunjukkan gambaran jumlah dan ukuran sel yang melebihi batas normal, biasanya bersifat permanen dan sulit diturunkan.

Obesitas berdasarkan gejala klinisnya dibagi menjadi obesitas sederhana (*simple obesity*) dan obesitas khusus. Obesitas sederhana yaitu obesitas dengan gejala kegemukan saja tanpa disertai kelainan hormonal, mental, fisik dan biasanya terjadi karena faktor nutrisi. Obesitas khusus yaitu obesitas yang biasanya disebabkan oleh kelainan endokrin/hormonal, kelainan somatodismorfik (sindrom *Prader Willi*, sindrom *Summit and Carpenter*, sindrom *Laurence Moon Biedl*, dan sindrom *Cohen*), kelainan hipotalamus (kraniofaringioma), leukemia serebral serta trauma kepala yang akan mempengaruhi nafsu makan sehingga terjadi obesitas (Fukuda *et al.*, 2001).

Menurut Klein *et al.* (1998), berdasarkan patogenesisnya obesitas dibagi menjadi obesitas metabolik dan obesitas regulatorik. Obesitas metabolik yaitu obesitas yang disebabkan adanya gangguan metabolisme lemak dan karbohidrat. Obesitas regulatorik disebabkan karena gangguan pada pusat pengaturan rasa lapar di otak. Nukleus lateral hipotalamus berperan menimbulkan rasa lapar sedangkan nukleus ventromedial hipotalamus memberi tanda kenyang. Kerusakan pada nukleus ventromedial hipotalamus membuat individu tidak pernah merasa kenyang (hiperfagia) sehingga terjadi obesitas.

## **6. Jaringan adiposa**

Dalam tubuh terdapat dua jenis jaringan lemak (adiposa), yaitu jaringan lemak putih dan jaringan lemak coklat yang berbeda dalam hal penyebaran/lokalisasi, warna, vaskularisasi, dan aktivitas metabolisme. Jaringan adiposa putih (*white adipose tissue*) lebih banyak ditemukan dan didominasi oleh adiposit yang telah berkembang penuh, dengan satu droplet sentral yang besar berisi lemak berwarna kuning putih, bertanggung jawab untuk penyimpanan lemak. Jaringan adiposa putih terdiri dari jenis sel yang berbeda seperti fibroblas, *preadipocytes*, adiposit matang, dan makrofag. Jaringan ini sangat heterogen tergantung lokasi visceral atau subkutan (Sanchez *et al.*, 2011).

Jaringan adiposa coklat (*brown adipose tissue*) mengandung sel-sel dengan banyak droplet lemak, tersebar di antara mitokondria dan memberikan warna lebih gelap, memiliki *adipocytes multilokular* dengan mitokondria yang banyak dan mengekspresikan sejumlah besar *uncoupling* protein 1 (UCP-1), bertanggung jawab untuk kegiatan termogenik jaringan. Kedua jenis jaringan adiposa ini kaya dengan pasokan darah (Sanchez et al,2011).

Pada sel lemak putih terdapat beberapa jenis reseptor yang berhubungan dengan fungsi sel lemak tersebut:

- a. Reseptor insulin: meningkatkan ambilan glukosa dan di dalam sel lemak akan diubah menjadi trigliserida.
- b. Reseptor epinefrin: efedrin yang dilepaskan dari ujung saraf simpatis akan terikat pada reseptor di endotel kapiler jaringan lemak kemudian akan mengaktifkan adenilil siklase dalam sel lemak yang menyebabkan meningkatnya lipolisis (hubungan dengan olahraga).
- c. Reseptor estrogen: mempengaruhi penyebaran jaringan lemak pada perempuan.
- d. Reseptor adrenokortikoid: peningkatan hormon adrenokortikoid akan menyebabkan terjadinya hipertrofi lokal sel-sel lemak di daerah servikal bawah, yang dikenal sebagai *buffalo hump*.
- e. Beberapa hormon lain juga berperan pada berbagai langkah metabolisme lemak, seperti: hormon pertumbuhan, hormon prolaktin, dan hormon tiroid.

Adipogenesis adalah proses pembentukan dan perkembangan adiposit sebagai sel utama penyusun jaringan adiposa. Tumbuh kembangnya jaringan adiposa meliputi hipertrofi selular (pertambahan ukuran sel) dan hiperplasia (pertambahan jumlah sel). Hipertrofi dihasilkan oleh akumulasi trigliserida yang berlebihan dalam adiposit yang telah ada oleh karena asupan energi melebihi penggunaannya, sedangkan hiperplasia, yang merupakan adipogenesis sesungguhnya, dihasilkan oleh pembentukan adiposit baru dari sel prekursor dalam jaringan adiposa, yang meliputi proliferasi dan diferensiasi preadiposit (Hausman, et.al. 2001; Rodeheffer MS, et.al.2008).

Proses utama pada adipogenesis adalah proliferasi sel stem dan diferensiasi sel-sel ini menjadi adiposit atau sel vascular (Hausman, et.al. 2001; Rodeheffer MS, et.al.2008). Proliferasi adalah peningkatan jumlah sel adiposa (disebut juga hiperplasia) yang berasal dari sel prekursor adiposit. Diferensiasi

adalah transisi dari preadiposit yang mirip fibroblas belum berdiferensiasi (*undifferentiated fibroblast-like preadipocyte*) menjadi sel adiposa dewasa yang bulat berisi lemak, ditandai oleh perubahan morfologik fibroblastik menjadi adiposity dewasa unilokuler (Hausman, et.al. 2001).

Gambaran histologik jaringan lemak putih yaitu sel-sel lemak hanya mengandung satu vakuola besar dalam sitoplasma sehingga dinamakan juga lemak unilokuler. Jenis ini tersebar di seluruh bagian tubuh. Berbeda halnya dengan jaringan lemak coklat dimana sel-sel lemak mengandung banyak vakuola dalam sitoplasma sehingga dinamakan juga lemak multilokuler. Jenis ini terutama ditemukan pada bayi yang baru lahir dan jumlahnya lebih sedikit daripada jaringan lemak putih. Disebut jaringan lemak putih karena berwarna putih sampai kekuningan, tergantung dari jumlah bahan karotenoid yang dimakan, dan tersebar luas di jaringan subkutan.

Pada laki-laki penimbunan lemak terjadi pada daerah kuduk, jaringan subkutan di atas otot deltoideus dan trisepts, daerah lumbosakral, dan bokong sedangkan pada perempuan penimbunan lemak terjadi pada daerah dada, bokong, epitrohanter, serta permukaan anterior dan lateral paha. Pada lelaki bisa terjadi penimbunan lemak berlebihan terutama terjadi pada daerah abdomen, sedangkan pada perempuan terjadi terutama pada daerah bokong.

Penimbunan lemak pada daerah omentum, mesenterium, dan retroperitoneal juga berbeda pada kedua jenis kelamin. Lemak di daerah ini dilepaskan paling awal bila tubuh memerlukan energi. Penimbunan yang terjadi pada daerah omentum ini dikenal sebagai obesitas sentral.

Sel adiposa memproduksi beberapa faktor yang berfungsi sebagai *feed back signal* dalam pengaturan metabolisme jaringan adiposa. Faktor-faktor yang disekresi tersebut dapat diidentifikasi, yaitu leptin, resistin, adipisin, *Asylation Stimulating Protein (ASP)*, *Adipose Fatty Acidbinding Protein*, *Agouti protein*, *Angiotensinogen*, *Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1)*, *TGF-  $\beta$* , *Growth Hormone*, dan steroid. Selain itu juga sel adiposa juga berperan sebagai tempat dihasilkan beberapa sitokin yang dominan dalam regulasi keseimbangan energi (Ahima RS., Flier JS, 2000).

Adipositokin yang meningkatkan sensitivitas insulin diantaranya adiponektin dan leptin, sedangkan yang meningkatkan resistensi insulin diantaranya resistin, inter-leukin-6 (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor  $\alpha$*  (TNF $\alpha$ ).

Jenis lain diantaranya adipisin, Acylation Stimulating Protein (ASP), Aquaporin Adipose (AQPap), PAI-1, Aromatase11-hydroxysteroid dehydrogenase (11 HSD-1) dan lain-lain (Diamon F., 2002; Kershaw EE, Flier JS, 2004).

## 7. Komorbid Obesitas

Obesitas merupakan faktor predisposisi terjadinya sindrom metabolik, intoleransi glukosa, hipertensi, dislipidemia, obesitas sentral, fatty liver dan resistensi insulin. Juga meningkatkan beban ekonomi dalam biaya perawatan kesehatan (Sanchez *et al*,2011).

Kondisi obesitas dapat menyebabkan terjadinya kelainan metabolisme lipid ditandai dengan kelainan profil lipid dalam plasma seperti kadar kolesterol total tinggi, kadar trigliserida tinggi, dan kadar kolesterol *highdensity lipoprotein* (HDL) rendah sehingga menjadi faktor risiko penyakit diabetes, kanker, hipertensi, dan hiperkolesterolemia (Gutiérrez-Salmerón *et al.*, 2017; Nakazono *et al.*, 2016). Memicu terjadinya aterosklerosis maupun penyakit kardiovaskuler (Zárate *et al.*, 2016).

Kelebihan lemak tubuh terkait dengan diabetes, penyakit kardiovaskular, dislipidemia, hipertensi, sindrom metabolik, inflamasi, trombosis dan kanker tertentu (Zalesin KC,et al.2011; Kurukulasuriya LR, et al. 2011; Franssen R, et al. 2011; Schmandt RE, et al. 2011; Saleh R. 2015). Meningkatkan risiko kardiovaskular melalui faktor risiko seperti peningkatan plasma trigliserida puasa, kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) tinggi, kolesterol *high density lipoprotein* (HDL) rendah, gula darah dan kadar insulin tinggi serta tekanan darah tinggi (Klop B, et al. 2013).

Kondisi obesitas sering dikaitkan dengan resiko penyakit kronis seperti diabetes tipe 2, kanker, *stroke*, kesulitan bernafas, gangguan ginjal, muskuloskeletal kronis, gangguan metabolisme dan infertilitas (Rahman *et al.*, 2012; Atilgan *et al.*, 2013; Gutterman, 2011). Jumlah lemak diatas 20% dari berat badan ideal akan menimbulkan permasalahan kesehatan sehingga terjadi gangguan fungsi organ tubuh (Misnadierly, 2007).

Russel (2011) menyatakan individu yang mengalami obesitas memiliki resiko yang lebih besar terkena serangan jantung karena penyempitan pembuluh darah yang dipicu oleh tingginya kadar kolesterol dan gula darah.

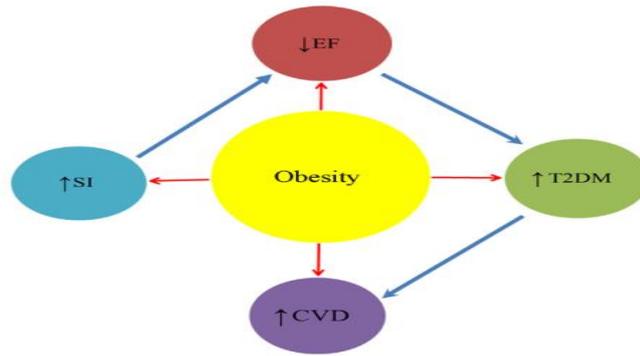
Kelebihan lemak tubuh telah terbukti terkait dengan beberapa kondisi seperti penyakit diabetes, penyakit kardiovaskular, dislipidemia, hipertensi, sindrom metabolik, inflamasi, trombosis dan kanker tertentu (Zalesin KC, et.al. 2011; Kurukulasuriya LR, et.al. 2011; Franssen R. et.al. 2011; Schmandt RE, et.al. 2011; Saleh R, 2015).

Obesitas meningkatkan risiko kardiovaskular melalui faktor risiko seperti peningkatan plasma trigliserida puasa, kolesterol *low density lipoprotein* (LDL) tinggi, kolesterol *high density lipoprotein* (HDL) rendah, gula darah dan kadar insulin tinggi serta tekanan darah tinggi (Klop B, et. Al. 2013).

Obesitas bisa memicu terjadinya keadaan stres oksidatif karena ketidakseimbangan antara prooksidan dan antioksidan endogen. Keadaan ini akan menyebabkan terbentuknya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS). Obesitas erat kaitannya dengan stres oksidatif, dikarenakan adanya peranan cyclic AMP (cAMP) dalam pengaturan keseimbangan energi pada obesitas (Alba F, et.al. 2011; Rahmawati A., 2014). Obesitas juga dikaitkan dengan kondisi inflamasi kronis tingkat rendah dengan infiltrasi progresif sel-sel imun pada jaringan adiposa (Rahmawati A., 2014).

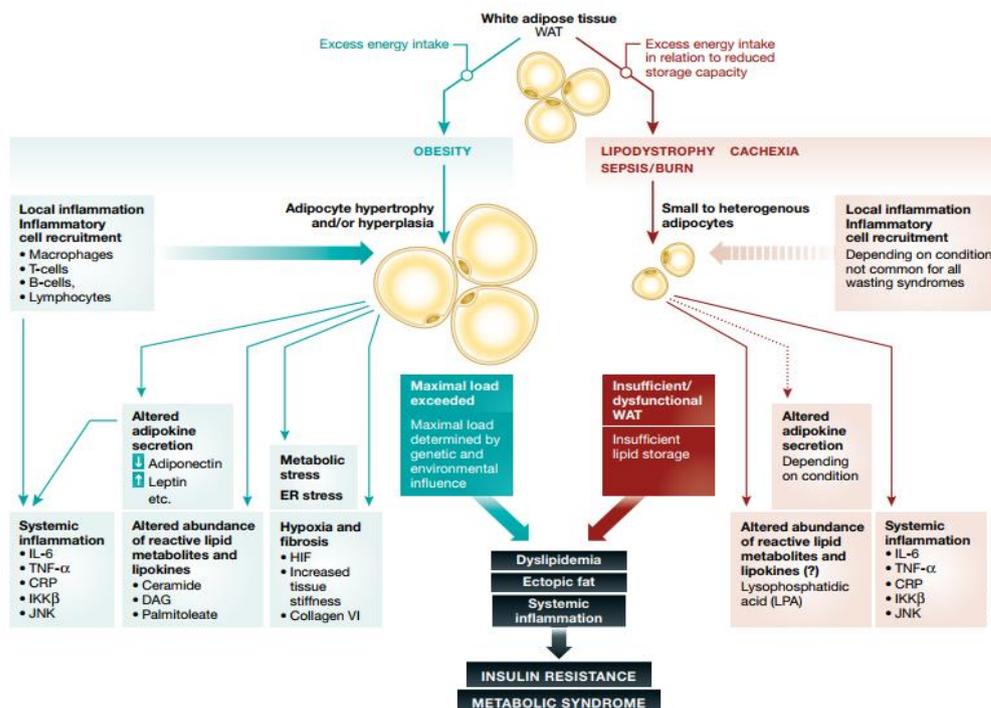
Sitokin yang dikeluarkan sel imun dan adipokines jaringan adiposa meningkatkan inflamasi jaringan. Karena Jaringan adiposa bukan hanya organ penyimpanan trigliserida, namun penelitian telah menunjukkan peran jaringan adiposa putih adalah sebagai penghasil zat bioaktif tertentu yang disebut adipokines. Selain adipokines, juga ditemukan beberapa mediator inflamasi, seperti *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor alfa* (TNF- $\alpha$ ). IL-6 dan TNF- $\alpha$  dapat meningkatkan nafsu makan pada kondisi obesitas.

Penelitian dengan metode cloning pada mencit obesitas, disimpulkan bahwa jaringan adiposa menghasilkan hormon antara lain leptin, resistin, adiponektin, IL-6 maupun TNF- $\alpha$ . Kadar leptin serum juga meningkat pada keadaan obesitas (Alba F, et.al. 2011; Rahmawati A., 2014; Furukawa S., et.al. 2004).



Gambar 3. Obesitas dan penyakit kronis yang terkait. Inflamasi Sistemik (SI); endothelial function (EF); diabetes mellitus type 2 (DM T2); cardiovascular disease (CVD) (Poonam K. Pannu *et. al.*2016)

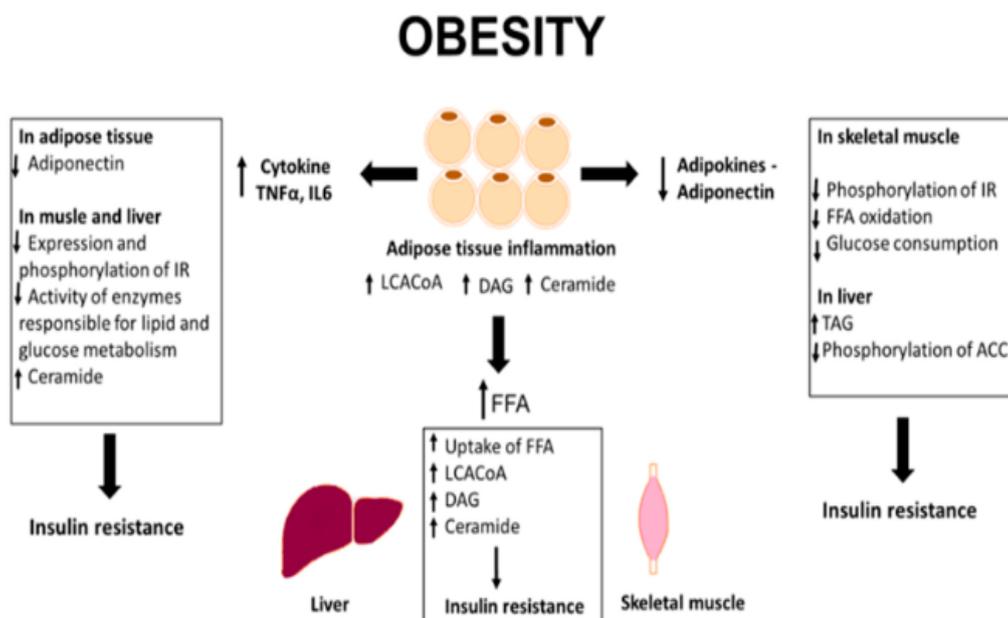
Obesitas maupun *wasting* menyebabkan disfungsi jaringan adiposa karena kapasitas penyimpanan yang tidak memadai, mengakibatkan dislipidemia, peradangan sistemik dan perubahan profil adipokin. Kombinasi faktor-faktor ini mendukung pengembangan resistensi insulin dan sindrom metabolik, yang selanjutnya merusak fungsi jaringan adiposa, menciptakan siklus yang merugikan. IKKb, IjB kinase; *Hypoxia Inducible Factor (HIF)*; *interleukin-6 (IL-6)*; *c-Jun N-terminal kinase (JNK)*; *Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF-α)*; *C-Reactive Protein (CRP)*; *diacylglycerol (DAG)*



Gambar 4. Obesitas dan penyakit yang berhubungan dengan perluasan jaringan adiposa (Vegiopoulos, Alexandros., *et al.* 2017).

Kojta, Iwona, et.al (2020) menyatakan obesitas merupakan faktor risiko utama berkembangnya resistensi insulin dan diabetes tipe 2. Mekanisme pasti bagaimana jaringan adiposa menginduksi resistensi insulin masih belum jelas. Telah dibuktikan bahwa obesitas berhubungan dengan disfungsi adiposit, infiltrasi makrofag, dan inflamasi tingkat rendah, yang mungkin berkontribusi terhadap induksi resistensi insulin. Jaringan adiposa mensintesis dan mengeluarkan banyak molekul bioaktif, yaitu adipokin dan sitokin, yang mempengaruhi metabolisme lipid dan glukosa. Gangguan dalam sintesis adipokin dan sitokin yang terjadi pada obesitas menyebabkan perubahan metabolisme lipid dan karbohidrat dan, sebagai akibatnya, dapat menyebabkan resistensi insulin dan diabetes tipe 2.

Obesitas juga dikaitkan dengan akumulasi lipid. Kelompok lipid khusus yang mampu mengatur aktivitas enzim intraseluler adalah lipid yang aktif secara biologis: asil-KoA rantai panjang, seramida, dan diasilgliserol. Menurut data terbaru, akumulasi lipid ini dalam adiposit mungkin terkait dengan perkembangan resistensi insulin. Studi terbaru menunjukkan bahwa akumulasi lipid biologis aktif dalam jaringan adiposa dapat mengatur sintesis/sekresi adipokin dan sitokin proinflamasi.



Gambar 5. Gambaran disfungsi adiposit pada obesitas. IR, reseptor insulin; FFA, asam lemak bebas; TAG, triasilgliserol; ACC, asetil-KoA karboksilase, TNF- $\alpha$ , faktor nekrosis tumor ; IL6, interleukin 6; LCACoA, asil-CoA rantai panjang; DAG, diasilgliserol. (Kojta, Iwona, et.al. 2020)

## 8. Obesitas Sebagai Penginduksi Dislipidemia

Lemak pada tubuh akan disimpan 50% pada jaringan bawah kulit (subkutan), 45% di sekeliling organ dalam rongga perut dan 5 % di jaringan intramuskular (Almatsier 2003). Menurut Harold *et al* (2013) lipid berlebih akan disimpan pada jaringan nonadiposa seperti hati, otot atau pankreas sehingga menyebabkan terjadinya lipotoksisitas. Jaringan adiposa mempunyai kapasitas tertentu dalam menyimpan lemak, kelebihan kalori dapat menyebabkan hipertrofi jaringan adiposa (Harold *et al.* 2013), yang pada gilirannya dapat mengganggu homeostasis energi.

Asupan nutrisi berlebih dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan tingginya stres oksidatif pada jaringan adiposa, sehingga mengakibatkan inflamasi. Menurut Almatsier (2003) membran sel terdiri dari asam lemak jenuh ganda yang mudah dioksidasi oleh radikal bebas. Inflamasi pada jaringan adiposa dapat menginduksi pelepasan sitokin yang menyebabkan perubahan metabolisme, komposisi HDL dan ekspresi beberapa enzim. Hal tersebut akan menyebabkan gangguan pada pengeluaran kolesterol dari sel dan ambilan kolesterol ke hati (Rohrer *et al.* 2004).

Gangguan pada jaringan adiposa akibat obesitas dapat menginduksi terjadinya dislipidemia. Dislipidemia pada obesitas diawali oleh hipertrigliserida yang mengakibatkan tingginya *Free Fatty Acids* (FAA). Peningkatan FAA menyebabkan tingginya akumulasi TG di hati yang memicu peningkatan sintesis VLDL oleh hati. VLDL yang tinggi dapat menghambat lipolisis kilomikron karena keterbatasan enzim lipoprotein lipase. Hipertrigliserida dapat (juga) menginduksi peningkatan pertukaran TG dan kolesterol (CE) pada VLDL, HDL dan LDL oleh *cholesterylester transfer protein* (CETP). Hal tersebut akan mengakibatkan penurunan kadar HDL plasma (Boudewijn, *et.al.* 2013). Profil lipid dikategorikan normal jika kadar TC < 240 mg/dL, TG < 200 mg/dL, HDL > 40 mg/dL dan LDL < 160 mg/dL (Jelinger *et al.* 2012).

Dislipidemia dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit kardiovaskular. Menurut Almatsier (2003), LDL mudah mengalami oksidasi dan mengendap di pembuluh darah. Penumpukan kolesterol pada arteri koronaria pada gilirannya akan membentuk plak yang dapat berkembang menjadi *aterosklerosis*. *Aterosklerosis* dapat menghambat sirkulasi darah menuju jantung sehingga memicu penyakit kardiovaskular. Menurut Khovidhunkit,*et.al.* (2004) kolesterol

yang tinggi dalam plasma dapat menyebabkan peradangan dalam pembuluh darah arteri koronaria dan dapat berkembang menjadi plak aterosklerosis (Sany, 2009).

(Klop et al., 2013); (Maqsood et al., 2017) bahwa pada kondisi obesitas dapat menyebabkan terjadinya dyslipidemia dimana kadar trigliserida (TG) meningkat (hipertrigliserida) mengakibatkan tingginya *Free Fatty Acids* (FFA) di hepar. *Free Fatty Acids* berlebih akan meningkatkan sintesis TG dan sekresi VLDL oleh hepar. Hipertrigliserida (juga) dapat menginduksi peningkatan pertukaran HDL dan kolesterol ester (CE) dari VLDL oleh cholesterylester transfer protein (CETP), mengakibatkan penurunan kadar HDL dalam plasma. Pada kondisi obesitas, metabolisme HDL terganggu akibat peningkatan jumlah sisa kilomikron dan VLDL bersamaan dengan gangguan lipolisis. Peningkatan jumlah lipoprotein kaya TG menghasilkan peningkatan aktivitas CETP yang menukar kolesterol ester dari HDL untuk TG dari VLDL dan LDL, sehingga kadar HDL dalam plasma menurun (Subramanian & Chait, 2012).

Pemberian diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan konsentrasi kilomikron dalam plasma. Peningkatan kadar trigliserida menyebabkan peningkatan pembentukan LDL (Tomkin & Owens, 2012). (Tenenbaum et al., 2014) bahwa peningkatan TG dan penurunan konsentrasi HDL merupakan konsekuensi metabolik dari jaringan adiposa visceral berlebih dan meningkatkan risiko penyakit aterosklerotik melalui berbagai mekanisme. Konsentrasi HDL yang rendah adalah penanda diagnostik untuk Metabolic Syndrome (MetS) dan CVD. Konsentrasi HDL yang meningkat umumnya dikenal sebagai pelindung kardioprotein, karena lipoprotein ini berfungsi untuk menyerap kelebihan kolesterol ke hati untuk diekskresikan. Adanya hubungan terbalik yang kuat antara konsentrasi HDL dan CVD pada tingkat epidemiologi, sehingga menjadi penanda utama untuk menilai kesehatan kardiometabolik (Tuteja & Rader, 2014)

*Low Density Lipoprotein* merupakan lipoprotein pengangkut kolesterol terbesar untuk disebarkan ke seluruh endotel jaringan perifer dan pembuluh darah. Lipoprotein densitas rendah (LDL) adalah pembawa utama kolesterol ke sel. Diet tinggi lemak menambah kelimpahannya menyebabkan komplikasi patologis di atas tingkat ambang batas (Goldstein & Brown, 2015). Tingginya kadar kolesterol pada kondisi obesitas akan diikuti dengan peningkatan LDL dalam aliran darah. (Luo et al., 2014) menemukan bahwa peningkatan kadar

LDL-c dan ApoB dikaitkan dengan peningkatan IMT dan peningkatan area lemak visceral (VFA). (Fisher et al., 2012) menyatakan HDL membawa kolesterol bebas dari sel perifer, termasuk makrofag dan sel endotel. Kolesterol bebas dari HDL dapat diesterifikasi menjadi CE dalam darah. Setelah HDL mencapai hati, reseptor HDL di permukaan hepatoseluler, seperti Scavenger Reseptor class BI (SR-BI), mengangkut CE dari HDL ke hati, dan CE kemudian dimetabolisme menjadi asam empedu atau lipid netral, yang diekskresikan sebagai empedu dan feses di RCT. Mekanisme ini menjelaskan efek anti-aterosklerosis HDL.

## 9. Pencernaan dan Absorpsi Lipid

Mulut mengunyah berperan dalam memisahkan lemak. Kelenjar Ebner mengeluarkan enzim lipase lingual yang memulai proses hidrolisis lemak. Di lambung, asam hidroklorida memisahkan lemak dari makanan dan terjadi pencernaan lemak yang mengandung asam lemak rantai pendek oleh lipase lingual dari mulut (Mayes, 2003).

Pencernaan lemak yang mengandung asam lemak rantai panjang terjadi di usus halus oleh lipase pankreas yang dibantu oleh garam empedu, bikarbonat dan protein kolipase. Garam empedu dengan sifat amfipatik yang dimilikinya bersama-sama dengan gerakan peristaltic usus membentuk emulsi lemak. Bikarbonat berfungsi agar suasana lingkungan menjadi kurang asam, sedangkan protein kolipase mempunyai sifat hidrofobik dan merupakan tempat bagi enzim pankreas (lipase) untuk mengikat diri dengan garam empedu sehingga aktivitas enzim dapat maksimal (Ganong, 2003).

Trigliserida dipecah menjadi gliserol, diasilgliserol, mono asil gliserol dan asam lemak bebas oleh lipase pankreas. Hanya sebagian trigliserida yang dapat dipecah menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Kolesterol ester dipecah menjadi kolesterol dan asam lemak bebas oleh kolesterol esterase. Lesitin oleh fosfolipase A<sub>2</sub>, dipecah menjadi lisolesitin dan asam lemak bebas. Hasil pencernaan tersebut bersama garam empedu membentuk misel-misel, dengan diameter kurang lebih 5 nm sehingga dapat melewati "*intramicrovilus spaces*" dari membran usus halus yang berdiameter kurang lebih 100 nm (Mayes, 2003).

Sebagian besar hasil pencernaan diabsorpsi ke dalam membran mukosa usus halus dengan cara difusi pasif. Misel-misel yang distabilkan oleh bagian polar garam empedu menjadi partikel yang larut air dan dapat menembus

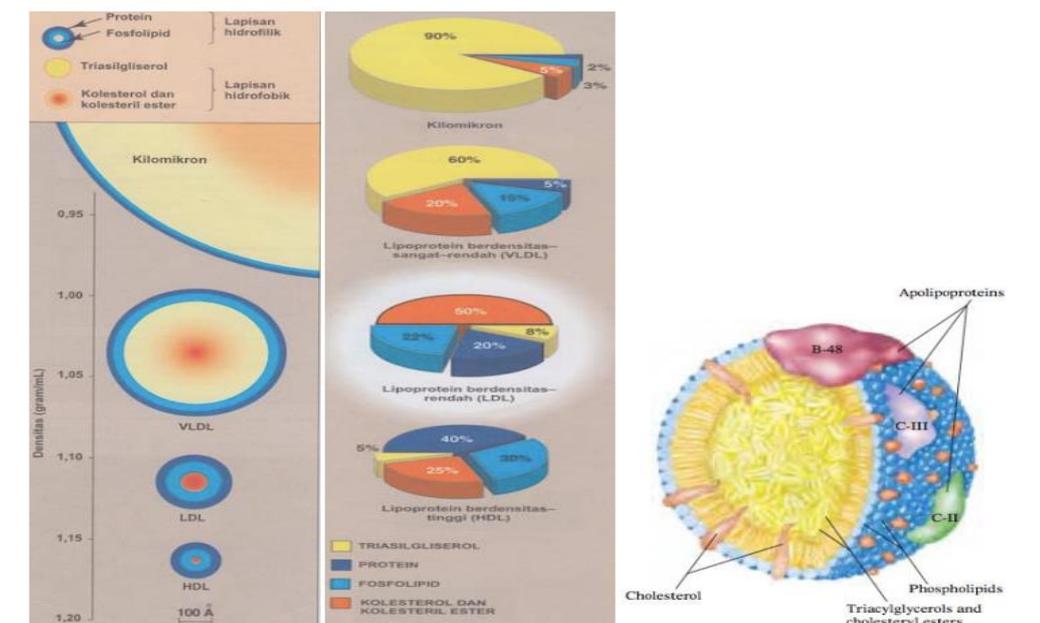
*unstirred water layer* (UWL) yang menyelubungi sel-sel mukosa usus halus (sel enterosit), kemudian misel-misel menempel di *brushborder* enterosit dan masuk ke dalam enterosit. Garam empedu mengalami absorpsi di ileum dan melalui vena porta menuju hati untuk direseksi dalam kandung empedu.

Asam lemak rantai panjang (C12 atau lebih) pertama kali diaktifkan berikatan dengan koenzim A melalui enzim asil coA sintetase, kemudian di dalam enterosit mengalami reesterifikasi menjadi trigliserida, fosfatidil kolin dan kolesterol ester. Asam lemak dengan rantai pendek melewati sel enterosit langsung ke peredaran darah diangkut oleh albumin ke jaringan lain untuk proses selanjutnya (Ganong, 2003; Mayes, 2003).

## 10. Metabolisme Lipoprotein

Lipid umumnya bersifat hidrofobik oleh karena itu dibutuhkan suatu pelarut yaitu apoprotein. Senyawa lipid bersama apoprotein disebut lipoprotein.

Lipoprotein merupakan partikel berbentuk bola yang berfungsi mentranspor lipid dalam darah, antara lain kolesterol dan trigliserida. Partikel lipoprotein meliputi kilomikron, lipoprotein berdensitas sangat rendah (VLDL), lipoprotein berdensitas rendah (LDL), dan lipoprotein berdensitas tinggi (HDL). Masing-masing partikel ini memiliki perbedaan komposisi lipid, protein, ukuran, densitasnya dan tempat asalnya.



Gambar 6. Ukuran, densitas, dan komposisi lipoprotein (Sumber : Lippincott's Illustrated Reviews Biokimia. 2014; edisi 6).

## 11. Apoprotein

Apoprotein mengaktifkan enzim penting dalam metabolisme lipoprotein dan berfungsi sebagai ligan untuk reseptor permukaan sel (Semenkovich CF, *et.al.* 2011). Apolipoprotein yang terkait dengan partikel lipoprotein memiliki berbagai fungsi, yaitu sebagai pengenalan reseptor pada permukaan sel, aktivator atau koenzim untuk enzim yang terlibat dalam metabolisme lipoprotein. Apolipoprotein dibagi berdasarkan struktur dan fungsinya menjadi lima golongan utama, A sampai E, sebagian besar golongan memiliki sub-golongan.

Malloy MJ, Kane JP (2007) menyatakan ApoA1 ialah apoprotein utama dari HDL, dan juga terdapat di kilomikron. Jenis ini merupakan apoprotein terbanyak dalam serum, dan kofaktor untuk *lecithin cholesterol acyltransferase* (LCAT).

ApoA1 diproduksi oleh usus dan hati dan juga ditemukan pada permukaan remnan lipoprotein selama lipolysis (Semenkovich CF, *et.al.* 2011). ApoA2 merupakan apoprotein HDL terbanyak kedua setelah ApoA1, ApoA4 berikatan dengan kilomikron, ApoA5 menjadi aktif di dalam hepatosit dan juga terdapat dalam HDL (Semenkovich CF, *et.al.* 2011).

ApoB merupakan protein utama dari kilomikron, VLDL, IDL, dan LDL. ApoB tidak berpindah dari satu lipoprotein ke lipoprotein lain. Hati mensintesis apoB-100 sedangkan usus apoB-48, yang diturunkan dari gen yang sama oleh *mRNA editing* (Watts GF, *et.al.* 2000).

Apoprotein B merupakan protein utama dalam partikel lipoprotein aterogenik dan terutama terdapat dalam partikel LDL. Tiap partikel LDL mengandung satu molekul apo B, dengan demikian konsentrasi apoprotein B mencerminkan jumlah partikel LDL dalam tubuh (Haksa, 2010).

Penyakit pada arteria dapat terjadi dengan peningkatan kadar kolesterol LDL dan VLDL dalam darah (hiperkolesterol). Kenaikan kadar kolesterol ini dapat terjadi bila ada gangguan pembentukan kolesterol dalam hepar atau usus halus (Sherwood, 2001). Kadar kolesterol LDL yang tinggi akan memicu penimbunan kolesterol di sel pembuluh darah, yang menyebabkan munculnya aterosklerosis dan terbentuknya plak di dinding pembuluh darah (Libby and Theroux, 2005).

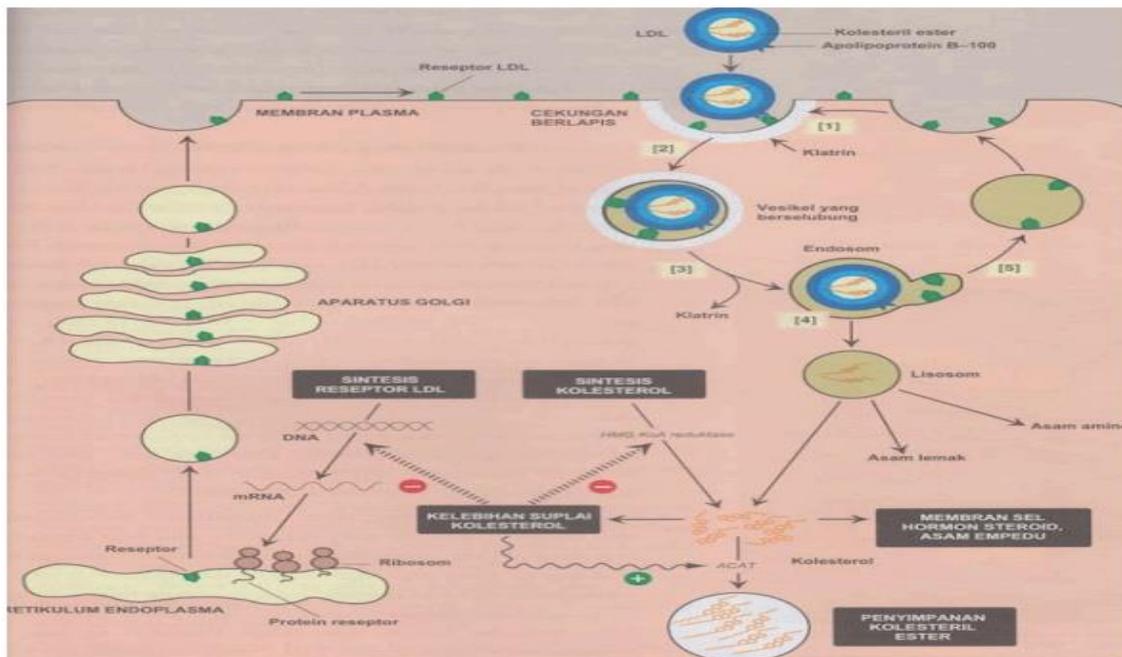
Aterosklerosis berhubungan dengan peningkatan LDL. Pengaruh

peningkatan kadar LDL akan diikuti akumulasi ester kolesterol dalam makrofag sehingga kemudian makrofag disebut sebagai sel busa. Kadar LDL yang tinggi menyebabkan tingginya kadar LDL intimal. Selanjutnya LDL intimal akan mengalami oksidasi dan menarik monosit dari sirkulasi darah serta berubah secara fenotipik menjadi makrofag. Peningkatan LDL teroksidasi pada dinding arteri disertai dengan terbentuknya sel busa, akan berkembang menjadi lempeng lemak (Bankson *et al.*, 1993).

Terdapat 3 jenis apolipoprotein dari seri-C (apoC1, apoC2, dan apoC3) yang berperan dalam metabolisme lipoprotein kaya trigliserida. ApoC merupakan protein dengan berat molekul rendah yang merupakan kofaktor untuk enzim lipase (Rader DJ, Hobbs HH, 2008). ApoE terdapat pada kilomikron, VLDL, dan IDL, dan berperan penting dalam metabolisme partikel yang kaya trigliserida. Terdapat 3 jenis apoE yaitu: apoE1-4 yang diproduksi dari gen alel. ApoE2 tidak mengandung ligan fungsional dari reseptor LDL (Rader DJ, Hobbs HH, 2008).

Reseptor LDL merupakan glikoprotein yang terdapat pada permukaan hampir semua sel terutama hepatosit. Reseptor LDL berfungsi dalam pengambilan lipoprotein yang mengandung apoB dan apoE, termasuk LDL, remnan kilomikron, VLDL, remnan VLDL, dan HDL. Umumnya HDL yang kurang apoE tidak berinteraksi dengan reseptor LDL (Mahley RW, 2001). Sel-sel dapat menerima kolesterol plasma yang diambil dari lipoprotein melalui reseptor LDL. ApoB-100 dan apoE pada permukaan lipoprotein mengikat reseptor LDL (Mahley RW, 2001).

Protein Lp(a) ditemukan sebagai *disulfide bridged dimer* dengan apoB-100 dalam LDL (Malloy MJ, Kane JP, 2007). Kompleks lipoprotein yang berikatan dengan reseptor LDL akan dibawa ke membran sel membentuk vesikel intrasel, masuk ke dalam sitoplasma, kemudian terjadi pemisahan lipoprotein dan reseptor LDL. Lipoprotein akan didegradasi dalam lisosom dan reseptor LDL kembali ke permukaan sel (Mahley RW, 2001).



Gambar 7. Pengambilan Ulang dan Degradasi LDL Dalam Sel  
(Sumber : Lippincott's Illustrated Reviews Biokimia. 2014; edisi 6)

Metabolisme lipoprotein dibagi atas tiga jalur yaitu jalur metabolisme eksogen, endogen, dan jalur *reverse cholesterol transport*. Kedua jalur pertama berhubungan dengan metabolisme kolesterol LDL dan trigliserida, sedangkan jalur *reverse cholesterol transport* dikhususkan ke metabolisme kolesterol-HDL (Rader DJ, Hobbs HH, 2008).

## 12. Jalur Metabolisme Eksogen

Jalur metabolisme lipid eksogen menjelaskan proses metabolisme lipid yang berasal dari konsumsi makanan. Lipid mengalami proses enzimatik oleh lipase pankreas di usus halus untuk membentuk misel. Misel terutama terdiri atas asam lemak bebas, 2-monogliserol, turunan kolesterol dan molekul penting tak larut air. Molekul penting tak larut air tersebut adalah vitamin A, D, E, dan K. Misel diserap melalui sel mukosa dalam bentuk kompleks lipoprotein yang besar yaitu kilomikron. Kilomikron bertanggung jawab mengangkut semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi. Kilomikron memasuki sirkulasi melalui duktus limfatik dan dibersihkan dari sirkulasi melalui peran enzim *lipoprotein lipase*.

Lipoprotein lipase adalah enzim yang terdapat di permukaan endotel kapiler. Enzim ini berperan sebagai katalis dalam pemecahan trigliserida pada

kilomikron ke dalam bentuk asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak bebas dan gliserol hasil pemecahan tersebut akan memasuki sel-sel adiposit dan mengalami reesterifikasi. Asam lemak bebas tetap ada di dalam sirkulasi melalui ikatan dengan albumin. Kilomikron yang telah kehilangan trigliserida berada dalam sirkulasi dalam bentuk kilomikron sisa (*chylomicron remnants*). Kilomikron sisa akan dibawa menuju hepar melalui endositosis yang diperantarai oleh reseptor. Ester kolesteril dan triasilgliserol mengalami metabolisme dan hidrolisis (Barret *et al.*, 2010). Kilomikron diserap melalui sisa perantara apo-E, dua reseptor dependen-apo E, reseptor LDL (apo B-100, E0 dan *Like Reseptor Protein-LDL* (LRP-LDL) (Murray, 2012).

Dalam makanan, lipid yang terbanyak yaitu trigliserida serta sejumlah kecil fosfolipid, kolesterol, dan ester kolesterol. Selain dari makanan, kolesterol juga berasal dari hati. Lipid dalam usus yang berasal dari makanan disebut lipid eksogen. Dalam lambung, lipid mengalami emulsifikasi oleh empedu menjadi partikel lebih kecil sehingga enzim pencernaan dapat bekerja. Trigliserida dihidrolisis di dalam usus oleh lipase pankreas dan lipase usus menjadi asam lemak bebas dan monogliserida. Bersama empedu, asam lemak bebas dan monogliserol dalam bentuk miselus masuk ke *brush border* enterosit untuk diabsorpsi. Empedu dilepas kembali untuk didaur ulang dalam proses pengangkutan (Rader DJ, Hobbs HH, 2008). Dalam enterosit, asam lemak bebas akan diubah lagi menjadi trigliserida, sedangkan kolesterol akan mengalami esterifikasi menjadi kolesterol ester; keduanya bersama dengan fosfolipid dan apoprotein B-48 akan membentuk lipoprotein yang disebut kilomikron *nascent* (Adam JM, 2010).

Kilomikron diakumulasi di apparatus Golgi dan disekresi ke sisi lateral enterosit, masuk ke saluran limf dan akhirnya melalui duktus torasikus akan masuk ke dalam aliran darah. Kilomikron *nascent* memiliki apoB-48, apoA1, apoA4, dan mendapat apoC2 dan apoE dari HDL di kelenjar limf dan darah.

Trigliserida dalam kilomikron akan di hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (LPL, diaktifkan oleh apoC2) yang berasal dari endotel kapiler di jaringan adiposa, jantung, serta otot rangka, dan melepaskan asam lemak bebas (*free fatty acid*, FFA). Asam lemak bebas yang dilepaskan diambil oleh miosit dan adiposit, dioksidasi untuk menghasilkan energi atau diesterifikasi dan disimpan sebagai trigliserida dalam jaringan adiposa. Bila asam lemak bebas terdapat dalam jumlah

besar, sebagian akan diambil oleh hati menjadi bahan pembentuk trigliserida. Kilomikron yang kehilangan sebagian besar trigliseridanya akan menjadi kilomikron remnan yang mengandung kolesterol ester dan akan dibawa ke hati melalui ligan apoE (Rader DJ, Hobbs HH, 2008).

Kilomikron kaya akan kolesterol ester, dan merupakan komponen lipid utama pada lesi aterosklerosis, yang dapat masuk ke subendotel dan selanjutnya difagositosis oleh makrofag (Semenkovich CF, 2007). Remnan kilomikron dibersihkan dari plasma oleh reseptor lipoprotein dan akhirnya diambil dan didegradasi oleh hepatosit. Pembersihan plasma termasuk sekuestrasi dalam celah Disse oleh heparan sulfat proteoglikan, keterlibatan LPL dalam proses lebih lanjut dan mengikat sel permukaan, dan internalisasi yang dimediasi oleh heparan sulfat proteoglikan (Semenkovich CF, 2007).

### **13. Jalur Metabolisme Endogen**

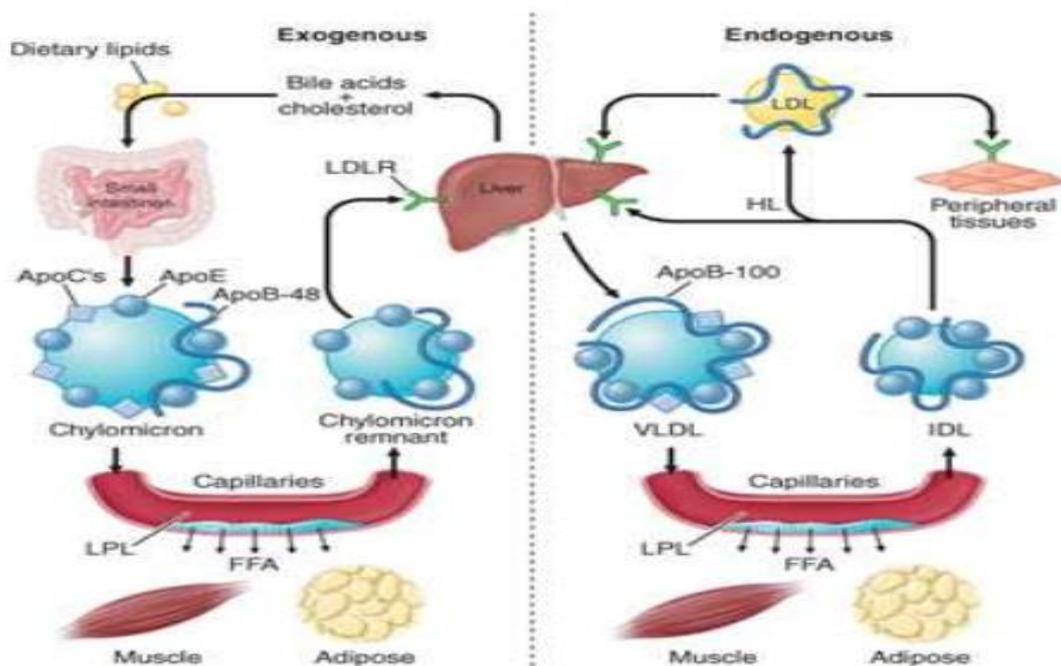
Deposit lipid dalam hepatosit dimetabolisme menjadi trigliserida dan kolesterol ester (Semenkovich CF, 2007). *Packaging* trigliserida hati dengan komponen lain VLDL *nascent* dimediasi oleh enzim *microsomal triglyceride transfer protein (MTP)*. Trigliserida dan fosfolipid yang digunakan untuk pembentukan VLDL disintesis dalam retikulum endoplasma, selanjutnya masuk ke aparatus golgi, menyatu dengan permukaan lumen hepatosit, melepaskan VLDL ke celah Disse, dan masuk ke kapiler jaringan adiposa dan otot sebagai lipoprotein VLDL *nascent* dengan apoB-100 (Rader DJ, Hobbs HH, 2008).

Lipoprotein VLDL terdiri dari 85-90% lipid (55% trigliserida, 20% kolesterol, 15% fosfolipid) dan 10-15% protein (Mahley RW, 2001). Apoprotein apoB-100 merupakan bentuk hepatic dari apoB. Selain itu, VLDL juga berisi apoE dan apoCs yang didapat dari HDL dalam sirkulasi. Trigliserida VLDL akan dihidrolisis oleh enzim *lipoprotein lipase (LPL)* dan *hepatic lipase (HL)* menjadi asam lemak bebas. Lipoprotein VLDL dikonversi ke IDL yang hanya mengandung apoB dan apoE. Lipoprotein IDL dapat diambil oleh reseptor LDL (*LRP, low density lipoprotein receptorrelated proteins*) di hati. Lipoprotein IDL dengan apoE normal dihidrolisis oleh LPL dan HL menjadi LDL (Parhofer KG, Barrett PHR, 2006).

Lipoprotein LDL merupakan lipoprotein yang paling banyak mengandung kolesterol dan merupakan produk akhir dari hidrolisis VLDL yang dimediasi lipase.

Sekitar 70% kolesterol plasma total terdapat di dalam LDL. Lipoprotein LDL terdiri dari 75% lipid (35% kolesterol ester, 10% kolesterol bebas, 10% trigliserida, 20% fosfolipid) dan 25% protein (Mahley RW, 2001).

Sebagian kolesterol LDL akan dibawa ke hati dan jaringan steroidogenik lainnya seperti kelenjar adrenal, testis, dan ovarium yang mempunyai reseptor kolesterol-LDL, dimediasi oleh apoB-100. Lipoprotein LDL didegradasi di hepatosit dan akan melepaskan kolesterol yang digunakan untuk biosintesis VLDL dan sintesis membran atau menjadi prekursor biosintesis asam empedu. Asam empedu dan kolesterol bebas dibawa ke kantong empedu. Sebagian kecil kolesterol-LDL masuk ke subendotel, mengalami oksidasi, ditangkap oleh reseptor *scavenger-A* (SR-A) makrofag, dan difagositosis oleh makrofag yang akan menjadi sel busa (*foam cell*). Makin banyak kadar kolesterol-LDL dalam plasma, maka makin banyak yang akan mengalami oksidasi dan ditangkap oleh makrofag. Jumlah kolesterol yang akan teroksidasi tergantung dari kadar kolesterol yang terkandung dalam LDL (Watts GF, ET.AL. 2000).



Gambar 8. Jalur Metabolisme Eksogen dan Endogen. Sumber: Rader DJ dan Hobbs HH (2008).

#### 14. Metabolisme HDL dan *Reverse Cholesterol Transport*

HDL merupakan partikel paling kecil yang disintesis dalam hati dan usus, dan mengandung 50% lipid dan 50% protein, dengan apoprotein apoA1 dan apoA2, dimana HDL dapat dibagi berdasarkan densitasnya menjadi HDL2 dan HDL3 (Mahley RW, 2001). Hepatosit dan enterosit dapat mengeluarkan kolesterol dari tubuh melalui saluran empedu dan usus. Di hati, kolesterol diekskresi ke empedu secara langsung atau sesudah konversi ke asam empedu. Kolesterol dalam sel-sel perifer ditranspor dari membran sel perifer ke hati dan usus melalui proses *reverse cholesterol transport* yang difasilitasi oleh HDL (Chetiveaux M. et.al. 2004).

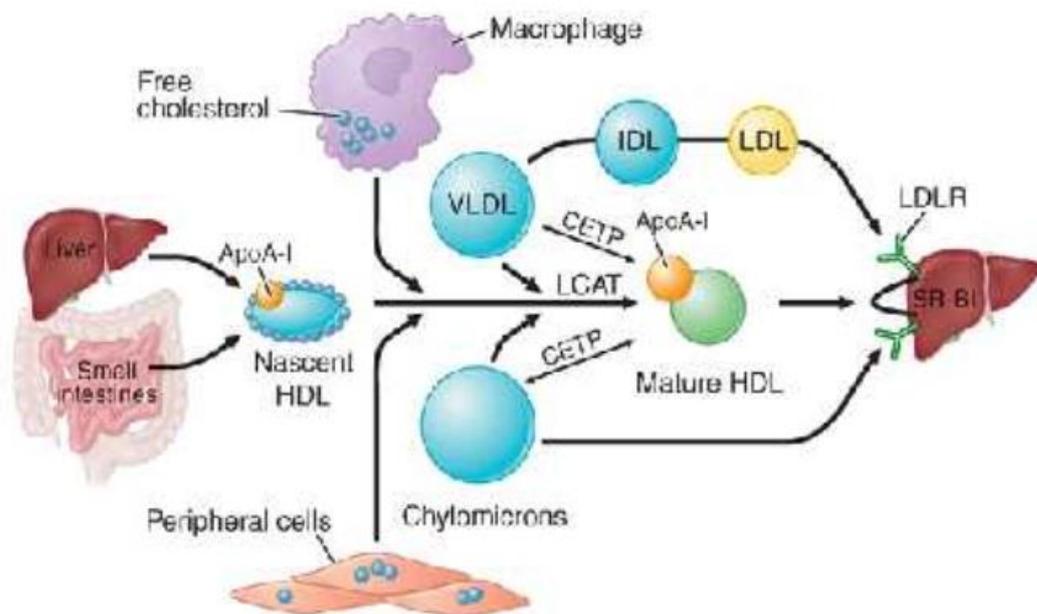
Lipoprotein HDL *nascent* disintesis dalam usus dan hati. HDL dilepaskan sebagai partikel kecil yang miskin kolesterol, berbentuk gepeng, dan mengandung apoA-I, apoC, dan apoE. HDL *nascent* akan mengambil kolesterol dari makrofag; untuk itu, kolesterol di bagian dalam makrofag harus dibawa ke permukaan membran makrofag oleh transporter *adenosine triphosphate-binding cassette A-1* (ABCA-1). Proses ini menghasilkan bentuk cakram HDL dan mendapat tambahan kolesterol *unesterified* dari perifer. Dalam HDL, kolesterol diesterifikasi oleh *lecitin-cholesterol acyltransferase* (LCAT) menjadi kolesterol ester. Kolesterol ester yang lebih hidrofobik akan pindah ke inti HDL, dan HDL yang telah mendapat lebih banyak kolesterol ester menjadi bentuk sferis. Tambahan apoprotein dan lipid ditransfer ke HDL dari permukaan kilomikron dan VLDL selama lipolysis (Chetiveaux M. et.al. 2004).

Kolesterol HDL ditranspor ke hepatosit secara langsung dan tidak langsung. Kolesterol ester HDL ditransfer ke lipoprotein yang berisi apoB (VLDL, IDL, LDL) untuk pertukaran dengan trigliserida oleh *cholesterol ester transfer protein* (CETP). Kolesterol ester ditranspor ke hati setelah konversi VLDL ke IDL dan ke LDL, kemudian diambil oleh reseptor LDL. Jalur ini bekerja tidak langsung karena transfer kolesterol ester lipoprotein-apoB menghasilkan partikel kaya kolesterol yang mungkin diambil oleh sel busa dalam plak aterosklerosis sebelum dibersihkan oleh hati dan dibersihkan dari sirkulasi melalui endositosis yang dimediasi reseptor LDL (Rader DJ, Hobbs HH, 2008). HDL kolesterol dapat juga diambil secara langsung oleh hepatosit melalui *scavenger receptor class B1* (SR-

BI), yaitu reseptor permukaan sel yang memediasi transfer selektif dari lipid ke dalam sel (Adam JM, 2010).

Lipoprotein HDL mengalami remodeling dalam plasma oleh berbagai protein transfer lipid dan lipase. Protein transfer fosfolipid berefek pada transfer fosfolipid dari lipoprotein lain ke HDL. Setelah pertukaran lipid yang dimediasi CETP, HDL yang kaya trigliserida menjadi substrat yang lebih baik dari lipase hati, yang menghidrolisis trigliserida dan fosfolipid untuk menghasilkan *smaller* HDL. Enzim yang berperan yaitu *endothelial lipase* menghidrolisis fosfolipid HDL, dan menghasilkan *smaller HDL* yang dikatabolisme lebih cepat. Remodeling HDL memengaruhi metabolisme, fungsi, dan konsentrasi HDL plasma (Rader DJ, Hobbs HH, 2008).

*Reverse cholesterol transport* atau jalur balik kolesterol memerlukan HDL. HDL mengantar kolesterol ke hati melalui tiga mekanisme, yaitu: 1) Sebagian besar kolesterol ester HDL ditransfer dari HDL ke VLDL, IDL, LDL oleh *cholesterol ester transfer protein* (CETP), dan VLDL, IDL, dan LDL remnan diambil oleh hati. Secara tidak langsung, HDL mengantar kolesterol ester ke hati. 2) HDL dapat terikat ke reseptor *scavenger receptor class BI* (SR-BI), yang memfasilitasi pemindahan langsung kolesterol dari HDL oleh hati. 3) Reseptor hepatosit dapat berinteraksi dengan HDL untuk memindahkan HDL dari plasma.



Gambar 9. Metabolisme HDL dan *Reverse Cholesterol Transfer*. Sumber: Rader DJ dan Hobbs HH (2008).

## 15. Upaya Pencegahan dan Penanggulangan Obesitas

Sejauh ini, belum ada terapi tunggal yang mampu mengobati obesitas. Obesitas membutuhkan intervensi gaya hidup, terapi farmakologis, dan suplemen penurun berat badan (Singh *et al.*, 2011), termasuk konsumsi kalsium yang cukup dalam diet harian. Peranan kalsium untuk menurunkan berat badan dan kolesterol telah terungkap secara empiris, konsumsi kalsium yang cukup dalam diet harian dianjurkan untuk menurunkan berat badan dan menurunkan sintesis lemak dan mencegah hiperkolesterol. Berbagai hasil penelitian menyatakan bahwa kalsium memiliki efek anti obesitas atau penurun lemak tubuh pada hewan coba tikus maupun manusia seperti yang dikemukakan oleh Sergeev, I.N.; Song, Q (2014); Chaplin, A, *et.al* (2016); Booth, A.O,*et.al* (2015); Pannu, *et.al* (2016); Ismail, M.S.; Qahiz, N.M.A. (2016); Sandeep & Dipayan (2017); Subih *et al.*, (2018); Zhang, F, *et.al* (2018); El-Zeftawy, Marwa, *et.al* (2020).

Terapi diet pada pasien obesitas yang digunakan sebagai patokan yaitu : dalam jangka panjang asupan kalori harian dikurangi sebesar 500 kkal s.d. - 1.000 kkal, pada umumnya orang memilih 1.000 kkal s.d. 1.200 kkal pada wanita, dan 1.200 kkal s.d. 1.600 kkal pada pria, yang memiliki berat badan lebih dari 75 kg. Pengurangan 500 kkal s.d. 1000 kkal dapat mengurangi 0.5 kg s.d. 1 kg per minggu.

Selain terapi diet, juga dapat dilakukan terapi farmakologis pada pasien obesitas. Terapi farmakologis pada obesitas bertujuan untuk menurunkan absorpsi kalori, meningkatkan konsumsi kalori sel, dan atau keduanya. Penurunan absorpsi energi merupakan aspek krusial pada terapi obesitas (Tseng, Cypess, & Kahn, 2010).

Penatalaksanaan obesitas dapat dilakukan dengan meningkatkan pengeluaran energi melalui peningkatan aktivitas fisik (olah raga) atau dengan menurunkan pemasukan energi melalui diet rendah kalori, mengkonsumsi obat penurun nafsu makan seperti sibutramin dan obat penghambat aktivitas enzim lipase, seperti orlistat. Pencernaan lemak sangat dipengaruhi oleh aktivitas enzim lipase, inhibisi lipase akan menurunkan penyerapan lemak sehingga lemak diekskresikan melalui feses. Hal tersebut mengakibatkan penurunan simpanan lemak tubuh yang berdampak pada penurunan berat badan (Roche Laboratories 2009).

## B. Kalsium

### 1. Digesti, Absorpsi, Transportasi dan Homeostasis Kalsium

Kalsium adalah mineral yang paling berlimpah dalam tubuh terdapat pada tulang dan gigi (Blake, 2008), terdapat >99% pada kerangka (Weaver, 2012). Semua proses dalam tubuh membutuhkan kalsium, sehingga terbentuk mekanisme kontrol homeostatis untuk mempertahankan kalsium darah konstan. Diet kalsium yang tidak mencukupi, dapat dikaitkan dengan peningkatan risiko sejumlah penyakit.

Kalsium adalah mineral dengan nomor atom 20, berat atom 40,078; termasuk logam alkali tanah, dengan bentuk suhu kamar padat. Berdasarkan berat jenis dinyatakan kalsium mempunyai berat jenis 1,55 gram per cm dengan titik leleh 842°C dan titik dididik 1484°C. Kalsium jarang ditemukan dalam bentuk unsur, tetapi mudah ditemukan di seluruh bumi sebagian besar dalam bentuk batuan dan mineral seperti batu kapur (kalsium karbonat), dolomit (kalsium magnesium karbonat), dan gipsum (kalsium sulfat). Kalsium karbonat adalah salah satu komponen utama dari banyak batuan dan mineral termasuk batu kapur, marmer, kalsit, dan kapur. Kalsium juga ditemukan dalam air laut dan merupakan elemen kedelapan yang paling banyak yang ditemukan di laut.

Kalsium tubuh pada wanita dewasa adalah 920-1000 g, untuk pria dewasa adalah 1200 g Weaver (2012), kalsium terutama terdapat dalam kerangka sebagai hidroksiapatit,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , sisanya berada dalam jaringan lunak, terutama dalam cairan ekstraseluler dan cadangan subseluler. Sekitar setengah dari kalsium dalam plasma ada dalam bentuk ion bebas dan secara fungsional tersedia, sebagian besar sisanya terikat.

Konsentrasi kalsium dalam darah dan cairan ekstraseluler dipertahankan dalam regulasinya pada konsentrasi ~2,5 mM. Kadar kalsium ekstraseluler dapat dirasakan oleh permukaan  $\text{Ca}^{2+}$  *sensing-reseptor* (CaSR), anggota dari superfamili G - protein - *coupled reseptor paratiroid*, ginjal, usus, paru-paru, otak, kulit, sumsum tulang, osteoblas, payudara, dan sel-sel lain (Brown, 1999). CaSR ini memungkinkan  $\text{Ca}^{2+}$  bekerja sebagai suatu pembawa pesan pertama ekstraseluler dari hormon *calciotropic*, misalnya kelenjar paratiroid mendeteksi perubahan kecil dari konsentrasi ekstraseluler  $\text{Ca}^{2+}$ , yang mengatur pelepasan

hormon paratiroid (PTH) memasuki sirkulasi. Demikian juga CaSR memungkinkan regulasi reabsorpsi kalsium dari tubular ginjal.

Konsentrasi kalsium intraseluler adalah 100 nmol/M, >10.000 kali lipat kurang dari konsentrasi kalsium ekstraseluler. Dalam menanggapi rangsangan kimia, elektrik atau fisika, akan terjadi interaksi dengan permukaan reseptor sel, dimana konsentrasi kalsium intraseluler meningkat dari masuknya kalsium ekstraseluler atau dari cadangan kalsium intraseluler seperti retikulum endoplasma atau sarkoplasma.

Kenaikan kalsium intraseluler memicu respon seluler tertentu, biasanya melalui pengaktifan satu atau lebih kinase untuk *phosphorylate* satu atau lebih protein. Dengan demikian, kalsium bertindak sebagai utusan kedua untuk mengaktifkan berbagai respon fisiologis, termasuk kontraksi otot, pelepasan hormon, rilis neurotransmitter, visi, metabolisme glikogen, diferensiasi seluler, proliferasi, dan motilitas. Sejumlah enzim diaktifkan atau distabilkan oleh  $Ca^{2+}$ , fungsi yang tidak terkait dengan perubahan konsentrasi kalsium intraseluler. Enzim yang dimaksudkan, termasuk beberapa protease dan dehidrogenase.

## 2. Homeostasis Kalsium di Ekstraseluler

Kalsium adalah kation ekstrasel utama. Peran utama kalsium adalah untuk kontraksi dan eksitasi otot jantung dan otot lainnya, transmisi sinap sistem saraf, agregasi platelet, koagulasi, dan sekresi hormon dan regulator lain yang memerlukan eksositosis. Kadar kalsium normal dalam plasma 8,5-10,4 mg/dL, 45% terikat protein plasma terutama albumin, 10% terikat dengan dapar anion seperti sitrat dan fosfat. Empat puluh lima persen sisanya ada dalam bentuk ion dan merupakan bentuk aktif. Kadar kalsium dalam cairan ekstrasel 1% dari keseluruhan total kalsium tubuh sementara kadarnya dalam sel dijaga sekitar 1/10.000 dari kadar ekstrasel. Fungsi utama kalsium intrasel adalah *second messenger* intraselular untuk mengatur pembelahan sel, kontraktilitas otot, pergerakan sel, dan sekresi (Marcus R, 2001; Soback D, *et.al.* 2001).

Absorpsi kalsium di saluran cerna terjadi di proksimal duodenum yang tergantung pada vitamin D aktif dan bersifat difusi aktif yang memerlukan *calcium binding protein* (CaBP) atau kalbindin. Efektivitas absorpsi kalsium di usus dipengaruhi oleh asupan kalsium. Semakin rendah kadar kalsium dalam makanan

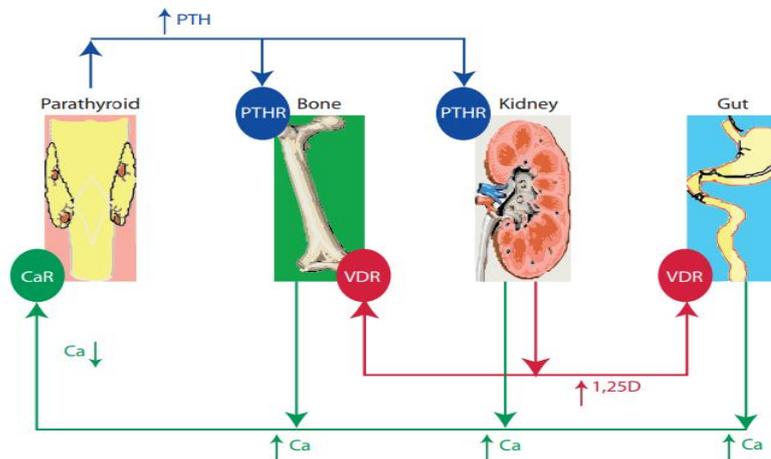
yang dikonsumsi, semakin aktif pula usus melakukan absorpsi. Sembilan puluh sembilan persen kalsium ekstrasel terdapat dalam tulang dalam bentuk hidroksiapatit yang mencerminkan keseimbangan antara proses pembentukan dan resorpsi tulang (Lacativa PGS, de Farias MLF, 2006; Crabtree NJ, et.al. 2004; Cheng S, et.al. 2005).

Kebutuhan kalsium harus dipenuhi dari asupan makanan karena kalsium pada makanan diserap pada usus halus dengan proses transport aktif. Faktor yang membantu penyerapan kalsium adalah Vitamin D3 (kalsitriol), hormon-hormon (paratiroid, hormon pertumbuhan, kalsitonin), pH yang asam, diet tinggi protein dan banyak laktosa. Sedangkan faktor-faktor yang menghambat penyerapan kalsium adalah pH yang alkalis, gangguan absorpsi lemak, dan adanya pitat, fosfat, dan oksalat. Penyerapan kalsium dari lumen usus lalu diteruskan ke saluran darah, diangkut oleh protein yang terdapat didalam usus, dari saluran darah kalsium disebarkan ke seluruh jaringan tubuh seperti tulang.

Keseimbangan metabolisme kalsium diatur oleh tiga faktor, hormon paratiroid, vitamin D, dan kalsitonin yang dihasilkan oleh kelenjar tiroid. Membran sel kelenjar paratiroid mengandung sensor kalsium yang dapat mendeteksi kadar kalsium darah. Hormon paratiroid meningkatkan reabsorpsi kalsium dengan mempermudah pori kalsium di tubulus distal ginjal terbuka. Hormon paratiroid meningkatkan degradasi tulang dengan bekerja pada osteoblast melalui *RANKL* di tulang. Hormon paratiroid juga menstimulasi hidroksilasi 25-OH-vitamin D3 menjadi bentuk aktifnya (kalsitriol). Efek kalsitonin terhadap kalsium bertentangan dengan efek hormon paratiroid. Kalsitonin menginhibisi aktivitas osteoklast, mengurangi resorpsi tulang, dan meningkatkan ekskresi kalsium melalui ginjal, jadi fungsi kalsitonin menurunkan kadar kalsium darah.

Peacock (2010) menyatakan homeostasis kalsium serum diatur oleh jalur hormon umpan balik negatif cepat yang melibatkan konsentrasi kalsium terionisasi dalam serum ( $\text{Ca}^{2+}$ , panah hijau) dan sekresi hormon paratiroid (PTH, panah biru) dari paratiroid. Penurunan kalsium serum ( $\text{Ca}^{2+}$ ) menonaktifkan reseptor kalsium dalam sel paratiroid ( $\text{CaR}$ ; lingkaran hijau) dan meningkatkan sekresi PTH (1 PTH), yang mengembalikan kalsium serum ( $1\text{Ca}$ ) dengan mengaktifkan reseptor paratiroid (PTHrP; lingkaran biru) di tulang, untuk meningkatkan penyerapan kalsium, dan di ginjal, untuk meningkatkan reabsorpsi kalsium tubular. Di ginjal,

peningkatan sekresi PTH menambah efek restoratif kalsiumnya dengan meningkatkan sekresi 1,25-dihidroksivitamin D (1,25D; panah merah), yang berperan pada reseptor vitamin D (VDR, lingkaran merah) dalam usus, meningkatkan penyerapan kalsium aktif dan meningkatkan penyerapan kalsium dalam tulang.



Gambar 10. Pengaturan Homeostasis Kalsium Serum (Peacock, 2010).

### 3. Angka Kecukupan Kalsium

Konsumsi kalsium dapat dipenuhi dengan mengonsumsi kalsium seperti susu, dan produk susu 2-3 porsi ditambah sayuran 3-5 porsi setiap hari (Mulyani, 2009). Kebutuhan kalsium dalam tubuh manusia berbeda menurut usia dan jenis kelamin. *Recommended Daily Allowance* (RDA) merekomendasikan konsumsi kalsium sebesar 800 mg untuk umur 1-10 tahun dan 25 tahun ke atas. Umur 11-24 tahun dan untuk wanita hamil atau menyusui direkomendasikan konsumsi kalsium sebanyak 1.200 mg (Percival, 1999).

### 4. Efek Defisiensi Kalsium

Weaver. Connie M (2020) menyatakan asupan kalsium yang rendah telah dikaitkan dengan banyak gangguan. Ketika cadangan fungsional kerangka semakin habis secara kronis untuk mempertahankan kadar serum kalsium normal, kemudian terjadi massa tulang yang rendah dan dapat menyebabkan osteoporosis. Jumlah kalsium yang sedikit (kalsium tidak terserap) dapat meningkatkan kerentanan terhadap kanker usus besar dan batu ginjal. Kegagalan untuk mempertahankan konsentrasi kalsium ekstraseluler dapat meningkatkan

risiko hipertensi, pre-eklampsia, sindrom pramenstruasi, obesitas, sindrom ovarium polikistik, dan hiperparatiroidisme.

Beberapa akibat yang timbul apabila seseorang kekurangan kalsium antara lain:

1. Kekurangan kalsium pada masa pertumbuhan dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, tulang kurang kuat, mudah bengkok dan rapuh.
2. Kadar kalsium darah yang sangat rendah dapat menyebabkan tetani atau kejang. Kepekaan serabut saraf dan pusat saraf terhadap rangsangan meningkat, sehingga terjadi kejang otot misalnya pada kaki. Tetani dapat terjadi pada ibu hamil yang makanannya terlalu sedikit mengandung Kalsium atau terlalu tinggi mengandung fosfor. Tetani kadang terjadi pada bayi baru lahir yang diberi minuman susu sapi yang tidak diencerkan yang mempunyai rasio kalsium:fosfor rendah.
3. Kekurangan kalsium menyebabkan sistem imunitas akan menurun akibatnya muncul penyakit lupus, jerawat dan penyakit kulit lainnya. Ketika tubuh diserang bakteri, virus, dan racun, ion kalsium berperan sebagai sirene tanda bahaya di dalam tubuh.
4. Kekurangan kalsium menyebabkan signal saraf mengalami hambatan. Akibatnya mekanisme rangsangan dalam tubuh akan terganggu. Kondisi tersebut pada anak akan menimbulkan gejala mudah kaget, resah, sulit tidur, menangis di malam hari, dan hiper aktif. Gejala pada orang tua yakni mudah tegang, emosi dan merosotnya daya koordinasi saraf.
5. Kurangnya kadar kalsium akan mengurangi daya kontraksi otot jantung. Hal tersebut dapat menimbulkan berbagai macam penyakit jantung.
6. Kehilangan kalsium dari tulang sesudah usia 50 tahun akan menyebabkan osteoporosis.
7. Kekurangan kalsium dapat pula menyebabkan osteomalasia, yang dinamakan juga riketsia pada orang dewasa dan biasanya terjadi karena kekurangan vitamin D dan ketidak seimbangan konsumsi kalsium terhadap fosfor.
8. Kekurangan kalsium pada ibu hamil menyebabkan nyeri pada tulang saat kehamilan, pengeroposan tulang (osteoporosis), dan hipertensi kehamilan.

## 5. Efek Kelebihan Kalsium

Konsumsi kalsium hendaknya tidak melebihi 2500 mg/hari. Kelebihan kalsium dapat menimbulkan batu ginjal atau gangguan ginjal, dapat menyebabkan konstipasi atau susah buang air besar. Kelebihan kalsium bisa terjadi jika menggunakan suplemen kalsium (Agustiani, 2010).

Tanda asupan kalsium yang berlebihan adalah hiperkalsemia, dimana kadar kalsium serum melebihi 10,5 mg/dL atau 2.63 mmol/L, dan hiperkalsiuria mana kalsium urin melebihi 250 mg/hari pada wanita atau 275-300 mg/hari pada pria, hal ini jarang terjadi pada orang sehat melainkan telah meningkat oleh kondisi seperti tumor ganas atau hiperparatiroidisme *urinary*, terutama pada wanita pascamenopause dan hamil dengan mencerna suplemen dalam jumlah besar (>3 g/hari) bersama-sama dengan alkali (Patel and Golfarb, 2010).

Sindrom kalsium-alkali dapat disertai dengan insufisiensi ginjal dan berhubungan dengan hipofosfatemia (Patel and Golfarb, 2010). Gejala hiperkalsemia meliputi tonus otot lemah, sembelit, volume urin yang besar, anoreksia, dan, akhirnya bingung, koma, dan kematian. Kekhawatiran atas suplemen kalsium berkepanjangan telah dikemukakan untuk risiko batu ginjal, kanker prostat, serangan jantung, dan kalsifikasi vascular (Jackson *et.al.*, 2006).

## 6. Mekanisme Kalsium Dalam Menurunkan Berat Badan

Lin, *et.al.* 2000 menyatakan tingginya konsumsi kalsium dapat berhubungan dengan kehilangan berat badan, khususnya massa lemak tubuh. Shi, Hang. *et.al.* 2001 menyatakan pemberian diet rendah kalsium (0,4%), tinggi lemak, tinggi-glukosa pada tikus aP2-a selama 6 minggu meningkatkan 100% adiposit  $Ca^{2+}$  ( $p < 0,001$ ), kenaikan berat badan sebesar 29% ( $p < 0,001$ ) dan peningkatan dua kali lipat total massa lemak ( $p < 0,001$ ). Pemberian diet tinggi kalsium menyebabkan penurunan berat badan, massa lemak, dan adiposit pada tikus transgenik aP2-agouti yang pemberian energinya dibatasi.

Pemberian diet tinggi kalsium menekan lipogenesis dan menstimulasi lipolisis pada tikus transgenik aP2-agouti dengan pembatasan energi. Diet tinggi

kalsium menyebabkan penurunan 35% aktivitas asam lemak sintase (FAS) ( $p < 0,05$  vs kelompok terbatas energi basal), yang selanjutnya dikurangi sebesar 63% dan 62% dengan diet sedang dan tinggi ( $p < 0,05$ ), masing-masing.

Bronner, Felix (2003) menyatakan kalsium diserap di usus kecil mamalia oleh dua mekanisme umum: proses transpor aktif, sebagian besar terletak di duodenum dan jejunum atas; dan proses paraseluler, pasif yang berfungsi sepanjang usus. Proses transelular melibatkan tiga langkah utama: masuk melintasi batas sikat, dimediasi oleh struktur molekul yang disebut CaT1, difusi intraseluler, dimediasi sebagian besar oleh protein pengikat kalsium sitosol (calbindinD9k atau CaBP); dan ekstrusi sebagian besar dimediasi oleh CaATPase. Chyme melakukan perjalanan ke lumen usus dalam 3 jam, hanya beberapa menit di duodenum, tetapi lebih dari 2 jam di bagian distal usus kecil. Ketika asupan kalsium rendah, transportasi transelular kalsium menyumbang sebagian besar kalsium yang diserap. Ketika asupan kalsium tinggi, transportasi transelular hanya menyumbang sebagian kecil dari kalsium yang diserap, karena waktu tinggal yang singkat dan karena CaT1 dan CaBP, keduanya membatasi laju, diregulasi ke bawah ketika asupan kalsium tinggi.

Melanson, EL, *et.al.* 2003, menyatakan asupan kalsium yang lama dan cukup tinggi berhubungan dengan tingkat oksidasi lemak tubuh yang cukup tinggi. Asupan kalsium dari sumber susu bukan merupakan prediktor yang lebih penting dari oksidasi lemak dari total asupan kalsium.

Hasil penelitian Papakonstantinou, *et.al.* (2003) menggunakan hewan coba tikus menunjukkan pemberian diet tinggi kalsium (2,4%) terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar serum 1,25 dihydroxy vitamin D3 dengan diet rendah kalsium (0,4%). Diet tinggi kalsium mengurangi trigliserida serum sebesar 23% dan serum 1,25-dihidroksi vitamin D3 sebesar 86%. Menurunkan kadar 1,25 dihidroksivitamin D3 dengan meningkatkan asupan kalsium dapat menghambat lipogenesis pada adiposit dan mempercepat penurunan berat badan (Price K. 2003).

Shapses, Sue A, *et.al.* 2004, menyatakan tidak ada perbedaan yang signifikan pada berat badan atau perubahan massa lemak antara plasebo dan kelompok yang disuplementasi kalsium, dan tidak ada interaksi suplementasi kalsium yang signifikan dengan menopause / status diet. Reid, Ian R, *et.al.* 2005, menyatakan suplementasi kalsium 1 g / hari tidak menghasilkan efek biologis yang

signifikan pada berat badan, dan hipotensi efeknya kecil dan sementara pada sebagian besar wanita.

Jacobsen *et al.* 2005, juga menemukan peningkatan sekitar 2,5 kali lipat dalam ekskresi lemak pada tinja, dari 5,9 menjadi 14,2 g / hari, sebagai respons terhadap peningkatan asupan kalsium jangka pendek dari 500 menjadi 1800 mg / hari pada manusia.

Hasil penelitian Schrage (2005) pada tikus menunjukkan dengan pemberian diet tinggi kalsium (1,2%) berhubungan dengan menurunkan aktifitas asam lemak sintase (enzim kunci lipogenesis) sebesar 51% dan peningkatan lipolisis sebesar 3 sampai 5 kali yang menghasilkan 26 – 39% penurunan berat badan dan massa jaringan adiposa.

Schrager, S (2005), menyatakan orang dengan asupan kalsium tinggi memiliki prevalensi lebih rendah kelebihan berat badan, obesitas, dan sindrom resistensi insulin. Studi pada tikus transgenik menunjukkan bahwa kalsium mempengaruhi metabolisme adiposit. Asupan kalsium yang tinggi menekan kadar hormon paratiroid dan 1,25-hidroksi vitamin D. Penurunan kadar hormon ini menyebabkan penurunan kalsium intraseluler, sehingga menghambat lipogenesis dan merangsang lipolisis. Asupan kalsium makanan yang tinggi juga meningkatkan ekskresi lemak tinja dan dapat meningkatkan suhu inti tubuh.

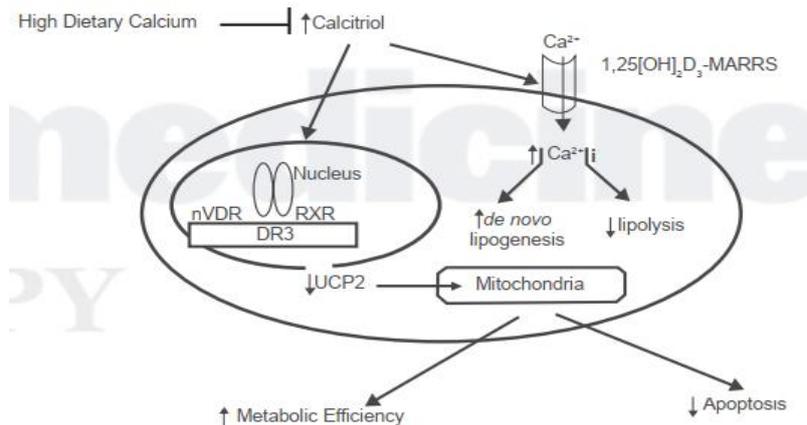
Disamping kalsium berperan dalam kesehatan tulang dan gigi, kontraksi otot, transmisi impuls syaraf, koagulasi darah, aktivasi reaksi enzim, stimulasi sekresi hormon, kalsium juga berperan dalam pemeliharaan kesehatan berat badan. Asupan kalsium yang adekuat dapat mencegah timbunan lemak yang berlebihan oleh stimulasi hormonal yang memecah simpanan lemak (Whitney E, dan Rolfes SH, 2005).

Mekanisme kerja dari kalsium adalah dalam pengaturan metabolisme energi. Kalsium intraseluler berperan sebagai kunci pengaturan pada metabolisme lemak adiposity dan simpanan trigliserida. Asupan kalsium tinggi menyebabkan ion kalsium plasma meningkat. Peningkatan ini akan menekan atau menurunkan konsentrasi hormon kalsitriol (1,25 dihidroksi vitamin D3) sehingga akan menghambat masuknya kalsium melalui membran vitamin D reseptor (mVDR), hal tersebut akan menyebabkan penurunan kalsium di intraseluler (terjadi penurunan pengaturan transfer kalsium ke jaringan adiposa dan pankreas).

Pada jaringan adiposa, penurunan konsentrasi kalsium intraseluler menghambat kerja enzim lemak sintase (FAS, fatty acid sintase, enzim kunci lipogenesis) mengakibatkan penurunan proses lipogenesis dan mendorong lipolysis (pemecahan trigliserida yang ada di jaringan adiposa menjadi asam lemak dan gliserol). Asam lemak yang terlepas masuk ke dalam darah sebagai asam lemak bebas dan dioksidasi sebagai bahan bakar utama menjadi CO<sub>2</sub> sehingga simpanan triasilgliserol di jaringan adiposa menurun. Hal ini akan mengurangi lemak adiposit yang menyebabkan terjadinya penurunan berat badan. Pada sel pankreas, penurunan konsentrasi kalsium dalam intraseluler akan menurunkan produksi insulin yang akan berpengaruh terhadap penurunan lipogenesis dan peningkatan lipolisis dalam adiposit. Kombinasi kedua ini berperan dalam penurunan simpanan lemak dalam jaringan adiposa (Zemel MB, et.al. 2005).

Zemel, MB and Xiaocun Sun. 2008, menyatakan calcitriol, hormon calcitrophic yang dapat ditekan oleh diet tinggi kalsium, lebih menyukai sintesis asam lemak dan menghambat lipolisis melalui modulasi Ca<sup>2+</sup> masuknya non-genomik. Calcitriol juga menekan ekspresi UCP2 melalui nVDR sehingga meningkatkan efisiensi energi. Calcitriol memberikan dampak yang bergantung pada dosis pada apoptosis adiposit dan mengatur lokasi dan perluasan depot lemak jaringan adiposa dengan mempromosikan produksi dan pelepasan glukokortikoid. Data terbaru juga menunjukkan peran penting kalsitriol dalam modulasi sitokin, dengan peran potensial dalam energi metabolisme dalam adiposit, makrofag, dan otot rangka.

Kalsitriol berperan penting dalam memediasi efek diet kalsium pada metabolisme lipid, meskipun ada bukti yang cukup untuk dikecualikan peran untuk PTH. Peran potensial untuk kalsitriol dalam mengatur metabolisme energi dan berkontribusi terhadap risiko obesitas. Efek langsung dari kalsitriol pada metabolisme adiposit, menunjukkan peningkatan kalsitriol pada orang dengan diet rendah kalsium, faktor yang berkontribusi terhadap kelebihan adipositas. Selain mengatur metabolisme adiposit melalui reseptor membran nongenomik (protein MARR), kalsitriol juga bertindak melalui nVDR klasik dalam adiposit untuk menghambat ekspresi *uncoupling protein 2* (UCP2), dan diet rendah kalsium yang diinduksi kalsitriol pada tikus menghasilkan peningkatan ekspresi dan atenuasi jaringan adiposa akibat penurunan thermogenesis (Zemel, MB. 2009).



Gambar 11. Peran Kalsitriol dan Diet Kalsium pada Modulasi Adiposa dan Metabolisme Lipid (Zemel, MB. 2009).

M Karandish, *et. al.* 2009, menyatakan tidak ada efek menguntungkan yang cukup karena suplementasi kalsium jangka pendek pada profil lipid wanita yang kelebihan berat badan atau obesitas yang diamati. Bouglé, Dominique, *et.al.* 2009, menyatakan hubungan antara metabolisme vitamin D dengan kalsium terutama kalsium susu sapi, tampaknya mampu mencegah perkembangan adiposit dan komplikasi obesitas (peradangan, hipertensi, dan resistensi insulin), terutama melalui interaksi dengan metabolisme vitamin D.

Onakpoya, Igho J, *et.al.* 2011 menyatakan bukti dari uji klinis acak menunjukkan suplementasi kalsium menghasilkan sedikit penurunan berat badan yang signifikan secara statistik pada individu kelebihan berat badan dan obesitas, tetapi relevansi klinis dari temuan ini tidak pasti.

Marotte, Clarisa, *et.al.* 2014 menyatakan efek negatif dari diet rendah kalsium pada akumulasi massa lemak dan profil lipid mungkin lebih jelas pada tikus yang cenderung obesitas. Namun demikian, asupan kalsium yang rendah mengganggu homeostasis glukosa normal yang mengarah pada peningkatan resistensi insulin. Asupan kalsium rendah selama pertumbuhan awal mungkin merupakan faktor obesogenik yang dapat bertahan hingga dewasa dan dapat menyebabkan perkembangan obesitas dan beberapa komorbiditasnya.

Soares, MJ, *et.al.* 2011 menyatakan bukti saat ini dari RCT tidak secara konsisten mendukung anggapan bahwa kalsium dan vitamin D mempercepat penurunan berat badan atau lemak pada obesitas, terdapat penelitian yang

mendukung hipotesis tetapi tidak memiliki kekuatan statistik. Ada kebutuhan untuk RCT untuk memeriksa pengaruh vitamin D pada lemak tubuh.

Soares, M. J, et.al. 2012 menyatakan kalsium dengan atau tanpa vitamin D memodulasi metabolisme energi manusia. Bukti meyakinkan bahwa kalsium meningkatkan oksidasi lemak setelah makan sekali dan beberapa kali dalam sehari. Ada juga beberapa bukti bahwa FOR (Tingkat Oksidasi Lemak) mungkin lebih besar setelah diet tinggi kalsium. Perubahan menguntungkan ini tidak selalu disertai dengan DIT (*Diet Induced Thermogenesis*) yang lebih besar. Ada bukti konsisten kalsium secara sederhana meningkatkan jumlah lemak yang dikeluarkan, dan dengan demikian berkontribusi terhadap hilangnya energi.

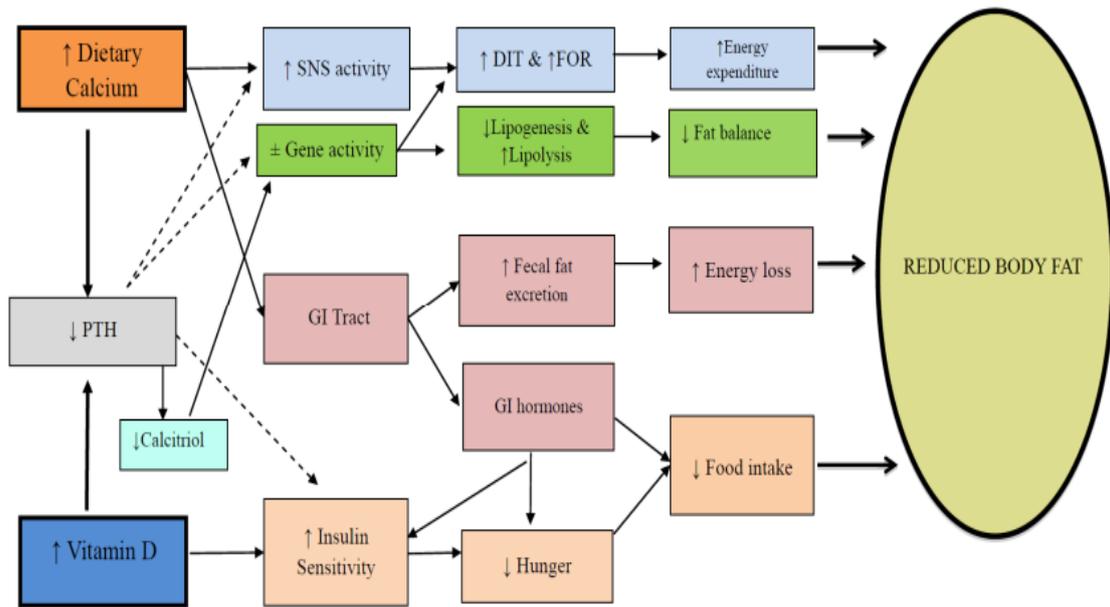
Soares, M. et. al, ( 2012) menyatakan keseimbangan energi melalui asupan kalsium dapat melalui dua cara, yaitu :

1. Peningkatan oksidasi lemak tubuh.

Keseimbangan karbohidrat dan protein mudah dicapai dalam jangka pendek karena fluktuasi asupan diimbangi oleh perubahan timbal balik dalam oksidasi substrat. Sebaliknya peningkatan oksidasi lemak akan memperlambat peningkatan asupan lemak, yang menyebabkan penyimpanan lemak. Oleh karena itu, nutrisi apa pun yang secara akut atau kronis meningkatkan oksidasi lemak seluruh tubuh akan terjadi dalam keseimbangan lemak yang kurang positif. Hasil meta analisis menunjukkan bahwa peningkatan kalsium ~ 800 mg / hari akan mendukung peningkatan 11% oksidasi lemak (Gonzalez, J. et.al. 2012).

2. Peningkatan ekskresi lemak melalui feses.

Di dalam saluran pencernaan tidak terserap hubungan kalsium dengan lemak makanan untuk membentuk sabun asam lemak-kalsium yang tidak larut yang diekskresikan. Ini menyajikan jalur hilangnya energi melalui feses dan kecenderungan keseimbangan energi negatif. Data menunjukkan untuk setiap asupan ~ 1200 mg / hari kalsium, dapat diprediksi seseorang mensekresi lemak ~ 5 g / hari atau 45 kkal / hari (Christensen, R, et.al. 2009).



Gambar 12. Modulasi keseimbangan energi oleh kalsium dan vitamin D (Soares, Mario J. et al. 2014)

↑ = meningkat, ↓ = menurun, PTH = hormon paratiroid, Kalsitriol = 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, SNS = sistem saraf simpatis, ± Aktivitas gen = penurunan ekspresi gen yang mengendalikan lipogenesis (biasanya sterol regulator elemen-binding protein-1, *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma* (PPARY), FAS atau peningkatan ekspresi gen untuk lipolisis (lipoprotein lipase atau hormon sensitif lipase) dan peningkatan termogenesis (aktivitas UCP, GI = gastro intestinal, DIT = diet-induced thermogenesis (termogenesis yang diinduksi diet), FOR = fat oxidation rate (laju oksidasi lemak).

Sergeev, Igor N. (2015) menyatakan sinyal vitamin D hormon 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) yang diinduksi sinyal Ca<sup>2+</sup> seluler mengatur apoptosis dalam adiposit dan sekresi insulin dari sel-sel β pankreas, dan status vitamin D yang rendah dianggap sebagai faktor risiko untuk obesitas dan diabetes tipe 2. Efek anti-obesitas dari 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dalam adiposit matang ditentukan oleh aktivitasnya untuk menghasilkan, melalui beberapa jalur pensinyalan Ca<sup>2+</sup>, peningkatan berkelanjutan dalam Ca<sup>2+</sup> intraseluler diikuti dengan aktivasi inisiator dan efek independen dari Ca<sup>2+</sup> yang bergantung pada apoptosis.

Pannu, Poonam, et.al. 2016 menyatakan ada jalur mekanistik yang mendukung efek diet kalsium pada pengaturan berat badan dan ini termasuk oksidasi lemak seluruh tubuh dan ekskresi lemak pada tinja. Meskipun ada efek menguntungkan, keseimbangan bukti saat ini tidak secara meyakinkan

mendukung kalsium atau kombinasinya dengan vitamin D untuk mempercepat kehilangan lemak.

Pu, Fan, Ning Chen , Shenghui Xue (2016) menyatakan kalsium dalam makanan dan suplemen bersama dengan vitamin D memainkan peran penting dalam homeostasis kalsium. Asupan kalsium rendah atau kadar vitamin D yang rendah juga dapat menyebabkan penyakit tulang. Asupan kalsium yang tinggi dapat mengurangi risiko kanker payudara dan berkontribusi pada penurunan tingkat keropos tulang dan insiden patah tulang pada orang tua. Di sisi lain, meskipun asupan kalsium yang tinggi dapat mengurangi risiko banyak penyakit, tetapi juga dapat meningkatkan risiko kejadian gastrointestinal akut, batu ginjal, dan penyakit kardiovaskular seperti infark miokard dan stroke. Karena itu, konsumsi dan suplementasi kalsium harus mematuhi status kesehatan individu.

Li, Ping, *et.al.* (2016) menyatakan meningkatkan asupan kalsium melalui suplemen kalsium dapat mengurangi berat badan pada subjek yang memiliki IMT normal atau pada anak-anak, remaja, pria dewasa atau wanita premenopause.

Baek, Jong Ha, *et.al.* 2017 menyatakan tidak ada korelasi positif antara kadar kalsium serum awal dan risiko insiden metabolik sindrom (MetS) dalam penelitian longitudinal ini. Ada hubungan antara kadar kalsium serum yang lebih tinggi dan penurunan insiden MetS pada individu dengan obesitas sentral atau dua komponen MetS pada awal.

Selain penyakit ginjal kronis (CKD), kekurangan vitamin D dan usia tua adalah penyebab hiperparatiroidisme sekunder. Dalam sebuah studi tentang pengembangan dan pengobatan defisiensi vitamin D yang dilakukan pada anjing, pemulihan dari defisiensi vitamin D sangat menarik karena nilai-nilai PTH basal cepat kembali normal dengan pengobatan defisiensi vitamin D, sedangkan nilai-nilai PTH maksimal tetap meningkat bahkan 19 bulan setelah pemulihan vitamin D.

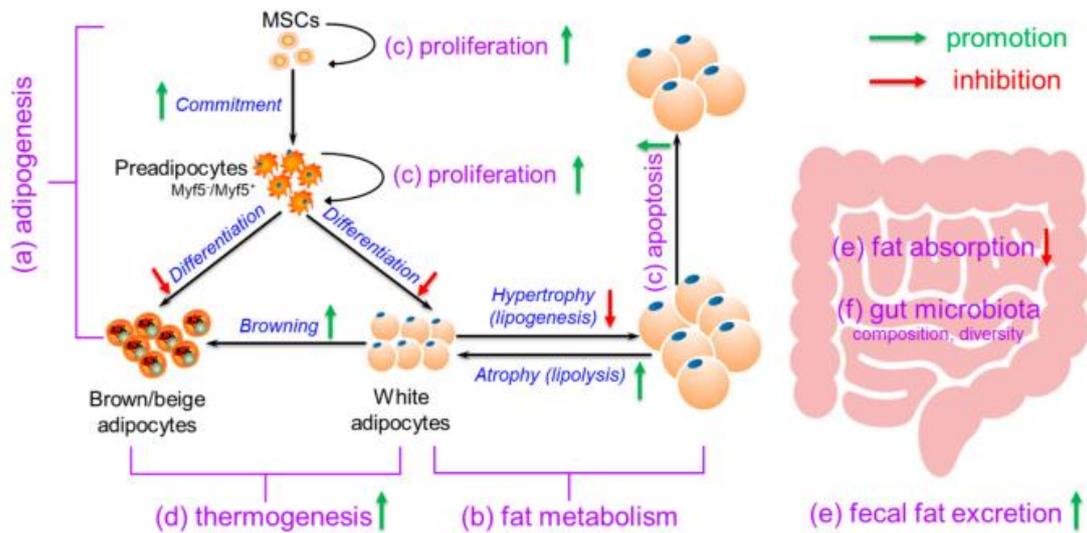
Lotito, Ashley,*et.al.* 2017 menyatakan suplemen vitamin D dan kalsium masing-masing 700 IU dan 500 mg, menunjukkan efek pengobatan yang signifikan terhadap penekanan PTH dengan total SMD = -5,30 (CI 95% = -9,72 hingga -0,88). Hasil meta analisis dari uji klinis menunjukkan bahwa suplementasi vitamin D 1000 IU dapat menekan kadar serum PTH, sedangkan vitamin D 4000 IU dikaitkan dengan peningkatan kadar 25OHD serum terbesar pada populasi yang kelebihan berat badan dan obesitas.

Ca dan 1,25 (OH) D bekerja dengan cara mengendalikan metabolisme lipid dalam sel adiposa dengan merangsang oksidasi asam lemak dan menekan proses lipogenik (Mahdieh *et al.*, 2018). Selain itu, Ca memiliki peran dalam mengurangi penyerapan asam lemak melalui pembentukan Ca yang tidak larut dan sabun asam lemak dalam usus yang dapat meningkatkan ekskresi lemak feses, yang mengarah pada penurunan pencernaan lemak (Zhu *et al.*, 2013) .

(Alomaim *et al.*, 2019) menyatakan bahwa tikus yang diberi diet Ca terendah (0.75Ca) memiliki berat badan dan massa lemak yang lebih rendah ( $p < 0.05$ ) dibandingkan dengan kelompok lain. Tikus yang diberi diet Ca tinggi memiliki total serum dan kolesterol LDL yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang diberi Ca normal atau rendah. Kolesterol total hati lebih rendah pada tikus yang diberi makan tinggi dibandingkan dengan Ca yang rendah. Hasil penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa sedikit pengaruh Ca makanan pada komposisi tubuh kecuali asupan Ca sangat rendah. Penurunan reabsorpsi asam empedu dan penurunan absorpsi sterol netral dan asam lemak jenuh dan trans dapat berkontribusi pada profil lipid serum yang lebih baik pada tikus yang diberi Ca.

(Ilich *et al.*, 2019) menyatakan meningkatkan makanan olahan susu rendah lemak menjadi 4–5 porsi / hari dan / atau meningkatkan asupan Ca & vitamin D melalui suplemen (pada mereka yang memiliki asupan makanan di garis batas) dapat bermanfaat untuk menurunkan / mempertahankan berat badan dan dapat menyebabkan lebih banyak hasil komposisi tulang dan tubuh yang menguntungkan pada wanita pascamenopause selama penurunan berat badan sedang.

Hasil penelitian (Fenglin Zhanga *et al.*, 2018) menunjukkan suplementasi kalsium meningkatkan adipogenesis dan pengambilan glukosa pada pBMSCs, yang bertepatan dengan peningkatan jumlah adiposit dan peningkatan homeostasis glukosa pada tikus yang diberi makan HFD, dan dikaitkan dengan aktivasi jalur CaMKII dan PI3K / Akt-FoxO1 / AS160.



Gambar 13. Mekanisme yang mungkin untuk efek anti obesitas dari kalsium makanan: (a) regulasi adipogenesis dengan stimulasi pada sel punca mesenkim (MSC) atau tahap komitmen dan penghambatan pada preadiposit (tahap diferensiasi); (b) modulasi metabolisme lemak dengan penurunan sintesis lemak (lipogenesis) dan peningkatan pemecahan lemak (lipolisis); (c) promosi proliferasi dan apoptosis adiposit (prekursor); (d) peningkatan thermogenesis dengan peningkatan aktivasi jaringan adiposa coklat (BAT) dan jaringan adiposa putih (WAT); (e) penekanan penyerapan lemak dan promosi ekskresi lemak tinja; dan f) modifikasi komposisi dan keanekaragaman mikrobiota usus. (Zhang *et al.*, 2019)

(Zhang *et al.*, 2019) menyatakan bahwa meskipun peran anti-obesitas yang tepat dari kalsium dalam subjek yang berbeda dan bagaimana kalsium menginduksi mekanisme anti-obesitas yang diusulkan perlu diteliti lebih lanjut, namun bukti saat ini menunjukkan efek anti-obesitas dari kalsium dan potensi aplikasi kalsium makanan untuk pencegahan kegemukan.

Hasil penelitian (Subih *et al.*, 2018) menunjukkan bahwa diet yang ditambah dengan kombinasi vitamin D dan kalsium tampaknya mengurangi berat badan pada tikus yang diinduksi berat badan, sementara suplemen vitamin D saja menurunkan konsentrasi kolesterol serum.

Hasil penelitian (Karim, 2018) menunjukkan bahwa kombinasi tinggi magnesium dan garam kalsium sedang hingga tinggi dalam makanan menunjukkan respons potensial terhadap aterosklerosis. Grup XV (HFD + Ca 1000mg + Mg 600 mg) dan XVII (HFD + Ca 1500mg + Mg 600mg) menunjukkan penurunan yang signifikan dalam serum lipid dan SBP jika dibandingkan dengan kelompok diet kaya Mg (200.400 & 600mg / kg / hari) ( $p < 0,01$ ). Laporan histopatologi aorta, ginjal dan hati memberikan bukti hipolipidemia dan

penurunan risiko aterosklerosis pada hewan yang diobati.

Hasil penelitian (Dipayan, 2017) mengungkapkan bahwa kalsium makanan mengatur adipositas tikus wistar jantan ketika diberi makan dengan diet kalsium rendah dan tinggi untuk jangka waktu yang lama dengan mengubah jalur lipogenesis dan lipolisis dalam adiposit bersamaan dengan perubahan kadar serum PTH. Kelompok diet rendah kalsium menunjukkan penambahan berat badan secara signifikan lebih tinggi, akumulasi jaringan adiposa dan peningkatan indeks adipositas. Diet tinggi kalsium memberikan perlindungan terhadap dislipidemia dengan mengurangi kolesterol serum dan trigliserida.

Hasil penelitian (Gülmez *et al.*, 2016) menunjukkan bahwa diet tinggi kalsium mengurangi berat badan tubuh, obesitas abdominal, dan kolester serum terutama pada wanita. Hasil penelitian (Conceição *et al.*, 2016) menunjukkan massa tubuh lebih tinggi dan reseptor glukokortikoid dalam PPN tikus SL dinormalisasi dengan diet kaya kalsium, dan ekspresi reseptor vitamin D (VDR) dalam jaringan berkurang, menunjukkan kemungkinan peran glukokortikoid, vitamin D dan kalsium di dalam adiposit.

Hasil penelitian (Das and Choudhuri, 2020c) mengenai pengaruh asupan kalsium terhadap obesitas terkait dengan kerusakan ginjal pada tikus obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak, menunjukkan bahwa kelompok kalsium tinggi 1,0% efektif dalam menurunkan aktivitas lipogenesis ginjal, akumulasi lipid, aktivitas sintase asam lemak (FAS), ekspresi asetil koenzim A karboksilase (ACC), stres oksidatif, inflamasi dan meningkatkan adenosin monofosfat kinase (AMPK).

Hasil penelitian (Das and Choudhuri, 2020b) mengenai pengaruh berbagai jenis diet kalsium pada sensitivitas insulin sehubungan dengan perubahan sekresi adipokine pada tikus obesitas yang diinduksi diet tinggi lemak (HFD) menemukan bahwa kalsium yang diperkaya HFD (1,0% Ca) secara signifikan mengurangi ( $p < 0,01$ ) berat badan, indeks adipositas, kadar glukosa, kadar insulin, HOMA-IR, adipokin (TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, Leptin), akumulasi lipid hati, infiltrasi makrofag hati, hipertrofi adiposit dan secara signifikan meningkatkan ( $p < 0,01$ ) tingkat adiponektin, pada tikus gemuk yang diinduksi HFD.

Hasil penelitian (Das and Choudhuri, 2020a) mengenai peran suplementasi kalsium pada fungsi hati dan penanda fisiologis lainnya pada tikus NAFLD yang diinduksi HFD, menunjukkan bahwa suplementasi kalsium secara

signifikan meningkatkan parameter antropometri dan menurunkan kadar kolesterol serum, trigliserida, FFA dan enzim hepatic.

(Kuytak, 2020) menyatakan efek anti-obesitas dari kalsium telah dibuktikan dalam studi hewan, studi populasi observasional, dan uji klinis acak. Namun, beberapa penelitian tidak dapat menjelaskan pengaruh kalsium dalam pengobatan obesitas. Efek perlindungan kalsium terhadap obesitas dan penyakit penyerta tampak menjanjikan, tetapi masih diperlukan penelitian dengan cakupan yang lebih luas.

## **C. Vitamin D**

### **1. Sumber Vitamin D**

Manusia mendapatkan vitamin D melalui asupan makanan dan paparan sinar matahari. Vitamin D terdapat dalam dua bentuk yaitu Vitamin D2 (ergocalciferol) dan D3 (cholecalciferol). Vitamin D diproduksi di kulit dan dapat diperoleh pula dari makanan atau suplemen makanan yang mengandung vitamin D2 atau D3. Vitamin D3 adalah satu-satunya bentuk yang dihasilkan di kulit. Vitamin D2 terbentuk pada tanaman melalui paparan sinar UVB pada steroid tumbuhan, yaitu ergosterol.

Bahan makanan sumber vitamin D seperti minyak ikan cod, salmon, mackerel, dan ikan sarden, mengonsumsi ikan tersebut sekitar 3–4 kali / minggu akan membantu memenuhi persyaratan untuk asupan vitamin D yang memadai. Selain itu kuning telur, jamur, hati sapi, udang, keju, mentega dan juga beberapa makanan minuman yang diperkaya dengan vitamin D seperti susu (100 IU / 8 oz), jus jeruk (100 IU / 8 oz), beberapa sereal, margarin dan roti (Chaudhuri K. et.al. 2015; Al-Shoumer KA. 2015).

Vitamin D diproduksi oleh 7-dehydrocholesterol, dan bergantung pada intensitas radiasi UV B, tabir surya dan pakaian dapat menghambat konversi dari 7-dehydrocholesterol menjadi vitamin D3 (Matsuoka LY. et.al. 1992).

### **2. Metabolisme Vitamin D**

Vitamin D3 disintesis di kulit dari 7-dehydrocholesterol melalui paparan radiasi ultraviolet B menjadi pre-vitamin D (pre cholecalciferol) kemudian dikonversi menjadi vitamin D3 (cholecalciferol) melalui isomerisasi termal.

Meskipun sumber utama vitamin D3 adalah melalui sintesis endogen di kulit, vitamin ini juga bisa diperoleh dari makanan dan ini penting bagi mereka yang jarang terpapar sinar matahari.

Vitamin D3 yang berasal dari sinar matahari maupun dari diet, memasuki sirkulasi berikatan dengan protein pengikat vitamin D dan diangkut ke hati. Vitamin D3 mengalami hidroksilasi di hati untuk membentuk 25- hidroksikolekalsiferol (25 (OH) D3), sebagai metabolit utama yang berada di sirkulasi, 25 (OH) D3 kemudian dihidroksilasi oleh enzim  $1\alpha$  hidroksilase (gen: CYP27B1), dan ini terjadi terutama di ginjal untuk menghasilkan 1,25-dihidroksikolekalsiferol (1,25(OH)2D3) atau calcitriol, bentuk biologis aktif vitamin D.

Dalam studi *in vivo* menunjukkan bahwa katabolisme vitamin D dan metabolitnya umumnya terjadi di hati melalui berbagai enzim sitokrom P450 yang menghasilkan sejumlah katabolit 24- hidroksilase (gen: CYP24), sitokrom enzim P450 yang mengandung mitokondria, mengkatalisis beberapa tahap degradasi 1,25 (OH) 2D3 melalui 24-hidroksilasi dan pembentukan asam calcitriolic (Strange RC et.al., 2015).

Vitamin D diangkut dalam darah oleh vitamin D binding protein (DBP) yang merupakan protein pengikat spesifik untuk vitamin D dan metabolitnya dalam serum ke hati. Di dalam hati, vitamin D dihidroksilasi pada oleh satu atau lebih banyak sitokrom P450 vitamin D 25 hidroksilase, menjadi 25 (OH)D, yang kemudian diangkut oleh vitamin D binding protein (DBP) ke ginjal. Di rongga proksimal tubulus, 25(OH)D dihidroksilasi kembali, menghasilkan bentuk aktif dari vitamin D, yaitu 1,25- dihydroxyvitamin D3 atau 1,25(OH)2D3. Produksi calcitriol atau 1,25(OH)2D3 oleh ginjal sangat dipengaruhi oleh hormon paratiroid (PTH). 1,25(OH)2D3 disekresikan ke dalam darah dan dibawa menuju organ target vitamin D yaitu usus, tulang dan ginjal (Chaudhuri K. et.al. 2015).

Reseptor vitamin D merupakan kelompok reseptor nuklir hormon steroid yang mengikat 1,25 (OH)2D3 dengan afinitas tinggi dan memediasi regulasi transkripsi gen menghasilkan respon genomik. (Hollick, 2006) VDR pada membran plasma memediasi kerja dari 1,25 (OH)2D3 VDR dan telah diidentifikasi terdapat di sebagian besar jaringan manusia, termasuk jaringan yang berkaitan dengan homeostasis kalsium dan metabolisme tulang. Termasuk osteoblas, keratinosit kulit, limfosit, sel dendritik, otot skeletal, jaringan adiposit, makrofag, otot polos, sel  $\beta$  pankreas dan sel epitel dan juga berbagai sel-sel sistem

kekebalan tubuh termasuk diabetes mellitus tipe 1. Metabolit vitamin D berperan pula dalam menekan ekspresi gen renin melalui pengurangan aktivitas elemen respon cAMP.

### **3. Defisiensi Vitamin D**

Vitamin D berperan penting dalam homeostasis kalsium dan juga memiliki efek pada berbagai sistem biologis, tanpa vitamin D hanya 10–15% kalsium diet dan sekitar 60% dari fosfor diserap. Beberapa literatur menyatakan defisiensi vitamin D sebagai faktor risiko yang signifikan untuk osteoporosis, diabetes, kanker, penyakit jantung iskemik, dan penyakit autoimun dan infeksi (Chaudhuri K. et.al. 2015).

Status klinis vitamin D biasanya dinilai dengan pengukuran kadar serum 25 (OH) D<sub>3</sub>, bentuk utama vitamin D dalam sirkulasi, dengan waktu paruh antara 15 sampai 50 hari (Ding C, 2012). Menurut Sjarif D. (2014) vitamin D yang termasuk vitamin larut dalam lemak, merupakan prohormon yang memiliki fungsi utama mengatur keseimbangan kalsium untuk tubuh. Status vitamin D dalam tubuh ditentukan berdasarkan kadar 25(OH)D<sub>3</sub>. Hal ini disebabkan karena masa paruh 25(OH)D<sub>3</sub> cukup panjang yaitu 2-3 minggu . Di samping itu 25(OH)D<sub>3</sub> mudah diperiksa dan memiliki kadar paling tinggi diantara metabolit vitamin D lainnya serta memiliki korelasi yang kuat antara keadaan defisiensi 25(OH)D<sub>3</sub> dengan gejala klinis .

Vitamin D dikatakan normal apabila kadar 25(OH)D<sub>3</sub> berkisar antara 20-250 nmol/L atau 20- 100 ng/mL, defisiensi berat apabila kadar 25(OH)D  $\leq$  12,5 nmol/L (5 ng/mL), defisiensi bila kadar kadar 25(OH)D  $<$  37,5 nmol/L (15 ng/mL), dan insufisiensi bila kadar 25(OH)D 37,5 -50 nmol/L (15 – 20) ng/mL (Sjarif D, 2014).

Kekurangan vitamin D seperti yang ditunjukkan oleh konsentrasi serum 25 (OH) D di bawah 20 ng / mL, umumnya ditemukan pada anak dengan obesitas, dan menjadi risiko terjadinya sindrom metabolik. Sindrom metabolik diakui sebagai pengelompokan faktor risiko obesitas, resistensi insulin, dislipidemia dan hipertensi terkait dengan perkembangan selanjutnya penyakit serebrovaskular dan diabetes mellitus tipe 2 (DMT2).

#### **4. Peran Vitamin D pada Metabolisme Lipid**

Hubungan positif antara kadar 25 (OH) D yang rendah dengan kadar HDL yang rendah kemungkinan disebabkan oleh peran vitamin D dalam menjaga konsentrasi apolipoprotein A-1 yang memadai, yang merupakan komponen utama HDL, dan regulasi aktivitas enzim lipase lipoprotein sehingga mempengaruhi kadar trigliserida dalam darah. 25 (OH)D juga berperan dalam regulasi kalsium intraseluler adiposit pada proses lipogenesis dalam jaringan adiposa. Dengan demikian kekurangan vitamin D dapat menurunkan penyerapan kalsium pada jaringan adiposa, sehingga terjadi lipolisis dan asam lemak bebas meningkat, sintesis VLDL dan LDL hati juga meningkat. Penurunan konsentrasi apolipoprotein A-1 telah dilaporkan pada orang dewasa dengan hypovitaminosis D. Kekurangan 25-hydroxyvitamin D secara independen terkait dengan dislipidemia pada subyek India (Chauduri,2013).

#### **5. Vitamin D dan Obesitas**

Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara obesitas dengan defisiensi vitamin D. Roth *et al.*, (2011) menyatakan suplemen kalsium dan / atau vitamin D berkontribusi terhadap pengurangan jaringan lemak adiposa.

Yao. *et.al.* (2015) melalui suatu penelitian meta analisis terhadap 3867 subyek obesitas dari berbagai subkelompok dan 9342 subyek tanpa obesitas. Meta analisis ini menunjukkan adanya hubungan defisiensi vitamin D dengan obesitas dengan odds ratio 3,43 (2,33 – 5,06) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penderita obesitas cenderung memiliki kadar serum 25 (OH) D<sub>3</sub> yang rendah. Serum 25(OH)D<sub>3</sub> yang ditemukan berbanding terbalik dengan pengukuran obesitas, termasuk indeks massa tubuh, massa lemak dan lingkar pinggang. Kadar 25 (OH) D<sub>3</sub> yang lebih rendah pada individu dengan obesitas disebabkan karena penyerapan yang lebih besar oleh jaringan adiposa, hal ini sesuai dengan hipotesis bahwa vitamin D adalah vitamin yang larut dalam lemak, sehingga vitamin D tersebut diasingkan dan disimpan dalam jaringan lemak dan otot dan kemudian dilepaskan secara perlahan ke dalam sirkulasi sehingga kadarnya dalam sirkulasi rendah.

Salah satu mekanisme kerja utama vitamin D dalam jaringan adiposa manusia adalah melalui ekspresi enzim metabolisme vitamin D seperti enzim 25-hidroksilase CYP2J2, CYP27B1, dan CYP24. Enzim tersebut memiliki kapasitas untuk metabolisme vitamin D secara lokal. Hal ini dibuktikan, setelah penurunan berat badan pada pasien obesitas, kadar 25 (OH) D<sub>3</sub> serum meningkat dan tingkat ekspresi 25-hidroksilase CYP2J2 dan 1 $\alpha$ -hidroksilase CYP27B1 menurun dalam jaringan adiposa. Pada penelitian double-blind terkontrol plasebo terkini, suplemen diet dengan Ca dan vitamin D selama 16 minggu dikaitkan dengan penurunan lemak visceral pada orang dewasa dengan overweight dan obesitas. Hubungan antara obesitas dan bentuk aktif dari vitamin D, 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (yang memiliki paruh pendek sekitar 15 jam di sirkulasi) kurang jelas, dan ini mungkin karena sifat dinamis dari produksi dan regulasi hormon aktif. Namun, pada orang dewasa yang sehat, kadar serum 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> yang rendah berhubungan dengan indeks massa tubuh yang lebih tinggi dan massa lemak tubuh (Ding C, 2012).

Pada penderita obesitas bioavailabilitas vitamin D rendah karena deposisi atau sekuestrasi dalam jaringan lemak dan massa lemak tubuh yang lebih tinggi dikaitkan dengan risiko kekurangan vitamin D. Peningkatan jaringan lemak pada obesitas akan meningkatkan sekresi leptin yang selanjutnya akan menstimulasi *fibroblast growth factor 23* (FGF 23) yang akan menghambat sintesis enzim 1  $\alpha$  hidroksilase dengan konsekuensi gangguan produksi 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (Souza, 2015).

Sintesis 25-hydroxyvitamin D oleh hati dapat terjadi pada tingkat yang lebih rendah pada individu dengan obesitas karena steatosis hati (Roth C, 2011). Meskipun hasil dari beberapa penelitian observasional mengkonfirmasi hubungan antara obesitas dan 25 (OH) D, ini dengan sendirinya tidak cukup untuk menentukan bahwa kekurangan vitamin D disebabkan oleh obesitas.

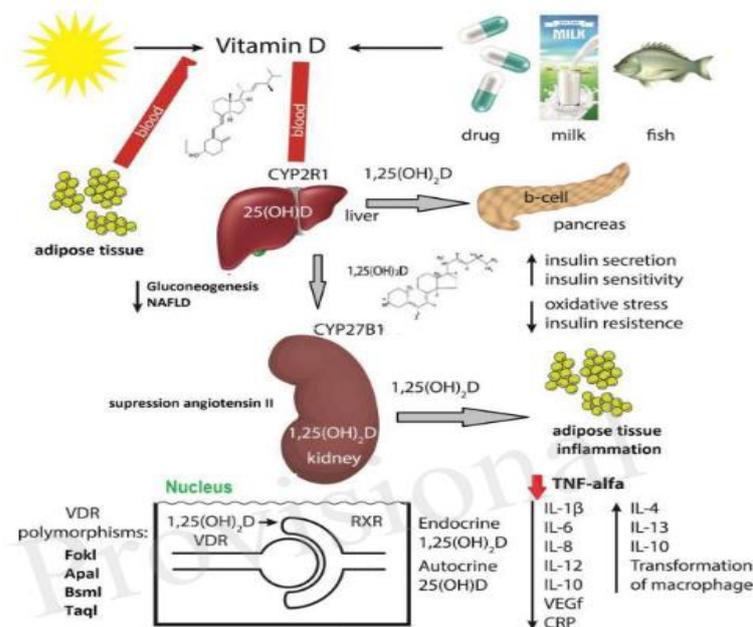
Suplementasi dengan vitamin D tidak menunjukkan efek pada ukuran adipositas pada orang dewasa (Chandler et al., 2015). Anak obes dengan defisiensi vitamin D memiliki risiko 8,571 kali mengalami sindrom metabolik dibandingkan anak obes dengan status vitamin D normal (Kurniasih, 2017).

Obesitas berhubungan dengan defisiensi vitamin D, suplementasi vitamin D dapat mencegah obesitas tetapi tidak menyebabkan penurunan berat badan pada subjek obesitas (Abbas, M.A. 2017). Insufisiensi vitamin D yang berhubungan dengan obesitas kemungkinan disebabkan oleh penurunan bioavailabilitas vitamin

D3 dari kulit dan sumber makanan karena deposisi dalam kompartemen lemak tubuh ( Wortsman et al., 2018).

Hasil penelitian Subih *et al.*, (2018) menunjukkan suplementasi vitamin D yang dikombinasikan kalsium dapat mengurangi berat badan pada tikus yang diinduksi berat badan, sementara suplemen vitamin D saja menurunkan konsentrasi kolesterol serum.

Zakharova *et al.*, (2019) menyatakan berat badan yang berlebihan menyebabkan akumulasi jaringan adiposa, gangguan fungsi adiposit, perkembangan hipertrofi adiposit, dan profil sekresi adipokin yang berubah. Perubahan ini menghasilkan migrasi dan transformasi makrofag dan dalam pengembangan peradangan jaringan adiposa. Sebagai hasil dari peradangan ini, sintesis sitokin pro-inflamasi (TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$ ) meningkat dan resistensi insulin berkembang. Vitamin D memiliki efek modulasi pada ekspresi gen yang bertanggung jawab untuk sekresi leptin dan adiponektin. Secara *in vitro*, 25 (OH) metabolit D menghambat peradangan kronis yang dimediasi imun dengan menekan produksi sitokin pro-inflamasi IL-1 $\beta$ , IL-6, dan IL-8. Secara ringkas, mekanisme kerja vitamin D pada obesitas dapat dilihat pada gambar 14.



Gambar 14. Mekanisme kerja vitamin D pada obesitas ( Zakharova *et al.*, 2019).

## D. Cangkang Telur Ayam Ras

### 1. Ekstrak Tepung Cangkang Telur Ayam Ras

Cangkang atau kulit telur merupakan lapisan luar dari telur yang berfungsi melindungi telur dari penurunan kualitas secara fisik, kimia, kontaminasi mikroba, maupun penguapan. Cangkang telur ayam dapat dibuat menjadi tepung, dan memiliki banyak manfaat, diantaranya sebagai suplemen makanan dan pakan ternak. Pada industri kertas dan pertanian digunakan sebagai pengganti produksi kapur dan pupuk, pada pembuatan blok bangunan, kulit telur ayam dapat digunakan karena tingginya konsentrasi kalsium yang ada di dalamnya. Pori-pori dalam morfologi membuatnya cocok untuk katalis heterogen pada produksi biodiesel. Kehadiran berbagai gugus fungsi dan kandungan karbon yang tinggi dalam kulit telur membuatnya menjadi bahan potensial sebagai adsorben untuk menghilangkan logam berat dan pewarna dalam pengolahan air limbah (E.O. Ajala, O.A.A. Eletta, 2018).

Membran sel cangkang telur dapat digunakan sebagai adsorben untuk menghilangkan pewarna reaktif dari limbah berwarna dan menghilangkan ion logam berat dari air limbah encer (Schaafsma et al., 2000). Membran cangkang telur juga terdiri dari kolagen sebagai komponen yang bila diekstraksi dapat digunakan untuk berbagai tujuan seperti industri obat-obatan, biokimia, farmasi, makanan, dan kosmetik (King'ori, 2011).

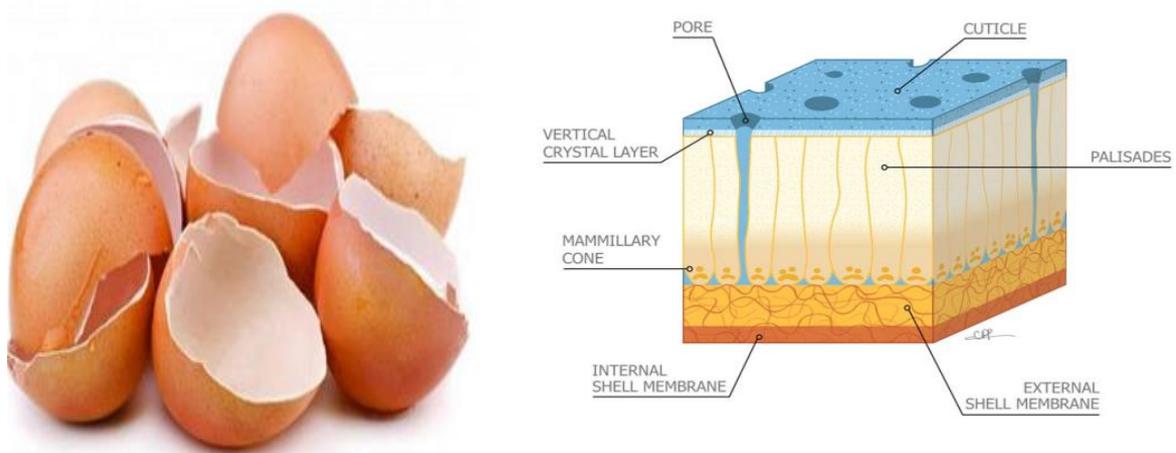
Cangkang atau kulit telur ayam terdiri dari kutikula, lapisan kristal, pori-pori lapisan berkapur, inti dan lapisan mammillary. Selaput yang terletak di permukaan bagian dalam kulit telur tampak seperti lapisan tunggal tetapi dapat dibagi menjadi dua lapisan berbeda dari bahan berserat. Satu lapisan mengelilingi albumen sementara yang lain melekat pada "ujung" dari bahan cangkang yang terkalsifikasi. Mereka dianggap sebagai membran kulit bagian dalam dan luar (Hamilton, 1986).

Cangkang telur memiliki struktur sangat unik karena bersifat *porous* (menyerap) yaitu sebagai tempat difusi dari oksigen dan karbon dioksida tetapi juga sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dan benda asing lain yang akan masuk ke bagian dalam telur. Lapisan-lapisan yang menyusun

cangkang telur terdiri atas kutikula, jaringan bunga karang, jaringan mamilari dan membran cangkang (Alok Mittal, Meenu Teotia, R.K. Soni, 2016).

Warna cangkang telur ayam dibedakan atas dua warna yaitu putih dan coklat, perbedaan tersebut dipengaruhi oleh genetik ayam, pigmen jenis porpirin (Gosler, Higham and Reynolds, 2005), konsentrasi pigmen, dan struktur cangkang telur (Hargitai and Mateo, 2011). Cangkang telur yang berwarna coklat tua lebih kuat dan tebal dibanding cangkang telur yang berwarna coklat terang (Joseph et al., 1999). Hal ini sesuai hasil penelitian Jazil, Hintono, & Mulyani (2013) bahwa telur yang berwarna coklat tua memiliki penurunan kualitas paling rendah selama penyimpanan. Struktur dari cangkang telur dapat dilihat pada gambar 15.

Ketebalan cangkang telur dipengaruhi oleh strain ayam, umur induk, pakan, stress dan penyakit pada induk. Semakin tua umur ayam, semakin tipis cangkang telurnya, sebab ayam tidak mampu memproduksi kalsium yang cukup guna memenuhi kebutuhan kalsium dalam pembentukan kerabang telur (Hargitai and Mateo, 2011). Cangkang telur yang tipis relatif berpori lebih banyak dan besar, mempermudah penguapan sehingga mempercepat turunnya kualitas telur (Haryono, 2000).



Gambar 15. Penampakan artistik tampilan penampang kulit telur ayam (Hincke et al., 2012).

Komposisi kimia cangkang telur terdiri atas protein 1.0% (b/b), kalsium karbonat 95% (b/b) (Wichitra Daengprok and Onanong Naivikul, Pornpun Pornsinlpatip, Kimon Issigonis, 2003). Hunton (2005) juga menyatakan cangkang

telur mengandung 97% kalsium karbonat, pada kulit telur seberat 60 g mengandung kalsium sekitar 2.3 g.

Komposisi kimia tepung cangkang telur ayam beragam tergantung pada beberapa faktor yaitu konsumsi pakan, konsumsi protein, serta pengaturan cahaya. Kualitas cangkang telur ditentukan oleh berat, ketebalan dan struktur cangkang, semakin berat atau tebal cangkang telur semakin tinggi pula kadar kalsiumnya (M. Clunies, D. Parks, 1992). Metode ekstraksi menggunakan asam dan yang tidak juga mempengaruhi kadar kalsium dan karakteristik tepung cangkang telur (Siti Aminah, 2016).

Schaafsma et al., (2000) menyatakan tepung cangkang telur ayam mengandung kalsium (Ca) yang tinggi yaitu antara 385 - 401 mg/g, magnesium (Mg) 3,5 – 4,5 mg/g dan Fosfor (P) total 0,2 – 1,9 mg/g. Menurut Ali (2017), tepung cangkang telur ayam yang berwarna putih mengandung kalsium 113 mg/g dan yang berwarna coklat 108 mg/g. E.O. Ajala, O.A.A. Eletta, (2018) menyatakan tepung cangkang telur ayam mengandung kalsium 2300.33 mg/L, magnesium 850.00 mg/L, kandungan kalsium karbonat 99% (Domrongpookaphan & Khemkhao, 2017), kalsium 35,46% dan kalsium karbonat 95,54% (Rosnah, et.al. 2021).

Kalsium dari tepung cangkang telur memiliki banyak kelebihan dibandingkan dengan kalsium karbonat sintetis. Kalsium dari tepung cangkang telur lebih mudah diserap dalam usus halus tikus daripada kalsium karbonat komersil (Omi and Ezawa, 1998), dapat meningkatkan densitas mineral tulang bagi penderita osteoporosis (Schaafsma dan Pakan, 1999; Daengprok *et al.*, 2003) dan dapat menurunkan rasa nyeri (Schaafsma *et al.*, 2000).

Szeleszczuk et al. (2015) menyatakan kelarutan kalsium karbonat yang lebih tinggi dari cangkang telur ayam, dibandingkan dengan karbonat yang berasal dari cangkang tiram, dan keberadaan komponen mineral yang berharga (strontium, barium) menjadikannya bahan biomaterial yang sangat baik untuk produksi suplemen makanan baru.

Hasil penelitian tentang kinetika pelepasan kalsium dalam lambung buatan menunjukkan bahwa kalsium lebih cepat dilepaskan dari tablet yang mengandung kalsium sitrat dari kulit telur daripada kalsium karbonat sintetis (Barbara *et al.*, 2017).

Produksi maupun konsumsi telur ayam ras petelur di Indonesia terus meningkat, data dari Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan menunjukkan pada tahun 2018 produksi telur ayam ras petelur di Indonesia mencapai 1.644.460 ton (Nurdiman, 2018). Pemanfaatan cangkang telur belum dilakukan secara optimal sehingga semakin banyak limbah cangkang telur yang dapat menjadi sumber pencemaran lingkungan.

Metode ekstraksi dan pembuatan tepung cangkang telur ayam dapat dilakukan dengan beberapa cara. Garnjanagoonchorn & Changpuak (2007) membuat tepung cangkang telur ayam dengan cara kalsium dalam kulit telur diekstraksi sebagai kalsium klorida menggunakan larutan HCl 4% (b/v) selama 3 jam, rasio kulit telur terhadap HCl 1:15 (b/v). Setelah dihidrolisis, residu dihilangkan dengan sentrifugasi pada  $1774 \times g$  selama 10 menit, dan larutan dipanaskan suhu  $110-115^{\circ}\text{C}$  sampai kering, diperoleh hasil cangkang kalsium klorida sebesar 87,38% (b/b). Serbuk kalsium klorida yang dihasilkan mengandung protein 0,3%, abu 94,37%, dengan pH 5,27 dan menunjukkan kelarutan tinggi.

Gongruttananun (2011) membuat tepung cangkang telur ayam dengan cara cangkang telur ayam yang telah dikumpulkan dari hasil sisa rumah makan, dibersihkan dari membran cangkang telur dan dicuci menggunakan air. Cangkang telur disterilisasi dengan direbus selama 2 jam kemudian dikeringkan pada oven suhu  $95^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Cangkang telur yang sudah kering kemudian digiling menggunakan *blender*, disaring dengan penyaring ukuran 80 *mesh* sehingga diperoleh tepung cangkang telur.

Kalsium dari cangkang telur terdiri dari 98,4%  $\text{CaCO}_3$  dan 0,8%  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dengan kelarutan yang rendah. Untuk mendapatkan kalsium dari cangkang telur perlu dilakukan ekstraksi menggunakan larutan HCl. Kalsium karbonat dalam cangkang telur akan bereaksi dengan HCl membentuk kalsium klorida yang mudah larut, gas  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Hasil penelitian Gongruttananun (2011), diperoleh perlakuan terbaik yaitu penambahan konsentrasi HCl 2,5% menghasilkan ekstrak cangkang telur ayam dengan kadar air  $1,19 \pm 0,06$ , warna  $L = 20,5 \pm 0,8$ ;  $a = 0,6 \pm 0,2$ ;  $b = 1,1 \pm 0,4$ ;  $c = 0,7 \pm 0,6$  dan  $^{\circ}\text{hue} = 61,0 \pm 10,3$ , pH 8,51, yield = 85,17%, kadar abu 91% dan kadar Ca 28,17%

Miss.A.P.Chakraborty (2016) membuat tepung cangkang telur ayam dengan memodifikasi cara yang dilakukan Garnjanagoonchorn & Changpuak

(2007), dimana cangkang telur ayam ras yang diperoleh dari rumah makan, dibersihkan menggunakan air aquadest, lalu direbus selama 15 menit, ditiriskan kemudian disebar di atas kaca atau loyang stainless steel, dan keringkan semalam. Pagi hari, cangkang telur ayam ras dikeringkan di oven pada suhu 200°C selama 10 menit, sesudah itu dihaluskan menggunakan mixer. Serbuk cangkang telur ayam ras kemudian diekstraksi menggunakan asam klorida (HCl) 4% (w/v) selama 3 jam. Perbandingan serbuk cangkang telur ayam ras dengan HCl adalah 1:15 (w/v). Sesudah dihidrolisis, residu dan larutan HCl dihilangkan dengan pemanasan suhu 110-115°C sampai kering, ditepungkan menggunakan mixer dan diayak dengan saringan 80 mesh. Pengukuran kadar kalsium menggunakan alat spektroskopi Inductively Coupled Plasma-Mass Spectroscopy (ICP-MS) Instrument diperoleh hasil sebesar 38%, pengukuran kadar kalsium karbonat menggunakan metode titrasi diperoleh hasil 85%.

Aminah et al., (2016) melakukan ekstraksi cangkang telur ayam menggunakan larutan asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) 2 N dengan cara cangkang telur ayam dicuci bersih, dilakukan pengecilan ukuran, selanjutnya direndam dalam aquadest suhu 100°C selama 15 menit, ditambahkan larutan asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) 2 N dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 3 jam, diangkat, ditiriskan dan cuci dengan aquadest, dikeringkan menggunakan *cabinet dryer* pada suhu ± 50°C selama 3 jam. Setelah dingin kemudian ditepungkan menggunakan diskmill dan diayak dengan saringan 80 mesh. Pengukuran kadar kalsium menggunakan Atomic Absorption Spectrometry (AAS) diperoleh hasil sebesar 20,67%.

### **Pemanfaatan Cangkang Telur**

(Waheed *et al.*, 2019) menyatakan telur tidak hanya merupakan sumber nutrisi yang baik, tetapi cangkangnya juga memiliki banyak komponen nutrisi dan non gizi. Sejumlah besar limbah cangkang telur dihasilkan secara global, dan cangkang telur ini kaya akan mineral, terutama kalsium. Pemanfaatan cangkang telur dalam industri makanan yang pada akhirnya akan mengurangi beban limbah cangkang telur global sampai batas tertentu.

Cristianne M.M. Cordeiro dan Maxwell.T. Hincke (2011) menyatakan cangkang telur ayam adalah sumber kalsium makanan yang baik, terdiri dari

sekitar 39% unsur Ca yang juga mengandung sejumlah besar unsur mikro yang bermanfaat seperti strontium (Sr), fluor (F) dan selenium (Se). Kulit telur terdiri dari 95% kalsium karbonat, 3,5% glikoprotein, dan proteoglikan. Membran cangkang bagian dalam mengandung glukosamin, kondroitin sulfat, asam hialuronat, kolagen tipe I, dan sejumlah besar protein dan unsur mikro seperti magnesium, strontium, seng, barium, fluor, yang dapat memiliki efek positif pada metabolisme tulang (Cordeiro & Hincke 2011).

Manfaat kesehatan dari mengkonsumsi bubuk kulit telur ayam sebagai suplemen kalsium telah menunjukkan hasil yang signifikan dan bermanfaat untuk mengurangi tulang keropos. Studi klinis dengan wanita pasca-menopause dan pada orang dengan osteoporosis atau osteopenia menunjukkan bahwa asupan kalsium yang diekstraksi dari bubuk kulit telur ayam dikaitkan dengan peningkatan kepadatan mineral tulang (BMD) pinggul dan lumbar tulang belakang. Proses pemanasan dikembangkan untuk mendapatkan bubuk kulit telur dari kulit telur limbah untuk digunakan sebagai suplemen kalsium dalam makanan dan minuman. Sebuah proses yang dipatenkan mengklaim penggunaan asam klorida food grade untuk mengekstraksi kalsium karbonat dari kulit telur yang menyediakan produk kalsium karbonat tanpa logam berat dalam komposisinya untuk aplikasi klinis dan nutraceutical. Limbah bubuk kulit telur juga merupakan sumber untuk sintesis senyawa baru seperti kalsium glutamat yang dapat digunakan sebagai suplemen kalsium, pengganti garam dan zat penyedap.

Hasil penelitian Szeleszczuk, Łukasz, et.al (2015) menyatakan bahwa pencernaan cangkang telur ayam (Chicken eggshell /CE) lebih baik daripada  $\text{CaCO}_3$  yang diendapkan. Pelarutan cangkang telur ayam yang baik dan keberadaan unsur mikro berharga lainnya (boron, strontium) membuat biomaterial ini menjadi sumber kalsium yang sangat baik untuk produksi suplemen makanan.

Dolińska, Barbara, et.al (2016) menyatakan cangkang telur ayam merupakan alternatif yang menarik untuk produk yang saat ini digunakan dalam suplementasi sumber kalsium alami lainnya untuk manusia dan hewan. Kelarutan kalsium karbonat yang lebih tinggi dari cangkang telur ayam, dibandingkan dengan karbonat yang berasal dari cangkang tiram, dan adanya komponen mineral yang berharga (strontium, barium) menjadikannya bahan biomaterial yang sangat baik untuk produksi suplemen makanan baru (Szeleszczuk *et al.* 2015). Selain itu, konversi kalsium karbonat, kalsium sitrat menghasilkan garam kalsium

dengan sifat yang lebih baik dibandingkan dengan kalsium karbonat. Kalsium sitrat yang diperoleh dari kulit telur ayam ditandai oleh kemurnian mikrobiologis yang sesuai dan termasuk mineral berharga dalam komposisinya (Dolińska *et al.* 2011). Studi tentang kinetika pelepasan kalsium ke cairan lambung buatan menegaskan bahwa kalsium lebih cepat dilepaskan dari tablet kalsium sitrat dari kulit telur dibanding dari kalsium karbonat sintetis.

Chakraborty, Miss.A.P. (2016) menyatakan bahwa cangkang telur ayam broiler memiliki kandungan kalsium hampir 38% dan kalsium karbonat hampir 85%, dapat digunakan dengan sangat efektif dalam berbagai aplikasi. Tablet dari bubuk kulit telur ayam broiler yang diuji kesetaraannya dengan tablet suplemen kalsium CIPCAL-500 dari kulit tiram, menunjukkan hasil analisis FTIR sebanding dan juga sumber, ketersediaan dan pembuatan tablet kalsium karbonat menggunakan kulit telur ayam jauh lebih mudah dibandingkan dengan kulit tiram yang merupakan sumber utama tablet CIPCAL-500.

Kalsium dalam bentuk asli selalu terikat dengan mineral atau elemen lain. Pada kulit telur sebagian besar kalsium dalam bentuk kalsium karbonat. Dengan proses ekstraksi menggunakan asam seperti asam klorida, kalsium dari kulit telur dapat dimanfaatkan dalam bentuk kalsium klorida.

Penelitian oleh Garnjanagoonchorn, W., & Changpuak, A. (2007) menyatakan untuk meminimalkan sisa sampah dari cangkang telur, kalsium dari cangkang telur diekstraksi sebagai kalsium klorida menggunakan larutan HCl 4% (b/v), waktu ekstraksi 3 jam dengan rasio kulit telur terhadap HCl 1:15 (b/v). Setelah hidrolisis, residu dihilangkan dengan sentrifugasi pada 1774 rpm selama 10 menit, dan larutan dipanaskan hingga 110–115°C sampai kering. Dari proses tersebut dihasilkan kalsium klorida cangkang telur 87,38% (b/b), protein 0,3% dan abu 94,37%, dengan pH 5,27 dan menunjukkan kelarutan tinggi.

Tjandra, D, et.al (2019) menyatakan kalsium klorida dapat diaplikasikan dalam pemrosesan makanan untuk menjaga kekerasan tekstur buah dan sayuran kaleng. Biasanya proses termal makanan akan mengurangi kekerasan tekstur produk yang dapat disebabkan oleh perubahan permeabilitas sel, perubahan pektin, dan efek gula dalam media perendaman. Kalsium dapat digunakan sebagai bahan perendaman untuk meningkatkan kekerasan produk seperti pepaya kaleng, pir, apel, dan juga produk makanan krispi seperti keripik.

## **E. Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Strain Wistar**

### **1. Persiapan Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Strain Wistar**

Kondisi umum pemeliharaan perlu diperhatikan untuk kesejahteraan hewan. Baik buruknya kondisi hewan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya manajemen pemeliharaan, diet, dan lingkungan (Aulyani 2013). Persiapan dilakukan dengan pembuatan kandang individu, penimbangan tikus tiap individu, pemberian kode perlakuan dan ulangan, pengacakan, dan pembuatan diet dalam bentuk pellet.

### **2. Prosedur Pembuatan Pellet**

Astuti (2015) menyatakan pellet pakan standar (diet normal) dan pakan tinggi lemak (*High Fat Diet, HFD*) dibuat sesuai formulasi bahan tiap perlakuan. Pencampuran bahan mikronutrien (vitamin mix, DL-Methionin, mineral mix) dan makronutrien (jagung kuning, tepung ikan) dilakukan secara terpisah. Setelah masing-masing tercampur kemudian digabung dan dicampurkan bersama. Campuran dari keduanya kemudian diberi air secukupnya (bobot air  $\pm 22\%$  dari total bahan diet yang akan dibuat) hingga jadi adonan. Adonan dicetak menggunakan alat *pelleter* hingga menjadi seperti mie kemudian dipotong-potong kecil untuk menghasilkan pellet, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 30–50°C. Pembuatan pellet dilakukan setiap tujuh hari sekali.

### **3. Pakan Standar (Normal Diet) dan Pakan Tinggi Lemak (High Fat Diet, HFD) pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Strain Wistar**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) banyak digunakan sebagai hewan percobaan di bidang kedokteran, farmasi, tumbuhan bahan obat, gizi dan bidang ilmu lainnya untuk mempelajari pengaruh obat-obatan, toksisitas, metabolisme, embriologi maupun dalam mempelajari tingkah laku (Angela M. Gajda, 2008; So et al., 2011; Panchal & Brown, 2011; Fernandes et al., 2016; Bastías-Pérez et al., 2020).

Induksi obesitas pada hewan coba dapat dilakukan melalui manipulasi neuroendokrin, genetik, dan diet. Metode induksi diet menggunakan diet tinggi lemak atau *high fat diet (HFD)* lebih sering digunakan sebab dinilai lebih baik, paling mendekati dengan kondisi peningkatan berat badan pada manusia (Vinicius Von Diemen, Eduardo Neubarth Trindade, 2006; Angela M. Gajda,

2008). Dewi Apri Astuti, (2015) menyatakan diet tinggi lemak (atherogenik) adalah formula makanan mengandung tinggi lemak jenuh (total lemak > 10%) dan kandungan kolesterol sebesar 0,28 mg/kalori energi. Di Amerika dan Eropa diet atherogenik untuk hewan model dibuat dari bahan dasar utama tepung telur atau bahan *crystalin cholesterol* murni, agak sulit didapatkan di Indonesia dan harganya cukup mahal, sehingga perlu ada terobosan baru menggunakan bahan lokal. Diet atherogenik dapat dibuat dari bahan baku lokal dengan harga terjangkau bersumber kolesterol berupa kuning telur ayam ras, minyak kelapa (tinggi asam lemak jenuh, 86%) dan lemak sapi (*beef tallow*)

Pelet merupakan bentuk massa dari bahan pakan atau ransum, dibentuk dengan menekan dan memadatkan melalui lubang cetakan secara mekanis. Pemakaian pakan berbentuk pelet memiliki beberapa keuntungan yaitu menjamin keseimbangan zat-zat nutrisi pakan; lebih awet; tidak menghasilkan debu seperti pada pakan *mash* dan dapat mengurangi jumlah pakan terbuang (Akhadiarto, 2010). Penggunaan pelet juga lebih praktis, tanpa persiapan panjang sebelumnya, dan dapat tersedia dalam bentuk kemasan siap pakai.

Saat ini pembuatan pelet untuk diet atherogenik pada hewan coba tikus wistar umumnya menggunakan lemak babi, minyak kelapa, lemak sapi, lemak kambing dan kuning telur sebagai sumber lemak (Angela M. Gajda, 2008; So et al., 2011; Kusumastuty, 2014). Penggunaan lemak/ minyak babi pada pembuatan pakan diet tinggi lemak umumnya berbentuk suspensi dimana proses pembuatannya menggunakan air sebagai media pelarut sehingga lebih mudah mengalami ketengikan. Bau tengik timbul akibat adanya kontak antara lemak dengan oksigen (oksidasi), molekul air (hidrolisis) atau dengan logam membentuk hidroperoksida yang rentan terhadap oksidasi lebih lanjut dan reaksi degradasi produk reaksi sekunder, termasuk aldehida, keton, asam, dan alkohol (Gordon, 2001; Marsili & Laskonis, 2014). Aroma yang lebih tengik dari diet atherogenik dibandingkan diet normal menyebabkan asupan tikus yang diberi diet atherogenik lebih rendah, tetapi kandungan lemaknya lebih tinggi sehingga tetap berpengaruh terhadap perubahan berat badan dan profil lipid tikus (Kusumastuty 2014). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian (Ismi et al., 2017) bahwa ternak lebih menyukai pakan dengan aroma harum, segar dan tidak tengik yang akan mempengaruhi palatabilitas pakan dan penerimaan kepada ternak.

Pembuatan pelet HFD menggunakan lemak babi juga menimbulkan masalah khusus bagi peneliti beragama Islam karena harus bersentuhan dengan bahan yang tidak halal. Selain itu pakan tinggi lemak untuk induksi obesitas maupun atherogenik bagi hewan coba tikus wistar berbentuk pelet siap pakai (instan) belum tersedia di pasaran lokal Indonesia, padahal kebutuhan penggunaannya dalam riset bidang kedokteran, farmasi, tumbuhan bahan obat, gizi dan bidang ilmu lainnya cukup tinggi. Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti menggunakan mentega, telur ayam ras, dan susu bubuk full cream sebagai sumber lemak jenuh dalam pembuatan diet tinggi lemak (atherogenik) untuk hewan coba tikus wistar jantan. Secara umum makanan yang berasal dari hewani seperti daging berlemak, keju, mentega dan krim susu selain mengandung asam lemak jenuh juga mengandung kolesterol. Biong, Anne S.et.al (2004) menyatakan pada kandungan lemak yang sama, keju mungkin lebih sedikit meningkatkan kolesterol daripada mentega. Lemak susu kaya akan lemak jenuh dan kolesterol yang dikenal dapat meningkatkan kolesterol serum (Kris-Etherton & Yu, 1997; (Tholstrup et al., 2004; Van Aerde et al., 2013).

(Nestel et al., 2005) menyatakan lemak mentega umumnya diakui secara konsisten meningkatkan konsentrasi kolesterol plasma, terutama pada subjek hyperkolesterol. Hubungan epidemiologi antara konsumsi lemak mentega dan mortalitas kardiovaskular telah dikembangkan sebagai alasan utama untuk mengurangi asupan lemak susu full-cream (Artaud-Wild et al., 1993).

(Khaw et al., 2018) menyatakan mentega mengandung 66% asam lemak jenuh. Produk susu kaya akan asam miristat dan palmitat yang dapat meningkatkan kolesterol serum (Kris-Etherton PM, et.al. 1997). Efek dominan dari asam lemak jenuh adalah peningkatan kadar kolesterol total dan kolesterol LDL (Hjerpsted et al., 2011). Beberapa penelitian pada manusia menunjukkan bahwa mentega bersifat hiperkolesterolemia bila dibandingkan dengan sumber lemak lainnya (Wood et al., 1993; Cox et al., 1998).

(Siri-Tarino et al., 2010) menyatakan asupan lemak jenuh telah dikaitkan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular (CVD), dan efek ini diperkirakan dimediasi terutama oleh peningkatan konsentrasi kolesterol LDL. Sumber makanan utama asam lemak jenuh di Amerika Serikat adalah produk susu berlemak penuh dan daging merah.

Telur ayam dikenal sebagai makanan manusia yang paling lengkap, dan merupakan fitur vital dari konsumsi manusia sehari-hari yang berfungsi sebagai sumber nutrisi berbiaya rendah dan berkualitas tinggi (Ahmed et al., 2019). Telur merupakan sumber protein bermutu tinggi yang menyediakan semua asam amino esensial bagi manusia, terutama pada bagian putihnya, sedangkan bagian kuning telur (*yolk*) merupakan sumber lemak yang mengandung 65,5% trigliserida, 28,3% fosfolipid dan 5,2% kolesterol. (Kuang et al., 2018) menyatakan selain protein, telur juga mengandung sejumlah besar komponen lipid aktif, seperti fosfolipid, kolin, dan karotenoid. asam lemak tak jenuh tunggal (MUFAs) dan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) masing-masing adalah 2,0 g dan 0,7 g dan dalam satu telur berukuran sedang mengandung 1,6 g asam lemak jenuh.

(Lewington et al., 2007; Liu et al., 2017) menyatakan konsumsi telur berhubungan positif dengan peningkatan total kolesterol (TC) serum dan LDL-C, sehingga berhubungan dengan peningkatan kejadian mortalitas penyakit jantung coroner. (Zhuang et al., 2021) menyatakan asupan telur dan kolesterol dikaitkan dengan semua penyebab yang lebih tinggi CVD dan kematian akibat kanker. Peningkatan mortalitas yang terkait dengan konsumsi telur sebagian besar dipengaruhi oleh asupan kolesterol, sehingga disarankan untuk membatasi asupan kolesterol dan mengganti telur utuh dengan putih telur / pengganti atau sumber protein alternatif lainnya.

Yuka Ono (2006) menyatakan *Wistar Fatty Rat (WFR)* bisa dipakai untuk *Diet Induced Obesity (DIO)* sehingga bisa dipakai untuk melihat parameter adiposopati seperti leptin, adiponectin, vaspin, dan chemerin setelah dilakukan *adjustable gastric banding*.

Menurut Wang dan Nakayama (2010), jenis kelamin tikus yang digunakan pada penelitian obesitas sebaiknya jantan karena akumulasi lemak pada jantan terjadi di daerah sentral sedangkan pada betina akumulasi lemak terjadi di daerah gluteal/femoral. Masalah kesehatan yang berkaitan dengan obesitas umumnya terjadi pada distribusi lemak di daerah sentral (abdominal dan visceral). Karakteristik fisiologis pada model tikus yang obes karena makanan (DIO) adalah adanya resistensi insulin, toleransi glukosa terganggu, dislipidemia dan peningkatan deposisi lemak (Tschop dan Heiman 2001).

Berdasarkan hal tersebut maka pada penelitian ini digunakan tikus putih galur wistar, jenis kelamin jantan sebab model yang diperlukan adalah model

hewan yang obes karena diet (*diet induced obese*, DIO) yang merupakan penyebab terbesar kejadian obesitas pada manusia, bukan obesitas karena genetik.

#### **4. Pembuatan dan Pemberian Pakan Tinggi Lemak Untuk Tikus Putih**

Obesitas (terutama obesitas visceral) adalah faktor kunci dari sindrom metabolik, serangkaian faktor risiko yang saling terkait untuk penyakit kardiovaskular dan diabetes, termasuk disglukemia, peningkatan tekanan darah, peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol LDL (K.G.M.M. Alberti, Robert H.et.al, 2009). Untuk pemahaman yang lebih baik tentang patologi sindrom metabolik dan untuk mengevaluasi perawatan potensial, sejumlah model hewan percobaan telah dikembangkan (Panchal and Brown, 2011).

Hasil penelitian Roland Buettner, Ju"rgen Scho"lmerich (2007), pada tikus yang diberi diet semi-murni dengan kandungan lemak lebih dari 40% energi berasal dari lemak hewani selama beberapa minggu, dapat menyebabkan obesitas, hiperglikemia, hipertrigliseridemia dan hiperleptinemia, menurut patofisiologi obesitas manusia dan sindrom metabolik.

Heriansyah (2013) memberikan diet tinggi lemak pada tikus putih, dengan menambahkan kolesterol, asam kolat dan minyak babi. Pakan yang diberikan sebanyak 30 gram/hari/tikus. Komposisi pakan yaitu 50% PARS, 25% tepung terigu, kolesterol 2%, asam kolat 0,2%, minyak babi 5%, air 17%.

Yunita (2014) memberikan pakan tinggi lemak pada tikus percobaan, dimana pakan tinggi lemak tersebut dibuat dari kolesterol 1.5% (tepung kuning telur), lemak kambing 10%, minyak sayur 6%, dan pakan standar 86%. Tepung kolesterol dibuat dari kuning telur ayam negeri yang direbus hingga matang, kemudian kuning telur dipisahkan dari putihnya, digerus hingga halus, dan dioven pada suhu 60° C selama 20 jam. Selanjutnya tepung dicampur dengan bahan yang lainnya (lemak kambing, minyak curah, dan pakan standar) dan dijadikan ke dalam bentuk pelet.

Kusumastuty (2014), memberikan pakan diet aterogenik pada tikus putih dengan komposisi kuning telur bebek 5 %, minyak babi 8,9 %, lemak kambing 10 %, minyak kelapa 1 % dan asam kolat 0,1 %. Tikus putih mengonsumsi pakan diet aterogenik lebih rendah dibandingkan dengan diet normal biasa. Hal ini

disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu keadaan tikus dan pakan tikus. Faktor keadaan fisiologis tikus misalnya tikus mengalami kejenuhan selama mendapat diet aterogenik, sedangkan faktor pakan tikus dapat disebabkan karena tekstur dan keadaan organoleptiknya. Pada pakan diet bentuknya normal, tekstur lebih kasar sesuai dengan pakan tikus sehari-hari dan berdasarkan pengamatan dari segi organoleptik, aroma yang ditimbulkan dari diet aterogenik lebih tengik jika dibandingkan dengan diet normal.

Kusumastuty (2014) menyatakan asupan tikus yang diberi diet aterogenik lebih rendah dibandingkan asupan tikus yang mendapat diet normal, tetapi kandungan lemak pada diet aterogenik lebih tinggi, yaitu 47,3% dari total energi dibandingkan pada diet normal yang hanya 8% dari total energi, sehingga berpengaruh terhadap perubahan berat badan dan jumlah kadar profil lipid.

Hasil penelitian Joko Setyono, Dwi Adi Nugroho, Mustofa (2014) menunjukkan kelompok yang diinduksi HFD memiliki rerata berat badan (BB) lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif. Hasil uji One-Way Anova diperoleh  $p < 0.05$ , hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna berat badan hewan coba yang diberi diet HFD dengan diet normal. Induksi obesitas pada hewan coba dapat dilakukan melalui manipulasi neuroendokrin, genetik, dan diet. Metode yang sering digunakan adalah metode induksi diet menggunakan diet tinggi lemak atau HFD. Metode induksi ini dinilai lebih baik karena paling mendekati dengan kondisi peningkatan berat badan pada manusia (Diemen *et al.*, 2006).

Harsa (2014); Fatimatuzzahro & Chriestedy (2018) memberikan pakan diet tinggi lemak pada tikus putih percobaan sebanyak 3 gram minyak babi/200 gram BB tikus/hari dan 2 gram kuning telur bebek/200 gram BB tikus/hari selama 4 minggu. Hasil penelitian Fatimatuzzahro & Chriestedy (2018) menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna berat badan tikus ( $p=0,00$ ) yang diberi diet tinggi lemak dibanding kelompok lainnya, dan tidak terdapat perbedaan rerata BB hewan coba kelompok kontrol dan kopi ( $p>0,05$ ).

Pada penelitian Joko Setyono, Dwi Adi Nugroho, Mustofa (2014) menggunakan pakan tikus berbentuk pelet terdiri dari dua komposisi, yaitu (1) *normal fat diet* (NFD) 64,2% karbohidrat, 30,7% protein, dan 5,1% lemak; (2) *high fat diet* (HFD) 17,4% karbohidrat, 42,9% protein, dan 39,7% lemak. NFD diberikan selama aklimatisasi dan HFD sebagai pakan induksi obesitas

(Delagrang, Renard, Casteilla, & Pe, 2003). Induksi obesitas dilakukan setelah aklimatisasi dengan memberikan asupan HFD berbentuk pellet selama 7 hari secara *ad libitum*. Setelah 7 hari, tikus ditimbang, induksi dianggap berhasil apabila berat badan tikus yang diinduksi memiliki berat badan lebih tinggi minimal 20 gram dibandingkan kelompok yang tidak diinduksi (Lim *et al.*, 2012).

Widyaningsih & Salamah (2015) menyatakan pemberian diet tinggi lemak berupa minyak babi 2 ml/200g BB selama 1 bulan menurunkan berat badan dan konsumsi pakan tikus secara bermakna dibanding kontrol tanpa diet tinggi lemak, minyak babi diketahui mempunyai asam lemak jenuh lebih tinggi dari lemak yang lain. Diet tinggi lemak tidak meningkatkan konsumsi pakan tikus hal ini kemungkinan karena diet minyak babi membuat lambung terisi dan membuat nafsu makan tikus yang diberi diet lemak tinggi menurun. Hal ini terbukti dengan semakin menurunnya konsumsi pakan rata-rata tikus setiap kelompok.

Nissa & Madjid (2016) melakukan induksi obesitas pada tikus wistar dengan memberikan diet tinggi lemak. Adapun komposisi pakan adalah pakan ayam tandar/ParS ditambah tepung terigu, minyak kelapa, kuning telur bebek, lemak kambing, dan minyak babi. Sebanyak 24 tikus kelompok obesitas diberi diet tinggi lemak selama 8 minggu sedangkan 12 tikus kelompok normal diberi pakan normal. Pemberian diet dilakukan secara *ad libitum*.

Cynthia Astiti Putri, Dimas Adhi Pradana (2016) memberikan diet tinggi lemak pada tikus putih dengan cara pemberian lemak babi dan kuning telur bebek. Lemak babi yang diberikan sebesar 3 g/200 g bb/hari, sedangkan kuning telur sebanyak 2 g/200 g bb/hari. Lemak babi mengandung 2% asam lemak miristat, 25% asam lemak palmitat, 15% asam lemak stearat, 45% asam lemak oleat, dan 9% asam lemak linoleat, sedangkan kuning telur bebek mengandung 17 g protein, 35 g lemak dan kolesterol 884 mg/100 g sehingga dapat meningkatkan berat badan (Anggriani, 2015).

Shiyan, Bella, & Amriani (2017), membagi tikus dibagi dalam lima kelompok yang terdiri dari kontrol negatif, positif dan tiga variasi dosis. Pakan diet lemak tinggi dibuat dengan cara mencampurkan pakan standar 200 g dengan kuning telur 8 g, minyak babi 20 g, gula 80 g, tepung terigu 100 g, dan minyak jagung 5 mL (Tsalissavrina *et al.*, 2013).

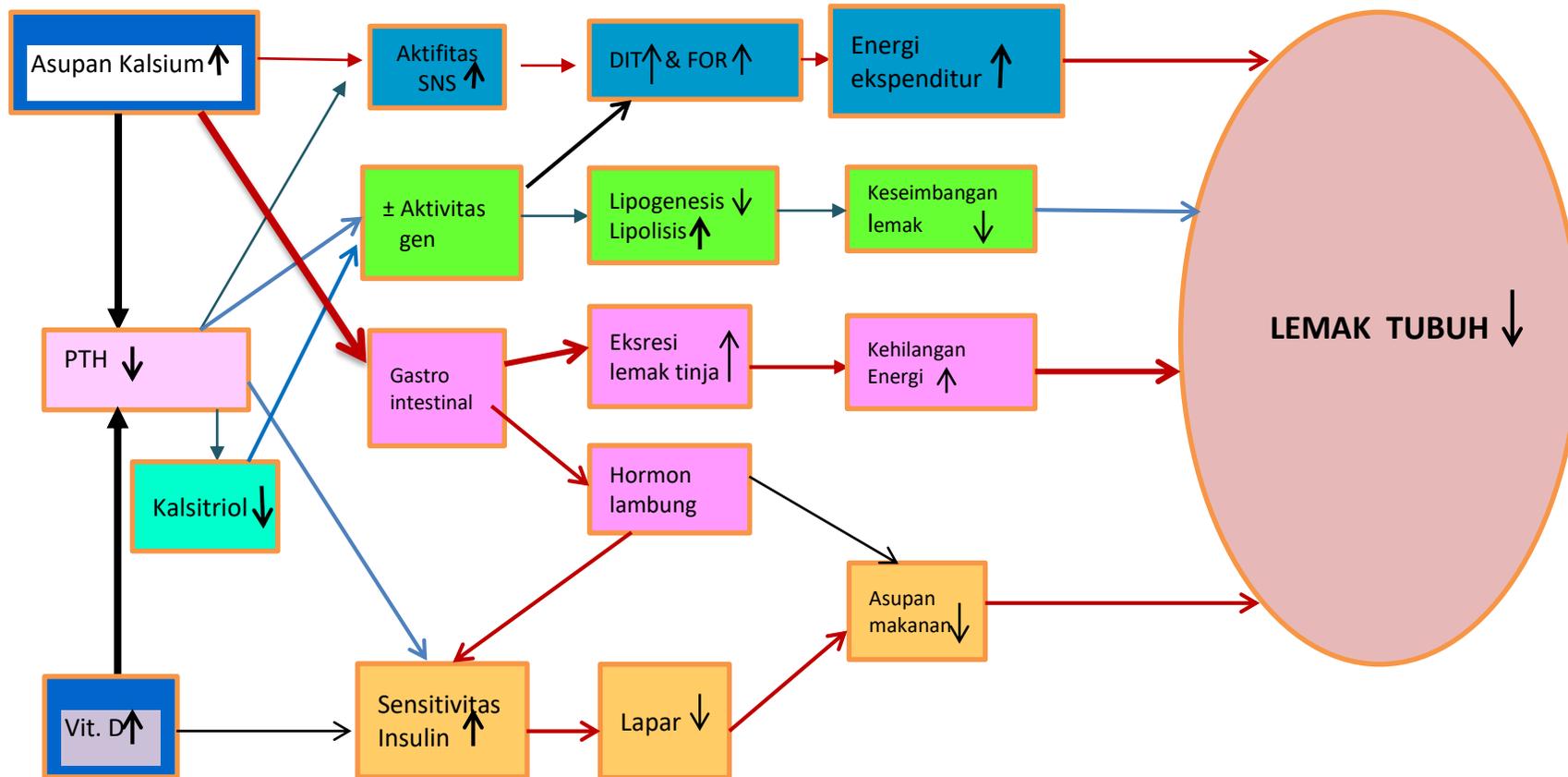
Marta (2017) pada penelitiannya menggunakan pakan standar untuk tikus produksi Indonesia Formula Feed®. Pakan tinggi lemak dibuat dengan cara

mencampur pakan standar dengan kuning telur bebek dan lemak sapi dengan perbandingan 70% : 10% : 20%. Berdasarkan hasil proksimat pakan diketahui pakan tinggi lemak mengandung kadar lemak 20,76%, sedangkan pakan standar 4%. Pakan diberikan sebanyak 10 % BB perhari untuk masing-masing tikus.

Brouwer, Wirjatmadi, & Adriani (2018) memberikan diet tinggi lemak untuk membuat tikus menjadi hipertrigliserida, dengan komposisi pakan berupa campuran emulsi dari otak sapi 1,6 cc, kuning telur puyuh 0,3 cc dan glukosa 0,1 dengan dosis total sebanyak 2 cc/ ekor/ hari.

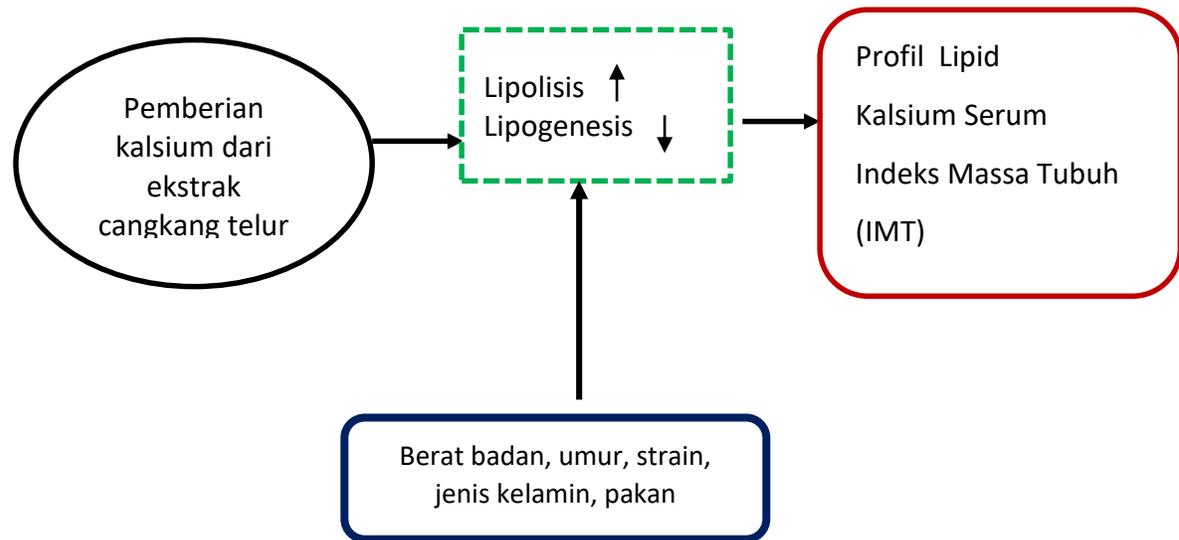
I Gede Widhiantara, A.A. Ayu Putri Permatasari, Ferbian Milas Siswanto (2018) memberikan pakan standar pada tikus putih percobaan berupa pakan ayam CP594 dari PT. Pokphand yang memiliki kadar air 13%, protein 17,5-19,5%, lemak 3%, serat 8%, abu 7%, kalsium 0,9%, dan fosfor 0,9%. Pakan tinggi lemak mengandung kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak babi 30%, minyak goreng 5%, makanan standard sampai 100%.

## F. Kerangka Teori



Gambar 16. Kerangka Teori (Soares, Mario J. et al. 2014)

## G. Kerangka Konsep



Gambar 17. Kerangka Konsep

Keterangan :

-  = Variabel bebas
-  = Variabel antara
-  = Variabel kendali
-  = Variabel terikat

## H. Hipotesis Penelitian

H1 : Ada pengaruh pemberian ekstrak cangkang telur ayam ras terhadap profil lipid (kolesterol total, Triglicerida, LDL, HDL), vitamin D, kalsium serum dan indeks massa tubuh (IMT) tikus (*Rattus novvergicus*) wistar jantan obesitas.