DISERTASI

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BERAS HITAM (*ORYZA SATIVA L.*) PADA KONDISI OBESITAS : KAJIAN KADAR LIPOPOLISAKARIDA (LPS) DAN KADAR *TIGHT JUNCTION PROTEIN*-1 (ZO-1)

THE EFFECT OF GIVING BLACK RICE EXTRACT (ORYZA SATIVA L.) ON OBESITY CONDITIONS : STUDY OF LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) LEVELS AND TIGHT JUNCTION PROTEIN-1 (ZO-1) LEVELS

Armanto Makmun
C013172007

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BERAS HITAM (*ORYZA SATIVA L.*) PADA KONDISI OBESITAS : KAJIAN KADAR LIPOPOLISAKARIDA (LPS) DAN KADAR *TIGHT JUNCTION PROTEIN*-1 (ZO-1)

Disertasi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

ARMANTO MAKMUN

Kepada

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

DISERTASI

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BERAS HITAM (ORYZA SATIVA L.) PADA KONDISI OBESITAS : KAJIAN KADAR LIPOPOLISAKARIDA (LPS) DAN KADAR TIGHT JUNCTION PROTEIN-1 (ZO-1)

The Effect Of Giving Black Rice Extract (Oryza Sativa L.) On Obesity Conditions Study Of Lipopolysaccharide (Lps) Levels And Tight Junction Protein-1 (Zo-1) Levels

Disusun dan diajukan
Oleh

Armanto Makmun
C013172007

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 11 Februari 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui
Promotor,

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

Co. Promotor

Prof. Dr. dr. Nurpudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK(K)
Nip. 19561020 198503 2 001

Co. Promotor

dr. Aminuddin, Ph.D, M.Nut & Diet, Sp.GK
Nip. 19760704 200212 1 003

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

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

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
Nip. 19680530 199603 2 001

ABSTRAK

ARMANTO MAKMUN. *Efek Pemberian Ekstrak Beras Hitam (Oriza Sativa L.) pada Kondisi Obesitas: Kajian Kadar Lipopolisakarida (LPS) dan Kadar Tight Junction Protein –1 (ZO-1)* (dibimbing oleh Agussalim Bukhari. Astuti Daud, Aminuddin).

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh pemberian ekstrak beras hitam terhadap kadar lipopolisakarida serum dan kadar *Tight Junction Protein* 1 (ZO-1) kelompok obesitas setelah pemberian ekstrak beras hitam *Oryza sotiva L.* merupakan varietas beras yang memiliki kandungam anthocyanin yang tinggi sehingga memiliki keterkaitan dengan berkurangnya kecenderungan peningkatan berat badan pada masa dewasa

Metode penelitian yang digunakan adalah *Non-Randomizod Control Trial dengan* rancangan *pre and post test*. Penelitian dilakukan di laboratorium penelitian *Hasanuddin University Medical Research Center* Makassar pada bulan Mei sampai dengan April 2021. Sampel sebanyak 30 responden yang terdiri dari 10 responden kelompok normal,10 responden kelompok- obesitas tanpa intervensi dan 10 responden kelompok obesitas dengan intervensi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak beras hitam dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar LPS pada individu dengan obesitas. Ekstrak beras hitam dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) sehingga menurunkan permeabilitas usus pada individu dengan obesitas. Dengan demikian pemberian ekstrak beras hitam dapat menurunkan kadar LPS dan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar *Tight Junction Protein-1* (ZO-1) pada individu dengan obesitas.

Kata kunci: *Oryza sativaL.*, Obesrtas, Mikrobiota Usus, Kadar Lipopolisakarida, kadar Tight Junction Protoin-1 (ZO-1)

UNIVERSITAS HASANUDDIN PUSAT BAHASA 2022

ABSTRACT

ARMANTO MAKMUN. *The Effect of Giving Black Rice (Oryza sativa L.) Extract on Obesity Condition: a Study of Lipopolysaccharide (LPS) Content and Tight Junction Protein-1 (ZO-1) Content* (supervised by Agussalim Bukhari, Astuti Daud and Amunuddin).

The research aims to investigate the *with* effect of giving the black rice extract on the serum lipopolysaccharide content and Tight Junction Protein-1 (ZO-1) content on the obesity group after giving the black rice extract. Oryza sative L. represents a rice variety having a high anthocyanin content, so that it is associated with a reduced tendency to increase body weight in adulthood.

The research used the *non-randomised control trial* with the *pre-test* and *post-test* design. The research was conducted in Hasanuddin University Research Laboratory, Medical Research Centre, Makassar from March to April 2021. Samples were as many as 30 respondents comprising 10 respondents of normal group, 10 respondents of obesity group without intervention, and respondents of obesity group with intervention.

The research result indicates that the black rice extract can have an effect on reducing LPS content in the obese individuals. The black rice extract can influence the Tight Junction Protein-1 (ZO-1) content decrease, so that it decreases the intestinal permeability in the obese individuals. The research also indicates that giving the black rice extract can reduce LPS content and affect the Tight Junction Protein-1 (ZO-1) content decrease in the obese individuals.

Key words: Oryza sativa L., obesity, intestinal microbiota, lipopolysaccharide content, Tight Junction Protein-1 (ZO-1) content

UNIVERSITAS HASANUDDIN
PUSAT BAHASA

KEMENTRIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245
Telp. (0411) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama	: **Armanto Makmun**
Nomor Pokok	: C013172007
Program Studi	: Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang	: S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berrjudul : **Efek Pemberian Ekstrak Beras Hitam (Oryza Sativa L.) Pada Kondisi Obesitas : Kajian Kadar Lipopolisakarida (Lps) dan Kadar Tight Junction Protein-1 (Zo-1)**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebu.

Makassar, 30 Mei 2022
Yang menyatakan,

Armanto Makmun

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan menyebut Asma Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas kasih sayang-Nya penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Untuk ini penulis mengucapkan rasa syukur kehadirat-Nya seraya mengucapkan segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam, dengan terselesaikannya disertasi ini yang merupakan salah satu persyaratan akademik guna memperoleh gelar Doktor dalam Program Ilmu Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Judul yang diangkat dalam disertasi ini adalah "Efek Pemberian Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L*.) pada kondisi Obesitas : Kajian Kadar Lipopolisakarida (LPS) dan Kadar Tight Junction Protein-1 (ZO-1)".

Pada kesempatan ini perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D., Sp. GK(K) sebagai promotor, Prof. Dr.dr. Pudji Astuti Daud, MPH, Sp.GK(K) sebagai Kopromotor I, dr. Aminuddin, Ph.D, M.Nut & Diet, M.Gizi sebagai Kopromotor II, yang dengan tulus hati telah menyediakan waktu memberikan bimbingan, perhatian dan dorongan serta semangat kepada penulis selama menyelesaikan disertasi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih sebesar besarnya kepada para penguji drh. Safarina Malik, Ph.D sebagai penguji eksternal, Prof. Dr. Elly Wahyuddin, DEA, Apt, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS, Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes, Dr. dr. Nu'man As Daud, Sp. PD(K)-GEH 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. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A., Direktur Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Prof Dr. Ir Jamaluddin Jompa, M.Sc. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Prof. dr Budu, Ph.D., SpM (K), 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.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia serta jajaran dan pimpinanya yang telah memberikan izin dan senantiasa memberikan bantuan moril serta motivasi untuk melanjutkan pendidikan. Staf administrasi Prodi S3 Kedokteran Unhas yang telah memberikan bantuan sejak awal hingga akhir penyelesaian studi. Teman-teman seangkatan selama pendidikan yang sudah banyak membantu selama proses penelitian.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada orangtua saya tercinta, Ayahanda Ir. H. Makmun Tongapi (Alm) dan Ibunda Hj. Marnih (Almh) yang telah melahirkan, membesarkan, dan mendidik saya sejak kecil dengan penuh kasih sayang, mereka tetap menginspirasi hingga saya mampu mencapai keadaan seperti ini. Ucapan terima kasih yang tulus kepada mertua saya Ayahanda Ir. H. Abdul Rachim Rauf, MP

dan Ibunda Hj. Mudriany Beddu, SH., MH.

Rasa bangga dan terima kasih yang tidak terhingga kepada mereka yang amat saya sayangi, istri dr. Senja Puspita Sari R., S.Sos., M.kes dan anak-anakku tersayang Naurah Zahra Siddiqah, Syafiq Siddiq, dan Zahra Siddiqah atas segala pengertian, kesabaran, dukungan doa dan cinta kasih yang tidak ternilai.

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

Makassar, Februari 2022

Armanto Makmun

ABSTRAK

ARMANTO MAKMUN. Efek Pemberian Ekstrak Beras Hitam (*Oryza sativa L.*) pada kondisi Obesitas : Kajian Kadar Lipopolisakarida (LPS) dan Kadar Tight Junction Protein-1 (ZO-1) (dibimbing oleh Agussalim Bukhari, Nurpudji Astuti Daud, Aminuddin)

Oryza sativa L. merupakan varietas beras yang memiliki kandungan anthocyanin yang tinggi sehingga memiliki keterkaitan dengan berkurangnya kecenderungan peningkatan berat badan pada masa dewasa. Tujuan penelitian ini adalah Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak beras hitam terhadap kadar lipopolisakarida serum dan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas setelah pemberian ekstrak beras hitam. Desain penelitian yang digunakan adalah *Non-Randomized Control Trial* dengan rancangan *pre and post test.* Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian *Hasanuddin University Medical Research Center* Makassar pada bulan Maret sampai dengan April 2021. Sampel sebanyak 30 responden yang terdiri dari 10 responden kelompok normal, 10 responden kelompok obesitas tanpa intervensi dan 10 responden kelompok obesitas dengan intervensi. Hasil penelitian menunjukkan 1) Ekstrak beras hitam dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar LPS 132,15 ± 43,65 (P = 0,036) pada individu dengan obesitas; 2) Ekstrak beras hitam dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) 13,16 ± 7,99 (P = 0,040). Dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak beras hitam dapat menurunkan kadar LPS dan memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada individu dengan obesitas.

Kata kunci: *Oryza sativa L.*, mikrobiota usus, kadar Lipopolisakarida, kadar *Tight Junction Protein-1* (ZO-1)

ABSTRACT

ARMANTO MAKMUN. The Effect of Giving Black Rice Extract (Oryza sativa L.) on Obesity Conditions : Study of Lipopolysaccharide (LPS) Levels and Tight Junction Protein-1 (ZO-1) Levels (Supervised by Agussalim Bukhari, Nurpudji Astuti Daud, Aminuddin)

Oryza sativa L. is a rice variety that has a high anthocyanin content so it is associated with decreased body weight gain in adulthood. The purpose of this study was to determine the effect of giving black rice extract on serum lipopolysaccharide levels and *Tight Junction Protein-1* (ZO-1) levels in the obese group after giving black rice extract. The research design used was a *Non-Randomized Control Trial* with a pre and post-test design. The study was conducted at the Medical Research Center Research Laboratory, Hasanuddin University Makassar from March to April 2021. The sample consisted of 30 respondents consisting of 10 respondents from the normal group, 10 respondents from the obese group without intervention, and 10 respondents from the obese group with intervention. The results showed 1) Black rice extract can affect reducing *Lipopolysaccharide* (LPS) levels 132,15 ± 43,65 (P = 0,036) in obese individuals; 2) Black rice extract can affect reducing the levels of *Tight Junction Protein-1* (ZO-1) 13,16 ± 7,99 (P = 0,040). It can be said that offering black rice extract can reduce LPS and have an effect on decreasing the levels of *Tight Junction Protein-1* (ZO-1) in obese people.

Key word : Oryza sativa L., gut microbiota, Lipopolysaccharide (LPS) levels, Tight Junction Protein-1 (ZO-1) levels

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL i
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI iii
PRAKATA vii
ABSTRAK x
ABSTRACT xi
DAFTAR ISI xii
DAFTAR TABEL xv
DAFTAR GAMBAR xvi
DAFTAR LAMPIRAN xv
BAB I PENDAHULUAN 1
1,1 Latar Belakang Penelitian 1
1.2 Rumusan Masalah 6
1.2.1.Apakah terdapat perbedaan kadar lipopolisakarida serum dan Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok normal dan kelompok obesitas? 6
1.2.2.Apakah terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar LPS serum pada kelompok obesitas? 6
1.2.3.Apakah terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar dan Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas? 6
1.3 Tujuan Penelitian 7
1.3.1 Tujuan Umum 7
1.3.2 Tujuan Khusus 7
1.4 Manfaat Penelitian 7
1.4.1.Manfaat Pengembangan Ilmu 7
1.4.2.Manfaat Aplikasi 8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 13
2.1 Tinjauan Umum tentang Obesitas 14
2.1.1 Definisi Obesitas 14

2.1.2 Epidemiologi Obesitas 15
2.1.3 Etiologi Obesitas 16
2.1.4 Dampak Obesitas 17
2.2 Tinjauan Umum tentang Beras Hitam 18
2.3 Tinjauan tentang Profil Mikrobiota Usus 21
2.4 Tinjauan tentang Lipopolisakarida pada Obesitas 25
2.5 Tinjauan tentang Beras Hitam dan Kaitannya dengan Profil Mikrobiota, Kadar LPS dan Sitokin Proinflamasi 31
2.6 Kerangka Teori 36
BAB III KERANGKA KONSEP 38
3.1 Kerangka Konsep 38
3.2 Definisi Operasional Variabel 39
3.2.1 Variabel Bebas 39
3.2.2 Variabel Terikat 39
3.3 Hipotesis Penelitian 42
BAB IV METODE PENELITIAN 43
4.1 Rancangan Penelitian 43
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian 43
4.3 Populasi dan Sampel 44
4.4 Variabel Penelitian 45
4.5 Instrumen Penelitian 45
4.6 Alur Penelitian 46
4.6.1 Persiapan 46
4.6.2 Penyiapan Bahan 46
4.6.3 Ekstraksi Beras Hitam 46
4.6.4 Penentuan Kandungan Fenolik Total 46
4.6.7 Skrining Sampel 48
4.6.8 Pembagian kelompok perlakuan 48

4.6.9 Pengambilan Spesimen darah 48
4.6.10 Intervensi 49
4.6.11 Pengukuran LPS Serum 49
4.6.12 Pengukuran Kadar Tight Junction Protein-1 (ZO-1) 49
4.6.13 Pengambilan data akhir 49
4.6.14 Pengolahan data 50
4.6.15 Alur Penelitian 51
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN 52
5.1.1 Lokasi Pengambilan Sampel dan Pemeriksaan Laboratorium 52
5.1.2 Hasil Uji Senyawa Aktif Beras Hitam (Oryza sativa. L) 53
5.1.3 Uji Normalitas Data 54
5.1.4 Karakteristik Kelompok Intervensi Dan Kelompok Kontrol 55
5.1.5 Perbandingan Kadar LPS Pada Kelompok Normal, Kontrol Dan 56
Intervensi. 56
5.1.6 Perbandingan Kadar Tight Junction Protein-1 (ZO-1) Pada Kelompok Normal, Kontrol Dan Intervensi 60
5.2 Pembahasan 64
5.2.1 Kadar Lipopolisakarida dan Efek Uji Klinis 65
5.2.2 Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) dan Efek Uji Klinis 68
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN 71
6.1 Kesimpulan 71
6.2 Saran 71
DAFTAR PUSTAKA 72
LAMPIRAN 68

DAFTAR TABEL

Tabel 1 Kelompok sampel 43

Tabel 2 Kelompok Sampel..... 53

Tabel 3 Data Kromatogram 54

Tabel 4 Karakteristik IMT 55

Tabel 5 Karakteristik Usia..... 55

Tabel 6 Karakteristik Riwayat Keluarga..... 56

Tabel 7 Profil kadar LPS pada ketiga kelompok sampel 59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Perubahan Komposisi Mikrobiota Usus Berdasarkan Usia.....23

Gambar 2. Peran Mikrobiota Usus 23

Gambar 3. Keterkaitan Perubahan Komposisi Mikrobiota dan Aktivasi TLR4 oleh LPS 24

Gambar 4. Efek Antosianin dan Perubahan Mikrobiota Usus serta Kaitannya dengan LPS.....30

Gambar 5. Peranan dalam memodulasi ekspresi sitokin proinflamasi 31

Gambar 6. Mekanisme Pengaruh terhadap Produksi SItokin Proinflamasi 34

Gambar 7. Bagan Kerangka Teori.....37

Gambar 8 Bagan Kerangka Konsep.....38

Gambar 9 Bagan Alur Penelitian 51

Gambar 10 Distribusi kadar LPS pada kelompok normal, Obesitas dan kelompok intervensi.....57

Gambar 11 Distribusi kadar LPS pada kelompok normal, Obesitas dan kelompok intervensi setelah pemberian ektrak beras hitam.....58

Gambar 12 Perubahan kadar LPS pada kelompok normal, Obesitas dan kelompok intervensi sebelum dan setelah pemberian ektrak beras hitam60

Gambar 13 Distribusi kadar ZO-1 pada kelompok normal, Obesitas dan kelompok intervensi.....61

Gambar 14 Distribusi kadar ZO-1 pada kelompok normal, Obesitas dan kelompok intervensi setelah pemberian ektrak beras hitam.....62
Gambar 15 Perubahan kadar ZO-1 pada kelompok normal, Obesitas dan intervensi sebelum dan setelah pemberian ektrak beras hitam 64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Persetujuan Etik 69

Lampiran 2 Surat Keterangan Izin Penelitian 70

Lampiran 3 *Out put* Data SPSS 71

Lampiran 4 Daftar Food Recall 191

Lampiran 5 Daftar Sampel LPS 192

Lampiran 6 Daftar Sampel ZO-1 196

Lampiran 7 Laporan Pengujian Analisis Cemaran Mikroba/Mikrobiologi 198

Lampiran 8 Data Hasil Analisa Kadar Etanol 199

Lampiran 9 Surat Pencatatan CIptaan 200

Lampiran 10 Foto Kegiatan Penelitian 203

BAB I

PENDAHULUAN

1,1 Latar Belakang Penelitian

Obesitas merupakan akumulasi lemak abnormal atau berlebihan yang menimbulkan risiko terhadap kesehatan. Obesitas dianggap sebagai tantangan kesehatan masyarakat yang prevalensinya terus meningkat dan mendasari berbagai penyakit metabolik dan kardiovaskuler.(Liu, Cervantes and Liu, 2017) ~~Secara klinis, obesitas didefinisikan dalam terminologi indeks massa tubuh (IMT). Di dunia, sedikitnya 2,8 juta orang meninggal setiap tahun akibat berat badan lebih atau obesitas. Obesitas dapat memicu timbulnya gangguan metabolik lainnya seperti diabetes, penyakit kardiovaskuler, dan lain-lain.~~

Prevalensi obesitas telah melonjak tinggi pada sebagian besar negara-negara barat lebih dari 30 tahun terakhir. (Zhang *et al.*, 2016) Sebelumnya penderita obesitas menjadi masalah kesehatan bagi status ekonomi sosial tinggi tetapi belakangan ini bergeser ke status ekonomi rendah, obesitas merupakan faktor risiko beberapa penyakit penyebab kematian seperti penyakit jantung, stroke, diabetes dan berbagai jenis kanker. Menurut studi *Global Burden of Disease*, 4,7 juta orang meninggal pada tahun 2017 akibat komplikasi dari obesitas. Secara global, 8%

kematian pada tahun 2017 adalah akibat dari komplikasi dari obesitas.(Hannah Ritchie and Max Roser, 2020)

Data *World Health Organization (WHO)* Pada 2016, lebih dari 1,9 miliar orang dewasa berusia 18 tahun ke atas mengalami kelebihan berat badan sekitar 39% dan 13% mengalami obesitas dari populasi dunia. Prevalensi obesitas di seluruh dunia hampir tiga kali lipat antara tahun 1975 dan 2016. Dahulu negara Afrika yang dikenal sebagai penduduk yang paling banyak *underweight* sejak tahun 2000 jumlah anak yang kelebihan berat badan di bawah 5 tahun telah meningkat hampir 50 persen, ini menandakan bahwa kelebihan berat badan bukan hanya ditunjukkan pada status sosial ekonomi tinggi atau negara berkembang. Dari jumlah tersebut, lebih dari 650 juta orang dewasa mengalami obesitas. Lebih dari 340 juta anak-anak dan remaja berusia 5-19 tahun kelebihan berat badan atau obesitas pada tahun 2016.(WHO, 2018)

Di Indonesia, menurut data Riset Kesehatan Dasar, pada tahun 2018, prevalensi berat badan lebih pada orang dewasa (>18 tahun) sebesar 13,6 persen, naik 58 persen dari tahun 2007 yaitu sebesar 8,6 persen, sedangkan prevalensi obesitas pada orang dewasa tahun 2018 sebesar 21,8 persen, terjadi peningkatan dua kali lipat dari tahun 2007 yaitu sebesar 10,5 persen. Jika ditinjau prevalensi obesitas pada orang dewasa (>18 tahun) untuk sebaran wilayah Indonesia, Sulawesi Selatan menempati peringkat ke-16 yaitu sekitar 18 persen. Ditinjau dari jenis obesitas, obesitas sentral pada umur ≥ 15 tahun sebesar 31 persen pada

tahun 2018, naik 65 persen dari tahun 2007 (18,8%) sedangkan prevalensi obesitas sentral pada umur ≥18 tahun untuk sebaran wilayah Indonesia, Sulawesi Selatan menempati peringkat ke-19 yaitu sekitar 32%.(Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019)

Obesitas merupakan faktor risiko terbesar sejumlah penyakit kronik, seperti diabetes, penyakit kardiovaskuler dan kanker. Obesitas pada anak-anak menarik banyak perhatian karena hal ini berhubungan dengan tingginya peluang mengalami obesitas, kematian awal, dan disabilitas pada masa dewasa.(Levesque, 2018) Peningkatan prevalensi ~~gangguan metabolik~~obesitas yang terjadi dalam beberapa dekade terakhir terkait dengan adanya perubahan gaya hidup, yakni kurangnya aktivitas fisik dan peningkatan konsumsi berlebihan makanan yang mengandung lemak tinggi. (Mudry J,2016) Traktus gastrointestinal merupakan organ pertama yang terpapar dengan komponen diet. Sehingga, modulasi mikrobiota kompleks dapat memiliki implikasi yang penting, baik terhadap kesehatan lokal maupun sistemik. Modifikasi mikrobiota usus dapat mengurangi atau berkontribusi terhadap proses inflamasi dan peningkatan berat badan. Perubahan komposisi mikrobiota akibat konsumsi diet tinggi lemak dapat menyebabkan kerusakan integritas lapisan pelindung kolon, sehingga menyebabkan translokasi produk bakteri berupa lipopolisakarida (LPS) dan menyebabkan respons inflamasi yang melibatkan aktivasi NFkB. Aktivasi jalur NFkB dapat meningkatkan produksi sitokin proinflamasi kolon yang selanjutnya berkontribusi terhadap peningkatan sitokin

proinflamasi darah. Aktivasi kaskade pensinyalan oleh sitokin proinflamasi akan berdampak terhadap timbulnya kondisi inflamasi kronik derajat ringan dan resistensi insulin.(Jin and Flavell, 2013; Morais *et al.*, 2016)

Mengingat dampak yang ditimbulkan dari obesitas akibat konsumsi berlebihan makanan berkalori tinggi, berbagai pendekatan penanganan obesitas telah banyak diteliti. Namun, pendekatan penanganan farmakologis yang ditemukan ternyata memiliki efek samping berbahaya. Selain itu, dengan melakukan diet pembatasan kalori 300-500 kkal/hari dapat menurunkan obesitas. Target untuk sebagian besar wanita : 1200-1500 kkal/hari. Target untuk kebanyakan pria ; 1500-1800 kkal/hari. Selain itu, melakukan aktivitas fisik serta melakukan modifikasi perilaku dengan pemantauan harian makan dan aktivitas. (Barborka, 2019) Pendekatan terkini yang aman dalam penanganan proses inflamasi pada obesitas melibatkan penggunaan bahan aktif dari pangan lokal. Beras hitam merupakan pangan lokal yang berasal dari Sulawesi Selatan. Tingginya kandungan flavonoid yang terdapat pada beras hitam berkontribusi terhadap perannya dalam modulasi inflamasi pada kondisi obesitas dan penyakit kronik terkait inflamasi lainnya.(Morais *et al.*, 2016)

~~Pada kondisi normal, jika terdapat lipid berlebihan di sirkulasi, jaringan adiposa berperan dalam transportasi dan penyimpanan lipid di dalam adiposit, dalam bentuk trigliserida. Hal ini berperan untuk mencegah penyimpanan lipid ektopik oleh jaringan lain, seperti otot rangka dan hepar, dan mencegah lipotoksisitas. Sedangkan, jika tuntutan~~

~~kebutuhan energi meningkat, jaringan adiposa berperan sebagai sumber energi yang melepaskan lipid dalam bentuk NEFA. Jaringan adiposa yang inflamasi melepaskan sejumlah sitokin proinflamasi, meliputi *tumor necrosis factor α* (TNF-α) dan IL-6. Peningkatan TNF-α dan IL-6 menyebabkan disfungsi adiposa putih, yang mengakibatkan pelepasan NEFA berlebihan ke dalam sirkulasi. Hal ini menyebabkan penyimpanan lipid ektopik dan lipotoksisitas pada organ metabolik vital, seperti hepar dan otot rangka. Peningkatan kadar NEFA dalam sirkulasi ini juga akan mengaktivasi jalur pensinyalan c-Jun N-terminal Kinase, yang selanjutnya menyebabkan resistensi insulin melalui fosforilasi Ser-307 pada *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) atau inhibisi fosforilasi Akt.(Kwok KHM dkk, 2016)~~

~~berdasarkan kadar *F2-isoprostanes* plasma, ekspresi PRMT-1, DDAH-1 dan kadar ADMA plasma.~~

1.2 Rumusan Masalah

Obesitas merupakan kondisi inflamasi derajat ringan yang dicirikan dengan adanya peningkatan sitokin proinflamasi dan kadar lipopolisakarida di dalam darah (endotoksemia). Kandungan antosianin dalam ekstrak beras hitam memiliki khasiat antioksidan dan anti inflamasi, sehingga dapat dijadikan sebagai pendekatan terapeutik pada kondisi obesitas. Berdasarkan uraian permasalahan tersebut, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut~~Masalah di atas dapat dirumuskan~~

1.2.1.Apakah terdapat perbedaan kadar lipopolisakarida serum dan Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok normal dan kelompok obesitas?

1.2.2~~2~~.Apakah terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar LPS serum pada kelompok obesitas?

1.2.3.Apakah terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar dan Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak beras hitam terhadap ~~kadar lipopolisakarida serum dan~~ kadar Lipopolisakarida Serum dan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas setelah pemberian ekstrak beras hitam.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Untuk mengetahui perbedaan kadar lipopolisakarida serum antara kelompok normal dan kelompok obesitas.

1.3.2.2 Untuk mengetahui perbedaan ~~kadar lipopolisakarida s~~Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) antara kelompok normal dan kelompok obesitas.

1.3.2.4~~2~~ Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak beras hitam 5,6 gram terhadap kadar LPS serum pada kelompok obesitas.

1.3.2.5 Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1.Manfaat Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi teori tentang pengaruh efektivitas ekstrak beras hitam terhadap perubahan kadar Lipopolisakarida (LPS) serum dan dan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas.

1.4.2.Manfaat Aplikasi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data awal untuk penelitian lanjutan pada manusia mengenai pengaruh pemberian ekstrak beras hitam terhadap perubahan kadar Lipopolisakarida (LPS) Serum dan dan kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) dalam rangka upaya pengembangan strategi pencegahan obesitas melalui pendekatan penggunaan bahan makanan alami yang mengandung antioksidan.

~~2.3 Kerangka Teori~~

Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt, Bold

TINJAUAN PUSTAKA

2,1 Tinjauan Umum tentang Obesitas

2.1.1 Definisi Obesitas

Menurut WHO, obesitas dan kegemukan didefinisikan sebagai akumulasi lemak berlebihan atau abnormal yang menimbulkan risiko bagi kesehatan.(WHO, 2018) Obesitas merupakan peningkatan berat badan karena asupan yang melampaui kebutuhan fisik yang ditandai dengan penimbunan lemak tubuh yang berlebih. Salah satu penyebab dari obesitas adalah adanya kelebihan asupan energi akibat dari tingginya frekuensi konsumsi makanan tinggi kalori.(Handayani *et al.*, 2019)

Obesitas merupakan kondisi medis yang ditandai dengan berat badan dengan indeks massa tubuh (IMT) yang di atas normal. Obesitas dan kegemukan merupakan faktor penentu penting dari kesehatan yang menyebabkan perubahan metabolik yang merugikan dan meningkatkan risiko penyakit tidak menular.(Jannah and Utami, 2018) Salah satu penilaian obesitas yaitu indeks massa tubuh (IMT), dimana berat badan dalam kilogram dibagi dengan tinggi badan dalam meter kuadrat (kg/m^2).(WHO, 2018)

Namun, untuk populasi Asia Pasifik, kriteria penilaian obesitas yang digunakan sedikit berbeda dengan WHO, yaitu sebagai berikut: (a) berat

badan normal (18.5-22.9), (b) kegemukan (23-24.9), dan (c) obesitas (≥25).(Amruth and Kumar, 2019)

2.1.2 Epidemiologi Obesitas

Kelebihan berat badan dan obesitas lebih berpotensi meningkatkan risiko kematian dibandingan dengan kekurangan berat badan. Menurut WHO (2016), prevalensi obesitas di dunia meningkat tiga kali lipat sejak 1975. Pada tahun 2016, lebih dari 1,9 miliar orang yang berusia 18 tahun ke atas mengalami kelebihan berat badan. Dari jumlah tersebut, lebih dari 650 juta mengalami obesitas dimana lebih sering terjadi pada wanita dibandingkan pria. Di tahun yang sama, sekitar 41 juta anak di bawah usia 5 tahun kelebihan berat badan atau obesitas, sedangkan di kalangan anak-anak dan remaja berusia 5-19 tahun terdapat lebih dari 340 juta yang kelebihan berat badan atau obesitas dan terjadi peningkatan dari hanya 4% pada tahun 1975 menjadi lebih dari 18% pada tahun 2016.(WHO, 2018)

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 prevalensi obesitas pada umur 15 tahun ke atas di Indonesia adalah 26,6% dan terjadi peningkatan menjadi 31% pada tahun 2018 dimana angka kejadiannya lebih tinggi di kota dibandingkan di desa. Prevalensi tertinggi yaitu pada provinsi DKI Jakarta dan Sulawesi Utara yaitu lebih dari 40% dan prevalensi terendah di Nusa Tenggara Timur (NTT) sebesar 19,3%, sedangkan pada provinsi Sulawesi Selatan prevalensinya termasuk tinggi yaitu sekitar 31,6%.(Kementerian Kesehatan RI, 2018)

2.1.3 Etiologi Obesitas

Perubahan gaya hidup, yakni dari *traditional lifestyle* berubah menjadi *sedentary lifestyle* yaitu kehidupan dengan aktivitas fisik sangat kurang menyebabkan kejadian *overweight* atau kegemukan yang lama kelamaan akan menjadi obesitas.(Jannah and Utami, 2018) Menurut Barasi (2007) dalam Kurdanti (2015) menyatakan bahwa faktor penyebab obesitas pada remaja bersifat multifaktorial. Peningkatan konsumsi makanan cepat saji (*fast food*), rendahnya aktivitas fisik, faktor genetik, pengaruh iklan, faktor psikologis, status sosial ekonomi, program diet, usia, dan jenis kelamin merupakan faktor-faktor yang berkontribusi pada perubahan keseimbangan energi dan berujung pada kejadian obesitas.(Kurdanti *et al.*, 2015)

Menurut Jaacks (2015) dalam Prasad (2016), ketidakseimbangan energi antara yang dikonsumsi dan dikeluarkan merupakan penyebab utama dibalik kelebihan berat badan dan obesitas. Pola makan dan perilaku sedenter dikatakan telah menyebabkan meningkatnya prevalensi kelebihan berat badan atau kegemukan dan obesitas.(Prasad, Bazroy and Singh, 2016) Kurangnya aktivitas fisik menyebabkan banyak energi yang tersimpan sebagai lemak, sehingga pada orang-orang yang kurang melakukan aktivitas dengan pola makan konsumsi tinggi cenderung menjadi gemuk.(Jannah and Utami, 2018) Asupan energi merupakan faktor risiko kejadian obesitas pada remaja sejalan dengan hasil penelitian yang menemukan asupan energi berlebih lebih banyak ditemukan pada

kelompok obesitas dibandingkan kelompok non-obesitas.(Kurdanti *et al.*, 2015)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jannah (2018), ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan obesitas.

a. Genetik

Obesitas cenderung diturunkan, hal ini dikarenakan anggota keluarga bukan hanya berbagi gen namun juga pola makan dan gaya hidup sehingga mendorong terjadinya obesitas.

b. Pendapatan

Orang tua yang mempunyai pendapatan perbulan tinggi akan mempunyai daya beli yang tinggi pula, sehingga memberikan peluang yang lebih besar untuk memilih berbagai jenis makanan. Kebanyakan makanan yang menjadi pilihan anak dan orang tua tersebut mengandung kalori dan lemak yang tinggi seperti berbagai jenis *fast food*.

c. Aktivitas Fisik

Aktivitas sehari-hari sangat berpengaruh terjadinya obesitas pada anak, dengan meningkatnya kemajuan teknologi di zaman sekarang membuat anak menjadi kurang aktif untuk berolahraga karena di waktu luang anak lebih senang menghabiskan waktu luang untuk menonton dan bermain *video game* atau gadget di rumah.

2.1.4 Dampak Obesitas

Obesitas dapat menyebabkan berbagai masalah fisik maupun psikis. Obesitas meningkatkan risiko terjadinya sejumlah penyakit

menahun seperti diabetes tipe 2, tekanan darah tinggi, stroke, serangan jantung, gagal jantung, kanker (jenis kanker tertentu, misalnya kanker prostat dan kanker usus besar), batu kandung empedu, batu kandung kemih, kegagalan bernafas secara normal ketika tidur, berkurangnya kadar oksigen dalam darah. Selain masalah fisik masalah psikis juga terjadi. Karena masalah fisik di atas, anak-anak obesitas sering menjadi sarana *bully* teman-temannya atau lingkungan sekitar, hal ini menjadikan citra diri negatif cenderung akan muncul, rasa rendah diri, merasa berbeda, tidak bisa bersaing karena keterbatasan fisik, dan masalah psikologis lain. Anak-anak obesitas juga cenderung tidak lincah, mudah capek, dan mengantuk. Hal ini akan sangat berdampak negatif pada diri mereka. Selain itu, apa yang ada dalam pikiran seseorang juga dapat mempengaruhi kebiasaan makannya. Banyak orang yang memberikan reaksi terhadap emosinya dengan makan, seperti ketika dalam keadaan tertekan, ia menjadi banyak makan atau sebaliknya.(Sajawandi, 2015)

2.2 Tinjauan Umum tentang Beras Hitam

Klasifikasi beras hitam (*Oryza sativa L.*)

Kingdom : *Plantae*

Divisi : *Magnoliophyta*

Kelas : *Monocotyledoneae*

Ordo : *Glumiflorae*

Famili : *Poaceae/Gramineae*

Suku : *Oryzeae*

Genus : Oryza Spesies : *Oryza sativa L*.

Sub Spesies : *Japonica / sinica* (Methylglucose and Tego, 2020)

Oryza sativa L merupakan varietas beras yang berasal dan banyak ditemukan di Asia dan diekspor ke negara-negara lain. Meskipun beras putih merupakan pangan pokok yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia, beberapa negara di Asia Tenggara juga mengonsumsi beras berpigmentasi tinggi, seperti beras hitam. Konsumsi beras hitam banyak diminati oleh karena tingginya senyawa bioaktif yang penting untuk kesehatan. Senyawa bioaktif utama yang paling banyak ditemukan pada beras hitam meliputi *gallic, protocatechuic, hydroxybenzoic, vanilic acid, cyanidin 3-O-glucoside, peonidin-3-O-glucoside, proanthocyanidin, flavanol, catechin, epicatechin, carotenoid, and γ-oryzanol*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam beras hitam menunjukkan aktivitas anti inflamasi, antioksidan, anti kanker, proteksi sel endotel dan anti *aging*.(Limtrakul, Semmarath and Mapoung, 2016)

Beras hitam dicirikan dengan kandungan *anthocyanin* yang tinggi. *Anthocyanin* utama yang banyak ditemukan pada beras hitam meliputi *cyanidin 3-O-glucoside (6.3 mg/g) dan peonidin-3-O-glucoside (3.6 mg/g). Anthocyanidine*, struktur dasar *anthocyanine*, terdiri atas cincin aromatik yang berikatan dengan cincin *heterocyclic* yang mengandung oksigen. Oksigen ini membentuk ikatan dengan ikatan karbon pada cincin aromatik ketiga. Karakteristik *structural anthocyanin* menyebabkan senyawa ini

sangat reaktif dengan *reactive oxygen species* (ROS). Konsentrasi flavon dan flavonol juga ditemukan lebih tinggi pada beras hitam dibandingkan dengan varian beras lainnya. Penelitian lain melaporkan bahwa rerata kandungan *anthocyanin* 35 kali lipat lebih tinggi pada beras hitam dibandingkan dengan beras lainnya. Selain kandungan senyawa bioaktif, beras hitam juga dikenal dengan kandungan nutrisi yang tinggi mencakup zat besi, dan vitamin. (Limtrakul, Semmarath and Mapoung, 2016)

Beras hitam mengandung protein dan asam amino esensial yang lebih tinggi dibandingkan dengan beras putih. Asam amino berperan utama dalam faktor diet individu untuk memodifikasi risiko terhadap perkembangan kondisi pre-diabetes. Selain itu, kandungan *anthocyanin* dalam beras hitam dilaporkan dapat menginhibisi kadar enzim *α-glucosidase* dan *α-amylase* yang merupakan enzim utama yang berhubungan erat dengan kadar glukosa postprandial. Oleh karena itu beras hitam dapat digunakan dalam manajemen diabetes. *Anthocyanin* dari bahan alami juga dapat mencapai kolon dan berperan sebagai kandidat terapi nutrisi pada gangguan traktus gastrointestinal. *Anthocyanin* dalam usus dapat mengalami distorsi sebagai asam fenolik dengan pemotongan cincin, dehidroksilasi, dan reaksi metilasi oleh mikrobiota usus. Senyawa fenol ini terbukti dalam meningkatkan pertumbuhan bakteri yang bermanfaat dan menginhibisi pertumbuhan bakteri yang buruk bagi tubuh. *Cyanidine-3-O-glucoside* dan *β-glucoside*

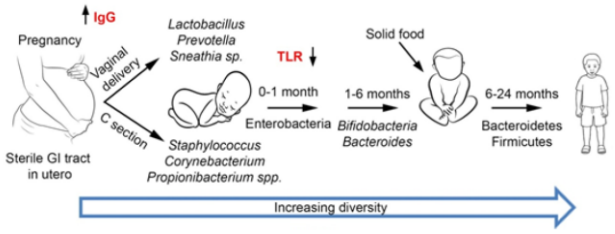
menyediakan energi bagi bakteri dan meningkatkan aktivitas prebiotik.(Prasad, Sharavanan and Sivaraj, 2019)

Beras hitam juga kaya akan asam fenolik yang umumya dikategorikan ke dalam bentuk asam fenolik bebas dan asam fenolik terikat. Asam fenolik bebas dapat berupa asam *cinnamic*, *protocatechuic* dan *gallic*, sedangkan asam fenolik terikat dapat berupa asam *ferulic*, *coumaric* dan *caffeic*. Di antara asam fenolik bebas, *protocatechuic* merupaka yang paling dominan (81-90% dari total asam fenolik bebas), sementara asam *ferulic* merupakan jenis asam fenolik terikat yang paling banyak ditemukan (sekitar 60%) pada beras hitam. Konsumsi beras putih memiliki hubungan dengan peningkatan risiko perkembangan diabetes mellitus tipe 2 dan peningkatan risiko gangguan homeostasis glukosa. Namun, konsumsi beras hitam menarik perhatian disebabkan rendahnya respons glukosa darah postprandial akibat komponen senyawa fenolik yang berperan dalam inhibisi aktivitas enzim *α-glucosidase* dan *α-amylase* pankreas.(Ito and Lacerda, 2019)

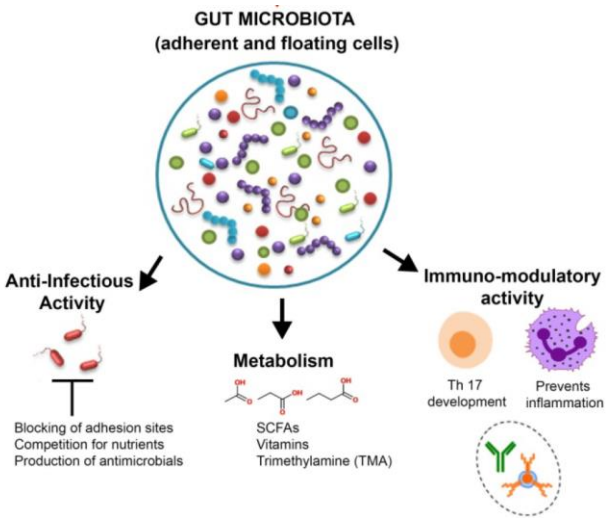
2.3 Tinjauan tentang Profil Mikrobiota Usus

Traktus gastrointestinal mengandung setidaknya 10^{14} bakteri, dengan densitas tertinggi ditunjukkan pada usus besar. Komposisi mikrobiota traktus gastrointestinal dipengaruhi oleh banyak faktor meliputi genetik, jenis kelamin, usia, tinggi, berat, faktor makanan, sistem imun, konsistensi feses, tidur, riwayat pengobatan, kondisi etnogeografis dan sosioekonomi, kondisi *sanitary*, kebiasaan merokok, dan penggunaan antibiotik. Pada

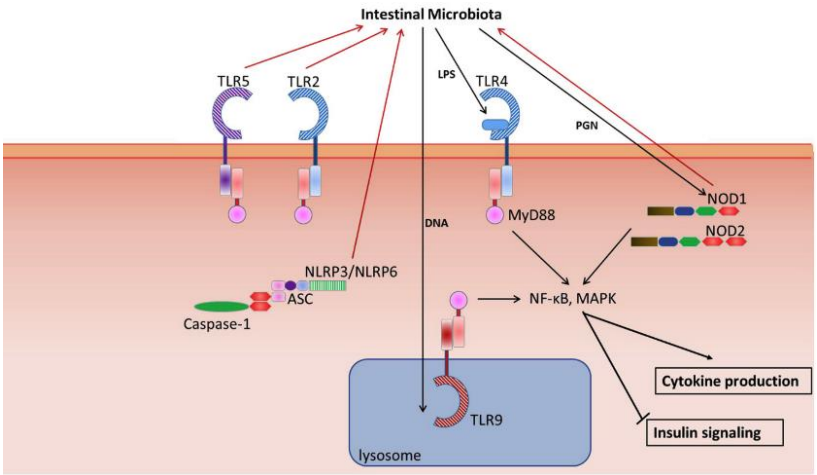
tahun-tahun pertama kehidupan, mikrobiota utamanya dipengaruhi oleh metode persalinan dan jenis *feeding.* Pada usia 2-3 tahun, mikrobiota menyerupai mikrobiota pada orang dewasa, yang mana *Bacteroidetes* dan *Firmicutes* sebagai filum utama **(Gambar 1.)** Mikrobiota usus berfungsi sebagai anti infeksi, imunomodulasi dan dalam proses metabolisme **(Gambar 2.)** Salah satu aktivitas metabolik utama mikrobiota traktus gastrointestinal adalah produksi *short chain fatty acid* (SCFA) non gas. SCFA ini dapat berinteraksi dengan *host* melalui beberapa jalur, sehingga memengaruhi proses penting seperti inflamasi, ekspresi protein *tight junction* , dan regulasi enteroendokrin. Selain itu, diketahui bahwa SCFA memiliki peran penting dalam menjaga pH asam yang memungkinkan untuk proliferasi spesies bakteri tertentu. (Lazar *et al.*, 2019)



Gambar 1. Perubahan Komposisi Mikrobiota Usus Berdasarkan Usia
sumber : (Lazar *et al.*, 2019)



Gambar 2. Peran Mikrobiota Usus
Sumber : (Lazar *et al.*, 2019)



Gambar 3. Keterkaitan Perubahan Komposisi Mikrobiota dan Aktivasi TLR4 oleh LPS
Sumber : (Jin and Flavell, 2013)

Keterkaitan obesitas dengan perubahan komposisi mikrobiota usus dan LPS ditunjukkan dalam **(Gambar 3)** TLR4, TLR9, dan NOD2 dapat diaktivasi oleh LPS, DNA bakteri dan *peptidoglycan* yang berasal dari mikrobiota usus. Aktivasi reseptor tersebut mengakibatkan produksi sitokin proinflamasi dan inhibisi pensinyalan insulin melalui jalur NF-kB dan MAPK. Namun, di sisi lain, *Tool-Like Receptor* (TLR) dan *Nod-Like Receptor* (NLR) juga dapat meregulasi homeostasis komunitas mikrobiota usus. Gangguan pada TLR2, TLR5, NOD1/2 dan inflamasom NLRP3/NLRP6 juga dapat menyebabkan perubahan komposisi mikrobiota usus.(Jin and Flavell, 2013)

2.4 Tinjauan tentang Lipopolisakarida pada Obesitas

Lipopolisakarida merupakan komponen membran terluar bakteri gram negatif dan diketahui dapat menginduksi sejumlah reaksi inflamasi melalui aktivasi *Toll-like receptor* 4 (TLR4). Injeksi LPS ke dalam darah manusia memicu respons inflamasi. Pada individu dengan obesitas ditunjukkan adanya kadar LPS darah yang lebih tinggi dibandingkan dengan individu sehat. Traktus gastrointestinal memiliki sistem proteksi atau pelindung yang terdiri atas lapisan *mucin* dan sel epitel. Dengan demikian meskipun terdapat peningkatan jumlah bakteri gram negatif yang menghasilkan LPS, bakteri ini cenderung sulit untuk menginvasi tubuh.(Fuke *et al.*, 2019)

Lipopolisakarida merupakan molekul amfipati yang memiliki regio hidrofilik dan hidrofobik. Diperkirakan traktus gastrointestinal manusia mengandung sekitar 1 gram LPS. LPS digambarkan sebagai endotoksin yang dapat melintas masuk ke dalam sirkulasi baik disebabkan oleh infeksi lokal maupun infeksi sistemik bakteri gram negatif eksogen, melalui absorpsi paraseluler akibat lisis sel bakteri gram negatif endogen di usus, dan melalui transpor transeluler endotoksin endogen akibat pola makan diurnal. Di darah, LPS berada dalam kadar yang sangat rendah yaitu sekitar 1-200 pg/ml. Peningkatan kronik kadar LPS 10-50 kali lebih rendah dibanding pada kondisi sepsis didefinisikan sebagai kondisi endotoksemia metabolik. Peningkatan kadar LPS di dalam sirkulasi dapat disebabkan oleh tingginya proses lisis membran bakteri gram negatif maupun

peningkatan jumlah bakteri gram negatif. LPS memiliki pola molekuler terkait patogen, Lipid A, yang dapat menginisiasi kaskade pensinyalan dan menyebabkan aktivasi beberapa jalur proinflamasi serta meningkatkan stress oksidatif akibat ikatan dengan *Toll-like receptor* 4 (TLR4). TLR4 diekspresikan pada permukaan sel monosit, sel imun lain dan beberapa tipe sel lainnya (otot rangka, jaringan adiposa dan hepar). Jalur LPS-TLR4 berperan dalam peningkatan sitokin proinflamasi pada individu dengan obesitas. Ditemukan adanya peningkatan endotoksin darah pada individu obesitas dibandingkan individu normal. Hal ini kemungkinan didasari adanya peningkatan rasio *Firmicutes/Bacteroidetes* pada individu obesitas. Namun, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kontributor utama LPS feses adalah filum *Bacteroidetes*. Sehingga perubahan kadar LPS di feses dapat dimaknai sebagai marker perubahan komposisi *Bacteroidetes* pada kolon. (Boutagy *et al.*, 2016; Hennezel *et al.*, 2017; Fuke *et al.*, 2019)

LPS dapat masuk ke dalam sirkulasi melalui rute paraseluler maupun rute transeluler. Kedua jalur tersebut bergantung pada tingginya kadar lipid di lumen usus. Makanan tinggi lemak dapat secara langsung memengaruhi permeabilitas intestinal melalui aktivasi sel mast di mukosa intestinal. Peningkatan endotoksin akibat faktor makanan berkaitan dengan peningkatan penyimpanan lemak, peningkatan jalur pro inflamasi dan stress oksidatif serta resistensi insulin. Epitel intestinal merupakan pemisah efektif dalam mencegah translokasi LPS ke dalam sirkulasi.

Peningkatan permeabilitas dan gangguan fungsi pelindung usus juga dapat disebabkan oleh sitokin proinflamasi dan patogen.(Hersoug, Møller and Loft, 2016) Pada kondisi normal, mikrobiota usus memiliki peran sebagai pelindung usus melalui mekanisme yang bergantung pada *glucagon like peptide* (GLP) 2. GLP-2 merupakan peptida usus yang berperan dalam kontrol proliferasi sel epitel dan telah dibuktikan berperan sebagai regulator ekspresi dan lokalisasi protein *tight junction* dan permeabilitas dinding intestinal. Akan tetapi, makanan tinggi lemak dapat mengubah komposisi mikroba sehingga mengakibatkan peningkatan permeabilitas usus yang dibuktikan dengan penurunan jumlah protein *tight junction*, yaitu *zonulin* dan *occludin* di kolon. Berkurangnya bakteri *Bifidobacterium* tampaknya berperan dalam hal ini. Mikrobiota dalam hal ini berperan sebagai penghubung antara faktor makanan tinggi lemak, translokasi endotoksin dan inflamasi sistemik.(Delzenne *et al.*, 2011; Boutagy *et al.*, 2016)

Tight junction tersusun atas beberapa protein yang terletak di sisi apikal epitel antara sel-sel yang berdekatan dan berperan dalam mengontrol permeabilitas jalur transpor paraseluler. *Tight junction* yang berperan dalam mempertahankan fungsi pelindung intestinal, tersusun atas dua kategori protein fungsional, yaitu protein transmembran integral dan protein perifer. Empat protein transmembran integral adalah *occludin*, *claudin*, *junctional adhesion molecule* (JAM) dan *tricellulin*. Adapun protein adaptor membran perifer meliputi *Zonula Occludens-1* (ZO-1), ZO-2, dan

ZO-3. ZO menghubungkan protein seperti *occludin*, *claudin* dan *actin cytoskeleton*. Intraksi protein mempertahankan bentuk dan fungsi *Tight junction.* Integritas lapisan pelindung usus yang dipertahankan oleh protein *tight junction* penting dalam melindungi tubuh dari stimulus stress terkait dengan inflamasi dan infeksi. Perubahan homeostasis *tight junction* diperkirakan dapat menginduksi patogenesis beberapa penyakit maupun sebaliknya. Zonula Occludens-1 (ZO-1) adalah protein sitoplasma yang menghubungkan protein *tight junction* dengan sitoskeleton dan merupakan penanda stabilitas *tight junction* dan integritas penghalang paraseluler. (Assimakopoulos *et al.*, 2020)

Faktor yang terkait dengan perubahan homeostasis *tight junction* meliputi sitokin proinflamasi, bakteri patogen, lipopolisakarida (LPS) dan kondisi patologis. Obesitas merupakan kondisi yang terkait dengan peningkatan permeabilitas usus. Gangguan fungsi pelindung usus akibat perubahan susunan protein *tight junction* diamati pada model hewan coba obesitas. Selain itu, ditunjukkan juga peningkatan permeabilitas usus dan kadar endotoksin plasma yang lebih tinggi serta peningkatan sitokin proinflamasi. Diet tinggi lemak menyebabkan penekanan kadar *occludin, claudin-1, claudin-3*, dan JAM-1, disertai dengan peningkatan kadar TNF-α plasma pada mukosa intestinal. (Lee, Moon and Kim, 2018)

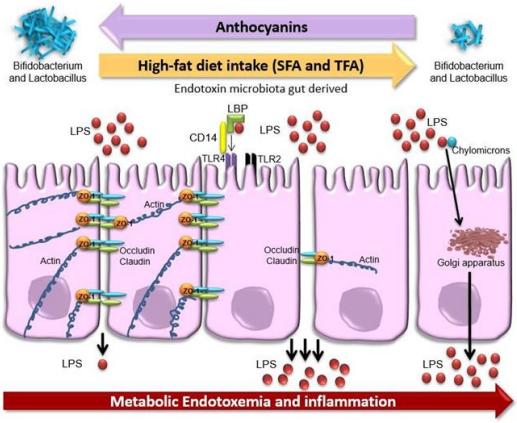
Selain perubahan ekspresi protein *tight junction,* diketahui bahwa terdapat hiperaktivasi sistem *endocannabinoid* intestinal pada individu dengan obesitas. Sistem *endocannabinoid* terdiri atas lipid bioaktif yang

berikatan dengan reseptor spesifik (*cannabinoid receptors 1 and 2 and peroxisome proliferator-activated receptors*), sehingga dengan demikian memengaruhi homeostasis energi dan imunitas. Aktivasi sistem *endocannabinoid* pada obesitas berkontribusi terhadap peningkatan permeabilitas dinding intestinal, peningkatan kadar LPS plasma dan inflamasi sistemik. Terdapat interaksi antara sistem *endocannabinoid* dan mikrobiota usus dalam regulasi adipogenesis secara langsung melalui perannya pada jaringan adiposa dan secara tidak langsung melalui peningkatan kadar LPS plasma. (Delzenne *et al.*, 2011)

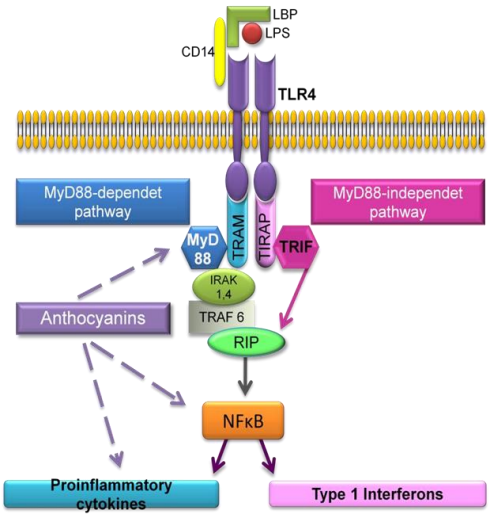
Transpor paraseluler LPS dapat berlangsung melalui pengikatan dengan kilomikron. Enterosit menginternalisasi LPS melalui mekanisme TLR4 dan MD-2. Di dalam enterosit, LPS ditranspor ke apparatus golgi dan digabungkan dengan kilomikron. Enterosit secara spesiik menginderasi lipid dari bahan makanan melalui interaksinya dengan SR-BI pada sisi apical membrane. Pengindraan kandungan lipid yang tinggi pada makanan menyebabkan peningkatan ukuran kilomikron tetapi tidak meningkatkan jumlahnya. Dengan demikian, LPS dapat masuk ke dalam sirkulasi melalui difusi pasif dengan rute paraseluler atau dengan absorpsi aktif via rute transeluler. Pelindung epitel oleh protein *tight junction* inilah yang meregulasi permeabilitas paraseluler. (Hersoug, Møller and Loft, 2016)

Mikrobiota usus juga diketahui memiliki interaksi dengan lapisan mukus intestinal. Lapisan mukus ini berperan dalam mencegah masuknya

patogen ke dalam sirkulasi. Mukus intestinal utamanya tersusun atas *mucin*, suatu *glycoprotein structural* dengan *O-linked glycans*, yang disekresi oleh sel khusus, yakni sel goblet. *Mucin* dapat berbentuk molekul yang *soluble* atau berbentuk protein yang terikat membran dan merupakan bagian dari epitel *glycocalyx*. Jika lapisan mukus intestinal terganggu, lapisan ini dapat dilewati oleh bakteri sehingga dapat mencapai epitel dan menyebabkan inflamasi. Dengan demikian, perubahan lapisan mukus sangat penting kaitannya dengan hubungan homeostasis antara mikrobiota usus dan *host* (Sicard *et al.*, 2017)



Gambar 4. Efek Antosianin dan Perubahan Mikrobiota Usus serta Kaitannya dengan LPS
Sumber : (Sicard *et al.*, 2017)



Gambar 5. Peranan dalam memodulasi ekspresi sitokin proinflamasi

2.5 Tinjauan tentang Beras Hitam dan Kaitannya dengan Profil Mikrobiota, Kadar LPS dan Sitokin Proinflamasi

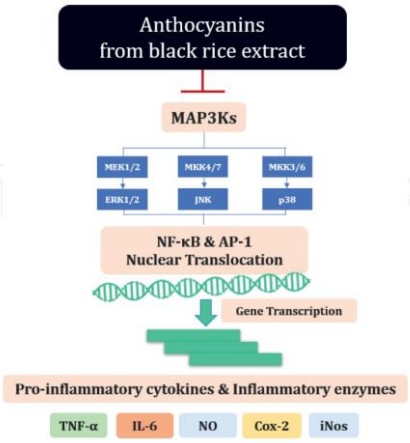
Kandungan dalam beras hitam diketahui berperan dalam memodulasi komposisi mikrobiota usus **(Gambar 4.)** ditunjukkan meningkatkan komposisi *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*. Peningkatan komposisi *Bifidobacterium* menyebabkan perbaikan pada ekspresi protein *tight junction* di epitel usus, sehingga berkontribusi dalam mencegah translokasi LPS ke dalam sirkulasi. Selain berperan dalam memodulasi komposisi bakteri, juga dapat bekerja memengaruhi pensinyalan intraseluler. Bekerja menginhibisi ekspresi protein MyD88 dan NF-kB, sehingga dapat menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi yang diinduksi oleh ikatan antara LPS dan kompleks TLR4, CD14 dan LBP.(Morais *et al.*, 2016)

Tingginya asupan *anthocyanin* memiliki keterkaitan dengan berkurangnya kecenderungan peningkatan berat badan pada masa dewasa. Konsumsi makanan yang mengandung *anthocyanin* yang tinggi juga berhubungan dengan adiposa visceral yang rendah dan diversitas mikrobiota yang lebih besar. Dilaporkan bahwa aktivitas biologis *anthocyanin* disebabkan oleh metabolitnya yang berasal dari mikroba dan menetap dalam sirkulasi dalam waktu lebih lama dan dalam konsentrasi yang lebih tinggi dibandingkan *anthocyanin* itu sendiri. Metabolit ini memiliki aktivitas anti inflamasi yang lebih besar dibandingkan dengan metabolit yang diabsorpsi di usus halus. Penelitian Jennings et al (2019) menunjukkan bahwa bakteri penghasil *butyrate* merupakan kemungkinan mekanisme yang mendasari asosiasi antara asupan makanan kaya *anthocyanin* dengan jaringan adiposa yang lebih rendah. Selain itu, dilaporkan bahwa konsumsi 70.7 mg *anthocyanin* setiap harinya selama 8 minggu menginduksi perubahan komposisi bakteri family *Lachnospiraceae* dan *Ruminococaceae*. Bakteri ini merupakan jenis bakteri penghasil *butyrate*. *Butyrate* berperan dalam proteksi terhadap obesitas melalui peningkatan fungsi pelindung intestinal, sehingga menginhibisi masuknya molekul proinflamasi ke dalam sirkulasi sistemik dan mencegah timbulnya endotoksemia metabolik.(Jennings *et al.*, 2019)

Kandungan *anthocyanin* juga secara spesifik meningkatkan populasi mikrobiota *Bifidobacterium spp.* dan *Lactobacillus-Enterococcus spp.* Penelitian yang dilakukan oleh Flores et al. menunjukkan bahwa

kadar *anthocyanin* 20 mg/L tidak cukup signifikan dalam menyebabkan perubahan pada profil mikrobiota. Efek proliferatif dan inhibisi terhadap populasi mikrobiota dapat diamati pada pemberian *anthocyanin* dengan kadar yang lebih tinggi yaitu 200 mg/L. Mekanisme lain yang kemungkinan mendasari peran *anthocyanin* terhadap profil mikrobiota adalah bahwa *anthocyanin* dapat mengurangi *oxygen tension* pada lumen usus, sehingga meningkatkan proliferasi populasi bakteri yang sensitif oksigen.(Igwe *et al.*, 2019)

Kandungan utama dalam beras hitam adalah *cyanidin 3-O-β-D-glycoside* (C3G), yang dimetabolisme oleh mikrobiota usus menjadi asam *protocatechuic* via *cyanidin*. C3G dan metabolitnya diketahui memiliki potensi menginhibisi efek inflamasi yang diinduksi oleh LPS. C3G ini berperan dalam menginhibisi aktivasi NFkB dan MAPK yang merupakan faktor yang berperan dalam regulasi ekspresi sitokin proinflamasi. Proses inhibisi aktivasi NFkB dimediasi melalui inhibisi fosforilasi IkBa. IkBa merupakan salah satu inhibitor NFkB yang mengalami fosforilasi saat individu dalam kondisi stress. Jika terfosforilasi, IkB mengalami degradasi yang memengaruhi aktivasi NFkB sehingga secara langsung mentranspor NFkB ke dalam nukleus sel. Gen target NFkB meliputi gen yang mengode sitokin proinflamasi seperti IL-6 dan TNF-a. Oleh karena itu, adanya kandungan C3G dalam beras hitam ini dapat berkontribusi dalam menekan ekspresi sitokin proinflamasi melalui regulasi aktivasi NFkB dan MAPK (**Gambar 6**).(Min, Ryu and Kim, 2010)



Gambar 6. Mekanisme Pengaruh terhadap Produksi SItokin Proinflamasi
Sumber : (Min, Ryu and Kim, 2010)

Selain perannya dalam menurunkan ekspresi gen sitokin proinflamasi, Antosianin juga berperan dalam menurunkan ekspresi enzim inflamatorik (**Gambar 6**). Mekanisme yang mendasari perannya tersebut juga melibatkan regulasi MAPK yang berperan dalam menginhibisi translokasi NF-kB dan AP-1, dua faktor transkripsi utama yang berperan dalam regulasi ekspresi gen sitokin dan enzim proinflamasi.(Limtrakul, Semmarath and Mapoung, 2016)

Ekstrak tinggi antosianin juga terbukti dapat memperbaiki metabolisme glukosa dan lipid melalui aktivasi AMPK di hepar, otot rangka dan jaringan adiposa. Ditemukan bahwa terdapat peningkatan aktivitas enzim α-glucosidase dan β-glucosidase setelah pemberian ekstrak tinggi antosianin.(Jurgoński, Juśkiewicz and Zduńczyk, 2013) Beras hitam termasuk *whole grain* dan kaya akan karbohidrat yang dapat difermentasi

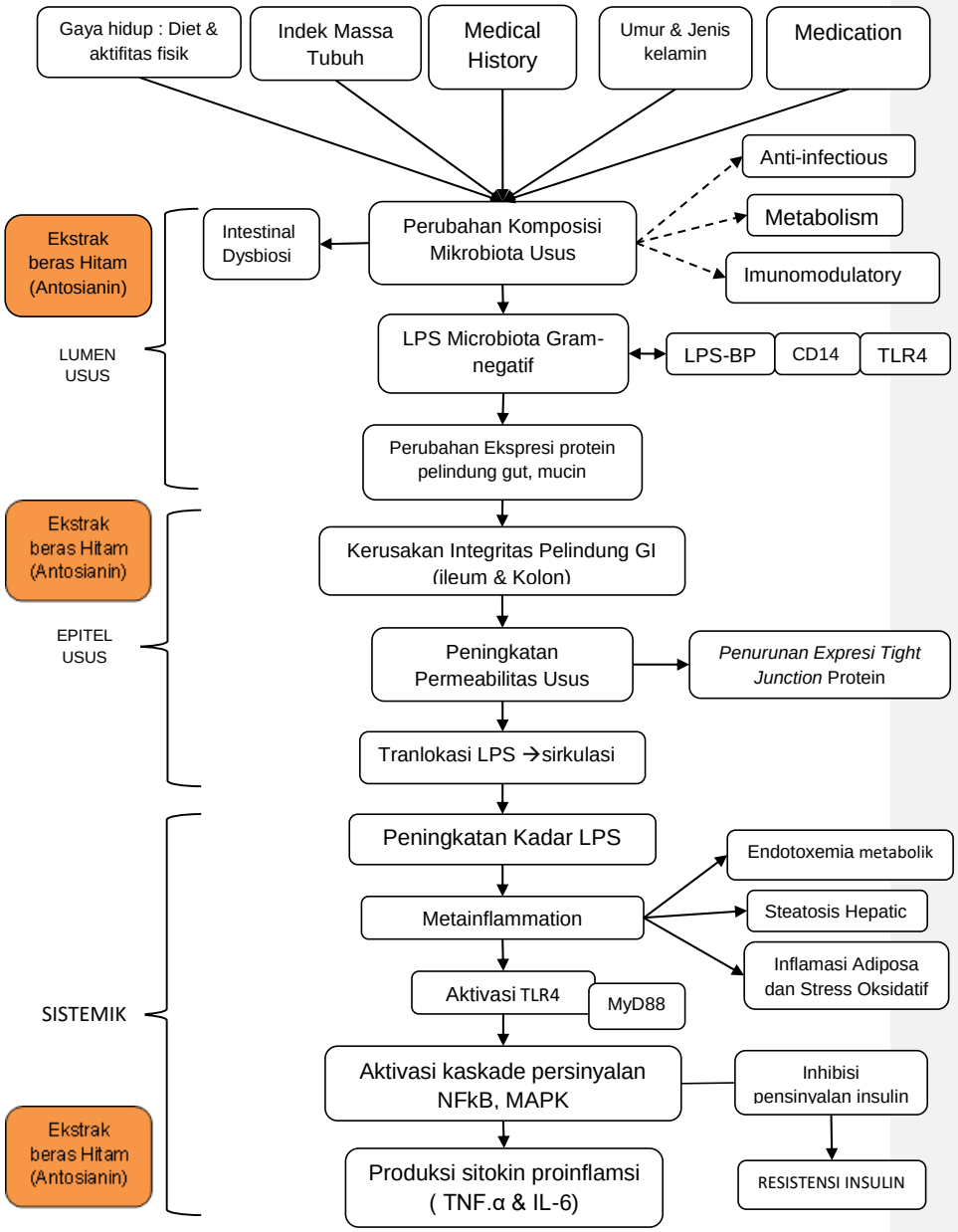
seperti serat dan oligosakarida. Karbohidrat yang tidak dapat dicerna ini akan mencapai kolon dan difermentasi oleh mikrobiota usus menjadi *short chain fatty acids (SCFA)*, seperti asetat, *butyrate*, dan propionat. *Butyrate* diketahui dapat meningkatkan produksi MUC2 oleh sel goblet di usus. Kandungan serat dan senyawa fenolik pada beras hitam juga menstimulasi pencernaan melalui peningkatan aktivitas enzim yang berpartisipasi dalam proses pencernaan dan sekresi asam empedu, sehingga mengurangi *transit time* di usus. (Kim *et al.*, 2008; Sicard *et al.*, 2017)

Senyawa polifenol yang terkandung dalam beras hitam juga dapat berpotensi meningkatkan pelindung epitel intestinal dengan meningkatkan regulasi ekspresi gen MUC2, glikoprotein utama lapisan mukus gastrointestinal. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak *anthocyanin* dari buah *berry* memiliki fungsi antimikroba dan anti adhesi terhadap bakteri patogen. Konsentrasi *anthocyanin* yang tinggi dalam ekstrak tersebut akan mencapai intestinal bagian distal dan berinteraksi dengan atau dimetabolisme oleh mikrobiota usus. Perbaikan proses inflamasi dari ekstrak ini dimediasi oleh perubahan komposisi mikrobiota usus. Perubahan komposisi mikrobiota usus ini dapat menyebabkan perubahan SCFA intestinal. Asetat dan propionat dalam hal ini dapat berperan untuk mengaktivasi GPCR, seperti GPCR43 dan meningkatkan produksi GLP-1.(Lee *et al.*, 2018)

Efek proteksi antosianin, khususnya *cyanidin-3-glucoside* (C3G) terhadap inflamasi intestinal didasari oleh kerjanya sebagai inhibitor jalur NFkB pada sel epitel intestinal. Metabolit C3G juga dilaporkan dapat memodulasi jalur pensinyalan inflamasi seperti MAPK melalui TAK. Selain itu, antosianin juga dapat menekan produksi faktor kemotaktis seperti ICAM-1, sehingga mengurangi infiltrasi inflamatorik. Di sisi lain, kandungan antosianin juga berperan dalam meningkatkan regulasi jalur antioksidan, sehingga dapat memelihara integritas pelindung usus, melalui regulasi ekspresi protein *tight junction.*(Tan *et al.*, 2019).

2.6 Kerangka Teori

Pengaruh Mikrobiota usus dan Lipopolisakarida (LPS) serta perubahan *Tight Junction Protein*-1 *Zonular Occluden* (ZO-1) pada kelompok subyek obesitas serta pengaruh ekstrak terstandar beras hitam terhadap kejadian ini dapat diterangkan seperti pada Gambar 7 berikut;



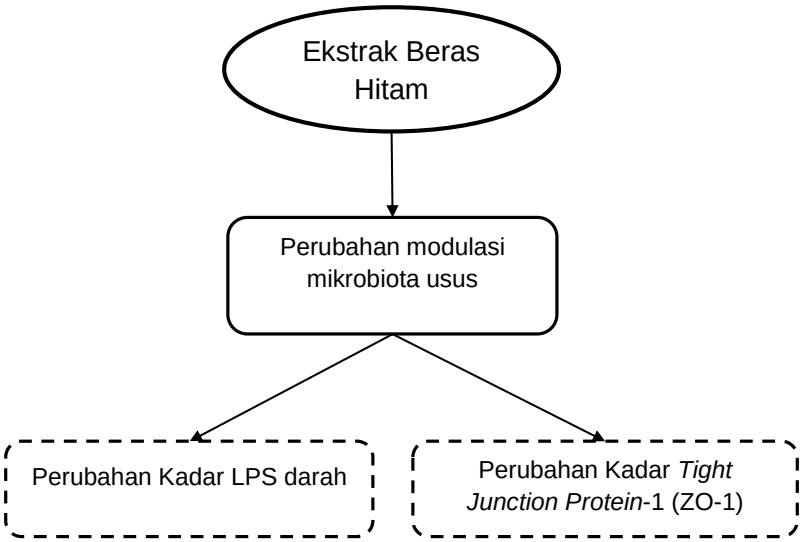
Gambar 7. Bagan Kerangka Teori

BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep

Kerangka konseptual disusun seperti pada bagan berikut;



Formatted: Font: (Default) Arial, 12 pt

Keterangan :

: Variabel Bebas

: Variabel Antara

: Variabel Terikat

Gambar 8 Bagan Kerangka Konsep

3.2 Definisi Operasional Variabel

3.2.1 Variabel Bebas

3.2.1.1 Ektrak Beras Hitam

Ekstrak beras hitam adalah zat yang dihasilkan dari ekstraksi bahan mentah beras hitam yang berasal dari Toraja secara kimiawi. Metode ekstraksi yang dilakukan adalah maserasi, penyaringan, evaporasi, dan pengujian senyawa antosianin. Kadar antosianin yang diperoleh dari ekstraksi beras hitam sebesar 5,6 gr/0,2 gr.

3.2.2 Variabel Terikat

3.2.2.1 *Lipopolysaccharide* (LPS) serum

Lipopolysaccharide (LPS) serum adalah sebuah molekul besar berupa kompleks antara senyawa lipid dan polisakarida dengan ikatan kovalen. Senyawa LPS banyak ditemukan pada lapisan membrane sel seebelah luar bakteria gram-negatif ban besifat endotoksin. Konsentrasi LPS yang terdapat dalam serum darah dengan menggunakan alat ukur *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) kit (R&D, Minneapolis, MN, USA) dalam nilai satuan normal EU / ml (0,97–1,35).

3.2.2.2 *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1)

Tight Junction Protein-1 (ZO-1) adalah protein membran perifer 220-kD yang dikodekan oleh gen *TJP*1 pada manusia. *Tight junction* tersusun atas beberapa protein yang terletak di sisi apikal epitel antara

sel-sel yang berdekatan dan berperan dalam mengontrol permeabilitas jalur transpor paraseluler serta berperan dalam mempertahankan fungsi pelindung intestinal.

~~3.2.3. Ekspresi mRNA Gen PRMT-1~~

3.3.1 Terdapat perbedaan kadar lipopolisakarida serum dan Kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok normal dan kelompok obesitas.

3.3.2 Terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar LPS serum pada kelompok obesitas.

3.3.3 Terdapat perbedaan pengaruh pemberian ekstrak beras hitam dosis 5,6 gram terhadap kadar *Tight Junction Protein*-1 (ZO-1) pada kelompok obesitas.