

**EFEK KURKUMIN DAN *FISH OIL* TERHADAP RESISTENSI INSULIN
PADA MENCIT OBES :
KAJIAN TERHADAP PENGATURAN EKSPRESI GEN DAN KADAR
TUMOR NECROSIS FACTOR α**

***THE EFFECT OF CURCUMIN AND FISH OIL ON INSULIN RESISTANCE
IN OBESE MICE : THE STUDY OF THE REGULATION OF
GENE EXPRESSION AND THE LEVEL OF
TUMOR NECROSIS FACTOR α***

**MARNIAR
P1507209129**



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**EFEK KURKUMIN DAN FISH OIL TERHADAP RESISTENSI INSULIN
PADA MENCIT OBES : KAJIAN TERHADAP PENGATURAN EKSPRESI
GEN DAN KADAR TUMOR NECROSIS FACTOR α**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

MARNIAR

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2013

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Marniar

Nomor Mahasiswa : P1507209129

Program Studi : Biomedik

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

Makassar, 18 Februari 2013

Yang menyatakan,

Marniar

PRAKATA

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang senantiasa mencurahkan rahmat dan hidayahNya, sehingga kami dapat melaksanakan dan menyelesaikan proses penelitian dan penulisan tesis dengan judul Efek kurkumin dan fish oil terhadap resistensi insulin pada mencit obes : kajian terhadap pengaturan ekspresi gen dan kadar tumor necrosis factor α .

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan tesis ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga diharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun sebagai bahan pertimbangan dalam perbaikan dan penyempurnaan penulisan tesis di masa mendatang.

Terwujudnya penelitian ini tidak lepas dari bantuan dan dorongan serta doa berbagai pihak. Kami menyampaikan terima kasih kepada semua pihak, teristimewa kepada :

1. Dr. Agussalim Bukhari, MCN, PhD, SpGK, sebagai pembimbing utama yang memberi banyak bimbingan, arahan dan motivasi serta mambantu kami di laboratorimu dari awal hingga selesainya penelitian ini.
2. Prof. Dr. dr. Nurpudji A.Taslim, mph, SpGK, sebagai pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama penelitian ini.
3. Prof. Dr. dr. R. Satriono, MSc., SpA(K), SpGK, sebagai pembimbing III yang telah memberikan bimbingan dan masukan demi sempurnanya penelitian ini.

4. Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, MSc, SpGK sebagai penguji yang telah memberi saran.
5. DR. dr. A. Makbul Aman, SpPD-KEMD sebagai penguji yang juga telah memberi saran
6. Penyelenggara Pimpinan Fakultas Kedokteran UNHAS atas segala bantuan sehingga penelitian ini dapat terlaksana.
7. Ibu dan ayahku tercinta yang senantiasa mengiringi langkahku dengan doa.
8. Suami dan anak-anakku tercinta yang senantiasa menjadi motivasi dan penyemangat hidupku.
9. Adikku tersayang yang senantiasa memberi dukungan.
10. Tema-teman PPDS Gizi Klinik.
11. Staf laboratorium hewan dan laborstorium penelitian FK UNHAS.
12. Semua pihak yang tidak sempat disebutkan satu per satu.

Akhirnya kami berharap dan berdoa kepada Allah SWT semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dan akademisi khususnya tema-teman sejawat dan mahasiswa FK UNHAS.

Makassar, 18 Februari 2013

Marniar

Abstrak

Efek kurkumin atau *fish oil* telah terbukti dapat mencegah perkembangan resistensi insulin dan menurunkan TNF α . Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian kurkumin dan *fish oil* terhadap resistensi insulin melalui pengaturan ekspresi gen dan kadar TNF α . Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan dan Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Metode penelitian yang digunakan adalah uji klinis dengan menggunakan sampel mencit C57BL/6J. Penelitian ini dilakukan terhadap enam kelompok mencit yang diberi diet normal (ND) atau diet tinggi lemak (HFD) selama 12 minggu. Mencit ini kemudian diberi diet (1) diet normal sebagai kontrol normal, (2) diet tinggi lemak sebagai kontrol negatif, (3) diet tinggi lemak + *fish oil* 3 g/100 g diet (HFD-FO), (4) diet tinggi lemak + kurkumin 3 g/kg diet (HFD-CUR), (5) diet tinggi lemak + *fish oil* 3 g/100 g diet + kurkumin 3 g/kg diet (HFD-FO-CUR, dan (6) diet tinggi lemak + metformin 3 g/kg diet (HFD-MET) sebagai kontrol positif selama 8 minggu. Mencit kelompok HFD mempunyai berat badan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan mencit kelompok ND ($p < 0.01$). Pada pemeriksaan tes toleransi glukosa (TTG) dan tes toleransi insulin (TTI), peningkatan kadar gula darah pada semua kelompok HFD lebih tinggi bermakna dibanding ND. Mencit kelompok HFD-FO-CUR menunjukkan kadar glukosa darah yang lebih rendah setelah menit ke-60 pada TTG dan TTI dan cenderung menurun sampai akhir pemeriksaan jika dibandingkan dengan HFD-MET dan ND. Dibanding dengan kelompok HFD-MET, ekspresi gen TNF α di jaringan lemak epididimis lebih rendah, sedangkan kadar TNF α hampir sama pada kedua kelompok. Dari penelitian ini disimpulkan bahwa mencit kelompok HFD-FO-CUR menunjukkan perbaikan resistensi insulin melalui penurunan ekspresi gen dan kadar TNF α .

Kata kunci : kurkumin, *fish oil*, resistensi insulin, TNF α

Abstract

The effect of curcumin or fish oil have been found to protect against the development of insulin resistance and to decrease TNF α . This study aims investigate the effect of curcumin and fish oil on insulin resistance through the regulation of gene expression and the level of TNF α . The study was conducted in Animal Laboratory and Research Laboratory of the Faculty of Medicine, Hasanuddin University. The method used was clinical trials to C57BL/6J mice samples divided into six groups. One group was given Normal diet (ND) and others a High fat diet (HFD) for 12 weeks. The mice were then treated for eight weeks : (1) one group was given a normal diet as a control group; (2) one group was given HFD as negative control group; (3) one other HFD + fish oil 3 g/100 g (HFD-FO); (4) another group HFD + curcumin 3 g/kg diet (HFD-CUR); (5) another HFD + fish oil 3 g/100 g + curcumin 3 g/kg diet (HFD-FO+CUR), and (6) HFD with Metformin 3 g/kg diet (HFD-MET) as positive control group. The study shows the HFD groups of mice have significantly higher body weight compared to ones in ND group ($p < 0.01$). Glucose and Insulin tolerance test (GTT, ITT) reveal that all HFD groups have higher blood glucose than the ND group does the mice with HFD-FO+CUR have significant lower blood glucose level on min 60 of GTT and ITT and a lower trend of blood glucose level at all other times point as compared to both HFD-MET and ND. Compared to HFD-MET mice, gene expression of TNF α in epydidimal fat is lower in HFD-FO+CUR group, while the level of TNF- α was similar in both groups. In conclusion, HFD-FO+CUR mice have improved in insulin resistance indicated by the decrease of gene expression and the lowering level of TNF- α .

Keywords : curcumin, *fish oil*, insulin resistance, TNF α

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Hipotesis	5
E. Manfaat Penelitian	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. <i>Tumor Necrosis Factor α</i>	7
B. Obesitas	10
C. Resistensi Insulin	12
D. TNF α , Obesitas, dan Resistensi Insulin	14

E. Efek Kurkumin terhadap Resistensi Insulin dan TNF α pada Obesitas	25
F. Efek <i>Fish Oil</i> terhadap Resistensi Insulin dan TNF α pada Obesitas	32
III. KERANGKA PENELITIAN	41
A. Kerangka Teori	41
B. Kerangka Konsep	42
IV. METODE PENELITIAN	43
A. Desain Penelitian	43
B. Tempat Penelitian	43
C. Populasi dan Sampel	43
D. Prosedur Penelitian	44
E. Identifikasi Variabel	47
F. Definisi Operasional	48
G. Rencana Manajemen dan Analisis Data	51
H. Izin Penelitian dan Kelaikan Etik	51
I. Alur Penelitian	52
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	53
A. Hasil	53
B. Pembahasan	64
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	75
A. Kesimpulan	75
B. Saran	75
DAFTAR PUSTAKA	77

DAFTAR TABEL

nomor		halaman
1.	Komposisi asam lemak DHA dan EPA	33
2.	Komposisi diet	48
3.	Berat badan awal mencit dan setelah diet tinggi lemak	54
4.	Pemeriksaan tes toleransi glukosa	55
5.	Pemeriksaan tes toleransi insulin	58
6.	Ekspresi gen TNF α pada pemeriksaan RT-PCR	61
7.	Kadar TNF α pada pemeriksaan ELISA	61

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Obesitas memicu penyakit degeneratif	12
2. Jaringan lemak mensekresi berbagai peptida bioaktif	16
3. Patogenesis obesitas	23
4. Penggunaan kurkumin sebagai obat berbagai penyakit	26
5. Target molekul kurkumin	27
6. Mekanisme kurkumin menghambat inflamasi	31
7. Mekanisme pengaruh suplai asam lemak terhadap sel inflamasi	fungsi 34
8. Mekanisme klasik efek anti inflamasi asam lemak omega 3	36
9. Mekanisme efek anti inflamasi <i>fish oil</i>	38
10. Kerangka teori	41
11. Kerangka konsep	42
12. Alur penelitian	52
13. Perubahan berat badan mencit	54
14. Kadar glukosa darah puasa masing-masing kelompok	56
15. Kadar glukosa darah puasa setelah penyuntikan insulin	59
16. Ekspresi TNF α lemak intraabdomen (epididimis)	62
17. Kadar TNF α serum	63

DAFTAR LAMPIRAN

nomor		halaman
1.	Komposisi diet normal	84
2.	Komposisi diet tinggi lemak	85
3.	Komposisi diet tinggi lemak+ menhaden fish oil	86
4.	Rekomendasi persetujuan etik	87
5.	Tabel konversi dosis manusia dan hewan	88

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan keterangan
5-LOX	<i>5-lipoxygenase</i>
AP1	<i>Activator Protein 1</i>
ATM	<i>Adipose Tissue Macrophages</i>
COX-2	<i>Cyclooxygenase-2</i>
CRP	<i>C-reactive protein</i>
DEXA	<i>Dual Energy X-ray Absorptiometry</i>
DHA	<i>Docosahexaenoic Acid, asam dokosaheksanoat</i>
DM	Diabetes Melitus
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EPA	<i>Eicosapentaenoic Acid, asam eikosapentanoat</i>
ERK	<i>extracellular signal-regulated kinase</i>
FFA	<i>Free Fatty Acid</i>
GLUT4	<i>Glucose transporter 4</i>
GSK 3 β	<i>Glycogen Synthase 3β</i>
IL	Interleukin
IMT	Indeks Massa Tubuh
iNOS	<i>inducible nitric oxide synthase</i>
IOTF	<i>International Obesity Taskforce</i>
IRS	<i>Insulin Receptor Substrate</i>

IRT	<i>Insulin Receptor Tyrosine</i>
JNK	<i>c-Jun N-terminal kinase</i>
LT	<i>lymphotoxin</i>
LTB4	<i>Leukotriene B4</i>
LTE4	<i>Leukotriene E4</i>
M1	<i>Macrophage 1</i>
M2	<i>Macrophage 2</i>
MAPK	<i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
MCP-1	<i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
NF- κ B	<i>Nuclear Factor kappa Beta</i>
PG	<i>prostaglandin</i>
PGE2	<i>Prostaglandin E2</i>
PPAR	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptors</i>
PTB	<i>Protein Tyrosine Phosphatase</i>
PUFA	<i>Poli Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	<i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
SOCS3	<i>Suppressor of Cytokine Signaling 3</i>
TEF	<i>Thermic Effect of Food</i>
TG	<i>Triglyceride</i>
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
TNFR	<i>Tumor Necrosis Factor α Receptors, Reseptor TNF α</i>
TTG	<i>Tes Toleransi Glukosa</i>

TTI	Tes Toleransi Insulin
WAT	<i>White Adipose Tissue</i> , jaringan lemak putih
WHO	<i>World Health Organization</i> , Organisasi Kesehatan Sedunia

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obesitas didefinisikan sebagai suatu keadaan yang ditandai dengan penimbunan jaringan lemak yang melebihi keperluan untuk fungsi tubuh yang normal. Obesitas telah menjadi pandemi global di seluruh dunia dan dinyatakan oleh *World Health Organization* (WHO) sebagai masalah kesehatan kronis terbesar pada orang dewasa (Soegih R, 2009).

Angka kejadian obesitas di berbagai negara terus meningkat. Prevalensi obesitas di Inggris pada tahun 1980 hanya 7%, lalu meningkat menjadi 23% pada tahun 2005. Pada tahun 1999, 61% penduduk Amerika menderita *overweight* (27% diantaranya obes), kemudian pada tahun 2007 meningkat menjadi 66% (32% diantaranya obes) (Soegih R, 2009).

Di Indonesia sendiri berdasarkan data Riskesdas tahun 2010 menunjukkan bahwa jika digunakan status gizi menurut BB/TB, maka prevalensi gizi lebih pada balita adalah sebesar 14,0%. Sedangkan persentase obesitas penduduk dewasa (>18 tahun) menurut kategori Indeks Massa Tubuh (IMT) adalah 7,8 pada laki-laki dan 15,5 pada perempuan (Balitbangkes, 2010).

Penyebab obesitas sangat kompleks dan multifaktorial meliputi faktor metabolik, hormonal, genetik dan psikososial. Faktor utama yang

berperan terhadap peningkatan berat badan yang berlebihan adalah ketidakseimbangan asupan dan pemakaian energi (Nur Aslan, 2010).

Obesitas berkaitan dengan berbagai komplikasi baik metabolik, endokrinologik, kardiovaskuler, bahkan diduga berkaitan dengan keganasan. Semua ini menurunkan angka harapan hidup. Perkembangan komplikasi metabolik misalnya peningkatan risiko diabetes tipe 2, dislipidemia dan penyakit kardiovaskuler (Nur Aslan, 2010).

Pada obesitas terjadi inflamasi kronik sistemik dengan peningkatan sitokin pro inflamasi dalam sirkulasi. Inflamasi sistemik terjadi karena respons inflamasi dalam jaringan adiposa yang meluas dengan cepat. Sel adiposit memproduksi sitokin-sitokin. Selain itu infiltrasi makrofag ke jaringan adiposa berkontribusi meningkatkan produksi sitokin. Peningkatan *Tumor Necrosis Factor* α (TNF α) dalam jaringan adiposa adalah sitokin yang pertama kali diteliti pada mencit obes oleh Hotamisligil dkk pada tahun 1993.

Obesitas terkait dengan terjadinya resistensi insulin dan diabetes. Inflamasi dianggap berperan penting dalam patogenesis resistensi insulin pada orang obes. Hal ini telah diteliti pada beberapa penelitian eksperimental. Individu obes dengan resistensi insulin menunjukkan peningkatan kadar TNF α yang mungkin mempunyai hubungan sebab akibat (Farmer JA, 2008).

Oleh karena hubungan antara inflamasi dengan obesitas dan resistensi insulin ini maka mengendalikan respons inflamasi bermanfaat

mencegah dan memperbaiki efek patologis dari obesitas (Ye J, 2010 ; Hotamisligil GS, 1995).

Kurkumin adalah [senyawa](#) aktif yang ditemukan pada [kunyit](#). Zat ini adalah [polifenol](#) dengan rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$. Kunyit (*Curcuma longa*) termasuk salah satu tanaman rempah dan obat, habitat asli tanaman ini meliputi wilayah Asia khususnya Asia Tenggara. Penelitian tentang efek terapi kurkumin telah banyak dilakukan. Saat ini penelitian lebih difokuskan pada mekanisme efek molekulernya. Penelitian yang dilakukan oleh Weisberg dkk (2008) menunjukkan bahwa kurkumin terbukti memperbaiki inflamasi terkait obesitas dan diabetes (Weisberg SP, 2008).

Fish oil berasal dari jaringan *oily fish*. *Fish oil* mengandung asam lemak omega 3 asam eikosapentanoat (*eicosapentaenoic acid*, EPA) dan asam dokosaheksanoat (*docosahexaenoic acid*, DHA) yang merupakan prekursor eikosanoid yang penting untuk mengurangi inflamasi. Penelitian yang dilakukan oleh Muurling M dkk yang dipublikasikan pada tahun 2003 menunjukkan bahwa mencit obes yang diberi diet *fish oil* mengalami penurunan kadar TNF α (Muurling M, 2003).

Berdasarkan uraian di atas, maka kami menganggap penting untuk meneliti tentang efek pemberian kurkumin dan *fish oil* terhadap perbaikan resistensi insulin pada obesitas dengan menilai kadar dan ekspresi TNF α . Efek ini akan dibandingkan dengan kelompok yang mendapatkan diet tinggi lemak. Sebagai kontrol positif digunakan obat diabetes golongan metformin yang merupakan salah satu obat unggulan untuk meningkatkan sensitivitas

insulin. Jika hal ini terbukti maka kelak kurkumin dan *fish oil* dapat direkomendasikan sebagai suplementasi bagi penderita obesitas.

Penelitian ini dilakukan pada mencit dengan pertimbangan bahwa pada penelitian hewan perbedaan faktor genetik dapat dikendalikan dan pengaruh rancu dari lingkungan dapat diminimalkan serta penggunaan jaringan tubuh lebih memungkinkan, sehingga patomekanisme penyakit dapat ditelusuri lebih baik dibandingkan dengan penelitian pada manusia.

Sepanjang pengetahuan kami penelitian tentang efek gabungan keduanya terhadap perbaikan resistensi insulin berdasarkan mekanisme pengaturan TNF α dengan metformin sebagai kontrol positif belum pernah dilakukan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka yang menjadi pertanyaan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* memperbaiki resistensi insulin pada mencit obes ?
2. Apakah pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* dapat menurunkan ekspresi gen TNF α pada mencit obes ?
3. Apakah pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* dapat menurunkan kadar TNF α pada mencit obes ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Mengetahui efek pemberian kurkumin dan *fish oil* serta kombinasi keduanya dalam memperbaiki resistensi insulin pada mencit dengan obesitas melalui penurunan ekspresi gen dan kadar TNF α mencit obes.

2. Tujuan khusus

- a. Mengukur dan membandingkan resistensi insulin melalui Tes Toleransi Glukosa dan Insulin (TTG & TTI) pada mencit kontrol dan perlakuan sesudah intervensi selama 8 minggu.
- b. Memeriksa dan membandingkan ekspresi gen TNF α pada mencit kontrol dan perlakuan sesudah intervensi selama 8 minggu.
- c. Memeriksa dan membandingkan kadar TNF α pada mencit kontrol dan perlakuan sesudah intervensi selama 8 minggu.

D. Hipotesis

1. Pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* dapat memperbaiki resistensi insulin dibandingkan dengan diet tinggi lemak.
2. Pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* menurunkan ekspresi gen TNF α dibandingkan dengan diet tinggi lemak.
3. Pemberian kombinasi kurkumin dan *fish oil* menurunkan kadar TNF α dibandingkan dengan diet tinggi lemak.

E. Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai manfaat suplementasi kurkumin dan *fish oil* dalam memperbaiki resistensi insulin melalui penurunan ekspresi gen dan kadar TNF α .
2. Dapat menjadi bahan pertimbangan industri masyarakat untuk lebih mengembangkan pemanfaatan kurkuma dan *fish oil* karena bermanfaat bagi penderita obesitas.
3. Dapat dijadikan sebagai dasar untuk penelitian selanjutnya baik untuk menggali informasi mengenai mekanisme molekuler yang lain maupun penelitian pada manusia yang berhubungan dengan obesitas serta penyakit lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumor Necrosis Factor α

Teori tentang suatu respons anti tumor dari sistem imun *in vivo* telah disebutkan oleh William B. Coley. Pada tahun 1968, Dr. Gale A Granger dari Universitas California, Irvine, melaporkan suatu faktor sitotoksik yang diproduksi oleh limfosit dan diberi nama limfotoksin (LT). Hal yang sama juga dilaporkan oleh Dr. Nancy H. Ruddle dari Universitas Yale. Kemudian pada tahun 1975 Dr. Lloyd J. Old dari *Memorial Sloan-Kettering Cancer Center*, New York, melaporkan tentang suatu faktor sitotoksik lain yang diproduksi oleh makrofag dan disebut sebagai *Tumor Necrosis Factor* (TNF).

Pada tahun 1985, Old dkk mengidentifikasi suatu protein dari serum kelinci yang sudah diberi endotoksin dan protein tersebut sangat responsif terhadap nekrosis hemoragik pada tumor. Protein tersebut dinamakan TNF α . Pada waktu yang bersamaan, kelompok peneliti lain yang dikepalai oleh Anthony Cerami mengidentifikasi suatu protein yang responsif terhadap perkembangan kanker yang mereka namakan *cachectin*. Pada tahun 1982, Kawakami dkk mengemukakan suatu zat yang disekresi oleh makrofag yang diinduksi oleh endotoksin yang menghambat sintesis lipoprotein lipase jaringan adiposa. Secara umum, zat tersebut tampaknya

menekan proses anabolik dan menstimulasi proses katabolik. Hal ini mendorong peneliti menamakan zat tersebut sebagai "*cachectin*" yang menunjukkan peran zat tersebut dalam proses kakheksia pada penyakit-penyakit kronik. Berdasarkan beberapa perbandingan, TNF α dan *cachectin* dinyatakan identik. Sejak penemuan tersebut, TNF α kemudian dibuktikan lebih dari sekedar suatu "*tumor necrosis factor*", namun juga terlibat dalam respons imun dan inflamasi, disintesis dan disekresi oleh jaringan adiposa, dan berperan sebagai mediator resistensi insulin pada diabetes mellitus (Qi C, 2000).

Terdapat 2 reseptor TNF α yang sudah diidentifikasi yaitu TNFR1 dan TNFR2. Sebagian besar aktivitas biologik TNF α seperti apoptosis, aktivitas antivirus, dan pengaktifan faktor transkripsi NF- κ B, telah dibuktikan dimediasi oleh TNFR1 (Qi C, 2000).

Meskipun sebagian besar disintesis dan disekresi oleh sel fagosit, TNF α juga dibuat di dalam adiposit baik pada mencit maupun pada manusia. Dalam jaringan adiposa tikus dengan obesitas dan resistensi insulin genetik, terjadi peningkatan kadar zat tersebut yang mendukung adanya keterkaitan antara obesitas, diabetes dan TNF α . Pada tahun 1993, keterkaitan langsung antara TNF α dan resistensi insulin terkait obesitas telah ditetapkan pada suatu penelitian dengan menetralkan TNF α pada beberapa tikus model obesitas dan resistensi insulin yang menunjukkan perbaikan sensitivitas insulin dan sinyal reseptor insulin. Terdapat

hubungan langsung antara derajat adipositas, peningkatan produksi TNF α dan resistensi insulin (Qi C, 2000).

Tumor Necrosis Factor α merupakan sitokin yang terutama diproduksi oleh makrofag sebagai respons terhadap endotoksemia, inflamasi dan kanker. Sel lemak manusia merupakan sumber produksi TNF α yang signifikan. Kadar TNF α meningkat pada beberapa kondisi klinis seperti penyakit vaskular dan gagal jantung kongestif. TNF α disintesis secara langsung oleh adiposit dan tampaknya berperan untuk pemeliharaan metabolisme dan massa jaringan adiposa. Sintesis TNF α di dalam jaringan adiposa juga dimungkinkan oleh efek autokrin dan parakrin yang mungkin dipengaruhi jumlah dan ukuran adiposit. *Tumor Necrosis Factor α* berkaitan dengan peningkatan apoptosis *stem cell* yang potensial untuk berkembang menjadi adiposit yang matang dan berdiferensiasi sempurna (Markiewicz BZ, 2000 ; Farmer, 2008).

Tumor Necrosis Factor α juga penting dalam metabolisme asam lemak dan kandungan lemak sel adiposit melalui efek langsung terhadap aktivitas lipoprotein lipase yang mempengaruhi keberadaan substrat untuk sintesis trigliserida. Aktivitas enzimatik intrinsik lipoprotein lipase dapat berkurang secara signifikan oleh TNF α yang juga menurunkan metabolisme trigliserida yang kaya akan lipoprotein. Gangguan degradasi trigliserida yang kaya akan lipoprotein menurunkan aliran asam lemak bebas ke dalam sel adiposit yang berpengaruh terhadap konsentrasi lemak intraseluler. Disamping itu, TNF α berkaitan langsung dengan penurunan

asill Co-A sintetase yang juga berkontribusi terhadap derajat sintesis trigliserida dan akumulasi lemak dalam sel adiposit (Farmer, 2008).

Peranan TNF α dalam manifestasi inflamasi pada obesitas sangat kompleks. Sintesis lokal TNF α dalam sel adiposit orang obes meningkat dan penurunan berat badan telah terbukti menurunkan kadarnya dalam sirkulasi. Beberapa penelitian juga telah membuktikan bahwa peningkatan kadar TNF α sirkulasi hanya terjadi pada peningkatan berat badan yang ekstrim (Farmer, 2008).

Obesitas dan peningkatan Indeks Massa Tubuh (IMT) sering berhubungan dengan terjadinya resistensi insulin dan diabetes. Inflamasi dianggap berperan penting dalam patogenesis resistensi insulin pada orang obes. Hal ini telah diteliti pada beberapa penelitian eksperimental. Subjek obes dengan resistensi insulin menunjukkan peningkatan kadar TNF α yang mungkin mempunyai hubungan sebab akibat (Farmer, 2008).

B. Obesitas

Secara sederhana *World Health Organization (WHO)* (2000) mendefinisikan obesitas sebagai kondisi abnormal atas akumulasi lemak yang ekstrim pada jaringan adiposa. Kelebihan berat badan sebagai akibat dari penimbunan lemak tubuh yang berlebihan ini penyebabnya multifaktorial meliputi faktor metabolik, hormonal, genetik dan psikososial. Terjadinya obesitas secara umum berkaitan dengan keseimbangan energi di dalam tubuh. Keseimbangan energi ditentukan oleh jumlah dan

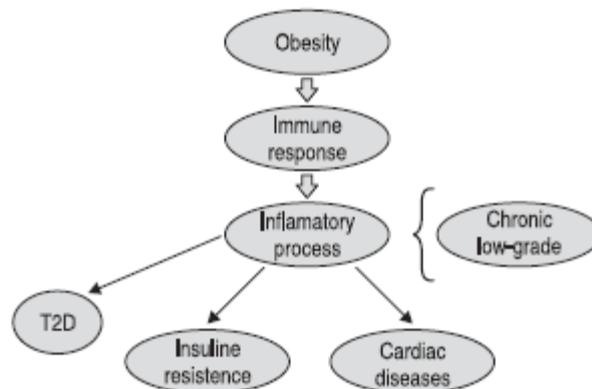
komposisi karbohidrat, lemak dan protein serta kebutuhan energi yang ditentukan oleh kebutuhan energi basal, aktivitas fisik dan *thermic effect of food* (TEF) yaitu energi yang diperlukan untuk mengolah zat gizi menjadi energi. Keseimbangan energi di dalam tubuh dipengaruhi oleh berbagai faktor baik yang berasal dari dalam tubuh yaitu regulasi fisiologis dan metabolisme ataupun dari luar tubuh yang berkaitan dengan gaya hidup (lingkungan) yang akan mempengaruhi kebiasaan makan dan aktivitas fisik. Regulasi fisiologis dan metabolisme dipengaruhi oleh genetik dan juga oleh lingkungan. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa obesitas dipengaruhi 70% oleh lingkungan dan 30% oleh genetik (Sugih, 2009).

Obesitas terkait dengan terjadinya resistensi insulin dan diabetes. Inflamasi dianggap berperan penting dalam patogenesis resistensi insulin pada orang obes. Hal ini telah diteliti pada beberapa penelitian eksperimental. Individu obes dengan resistensi insulin menunjukkan peningkatan kadar *TNF α* yang mungkin mempunyai hubungan sebab akibat (Farmer JA, 2008).

Obesitas juga berhubungan dengan berbagai komplikasi baik metabolik, endokrinologik, kardiovaskuler, bahkan diduga berkaitan dengan keganasan. Semua ini menurunkan angka harapan hidup (Nur Aslan, 2010).

Indeks Massa Tubuh (IMT) pada umumnya digunakan sebagai indikator obesitas, yang menunjukkan berat badan seseorang dalam

kilogram (kg) dibagi dengan tinggi badan dalam meter pangkat dua (m²) (Nishida C, 2004).



Gambar 1. Obesitas memicu penyakit degeneratif (Flores GB, 2010)

Obesitas mempengaruhi respons imun yang menyebabkan proses inflamasi kronik dan *low-grade*, yang kemudian terkait dengan penyakit-penyakit degeneratif seperti diabetes melitus tipe 2, hipertensi, dislipidemia, penyakit jantung dan lain-lain. Inflamasi dianggap berperan penting dalam patogenesis resistensi insulin pada orang dengan obesitas (Flores GB, 2010).

C. Resistensi Insulin

Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh pankreas, yang membantu tubuh menggunakan glukosa sebagai energi. Peran insulin dalam berbagai metabolisme di jaringan target didahului oleh pengikatan insulin pada reseptor spesifik dan pengaktifan tirosin kinase. Reseptor

insulin kinase yang telah aktif ini selanjutnya akan melakukan fosforilasi gugus tirosin pada IRS (*Insulin Receptor Substrate*) dan selanjutnya akan menurunkan aktivitas dari *phosphoinositol-3 kinase* dan menyebabkan translokasi glukosa dari ekstrasel ke intrasel oleh transporter glukosa (GLUT4) (Kasuga M, 2006).

Fungsi normal insulin secara keseluruhan ialah sebagai hormon anabolik, bekerja pada sejumlah jaringan, dan memacu penyimpanan nutrien, atau mencegah katabolismenya. Kadar insulin normalnya meningkat setelah makan seiring dengan kenaikan kadar glukosa, dan menurun pada keadaan setelah makan, ketika metabolit yang tersimpan digunakan untuk energi.

Resistensi insulin adalah suatu kondisi tubuh memproduksi insulin namun tidak dapat menggunakannya dengan optimal. Proses *cross talk* antara jalur sinyal inflamasi dan jalur sinyal insulin menyebabkan resistensi insulin dan disfungsi endotel. Ketika seseorang mengalami resistensi insulin, sel otot, lemak dan sel heparnya tidak memberikan respons yang baik terhadap insulin. Dan hasilnya tubuh mereka membutuhkan insulin yang lebih tinggi untuk membantu glukosa masuk ke dalam sel. Pankreas mencoba mengatasi keadaan ini dengan memproduksi lebih banyak insulin. Selanjutnya, kegagalan pankreas dalam memenuhi kebutuhan tubuh terhadap insulin menyebabkan terjadinya peningkatan glukosa pada peredaran darah, sehingga orang-orang yang mengalami resistensi insulin, pada saat yang sama memiliki level glukosa dan insulin yang tinggi.

Resistensi insulin meningkatkan kemungkinan kejadian diabetes tipe 2 dan penyakit jantung (Cefalu WT, 2001 ; Merentek E, 2006 ; Mohamed MK, 2010).

Resistensi insulin memegang peranan utama dalam patofisiologi diabetes dan terkait erat dengan masalah kesehatan seperti obesitas, dislipidemia dan sindrom metabolik. Sindrom metabolik dianggap sebagai suatu keadaan pro inflamasi karena terkait dengan peningkatan kadar mediator pro inflamasi yang menyebabkan terjadinya penyakit kardiovaskuler aterosklerotik. Oleh karena itu, perbaikan sensitivitas insulin merupakan tujuan terapi yang penting (Mohamed MK, 2010).

D. *Tumor Necrosis Factor α* , Obesitas dan Resistensi Insulin

Jaringan lemak bukanlah suatu depot energi yang pasif. Fungsi utama adiposit adalah untuk menyimpan energi pada saat asupan makan berlebih dan melepaskan energi saat starvasi. Studi terbaru menunjukkan bahwa jaringan adiposa merupakan suatu organ endokrin yang memproduksi beberapa adipokin yang mempunyai aktivitas biologik yang sangat banyak. Meskipun hati turut berperan terhadap terjadinya inflamasi sistemik pada obesitas, namun organ pengontrol utamanya adalah jaringan lemak (Nur Aslan, 2010).

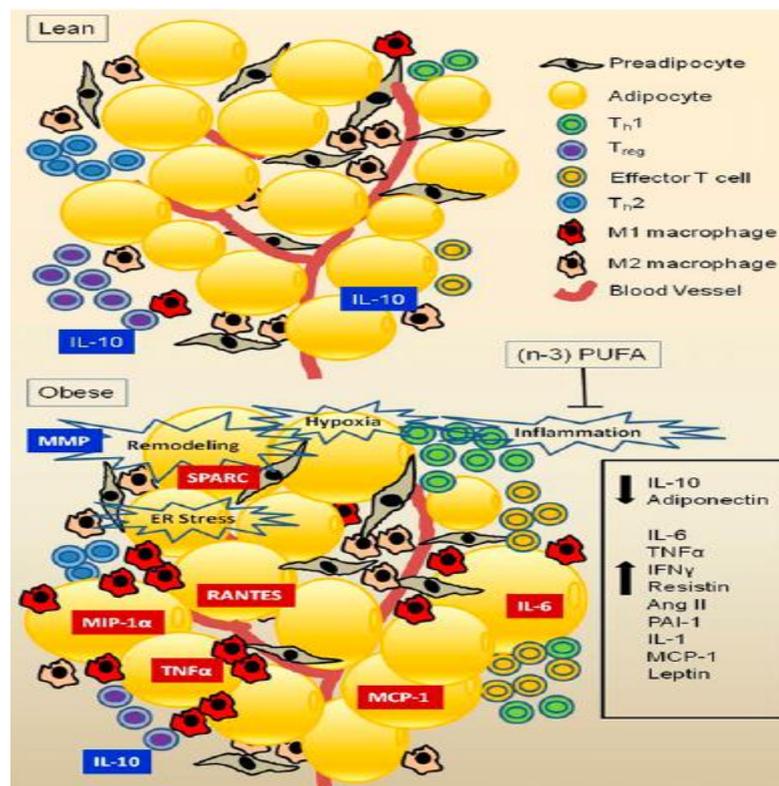
Jaringan lemak putih (WAT) merupakan tempat penyimpanan energi yang berlebihan dalam tubuh. Jaringan lemak putih terdiri atas adiposit, matriks ekstraseluler, jaringan saraf dan vaskuler, dan beberapa sel lain

meliputi preadiposit, fibroblas, sel stem, dan sel imun seperti makrofag dan limfosit T. Jaringan adiposa mensekresi berbagai peptida bioaktif yang secara kolektif disebut adipokin. Contohnya adalah hormon yang terlibat dalam homeostasis glukosa dan energi seperti leptin, adiponektin, resistin, apelin dan visfatin; kemokin seperti *monocyte chemotactic protein* (MCP)-1 dan IL-8; sitokin proinflamasi seperti IL-6, IL-1, angiotensin-II, dan TNF α ; serta sitokin anti inflamasi seperti IL-10. Oleh karena itu, jaringan adiposa merupakan organ endokrin yang dinamis yang berperan penting dalam balans energi, homeostasis glukosa, regulasi tekanan darah dan fungsi imun (Kalupahana NS, 2011).

Berbeda dengan inflamasi yang diinduksi oleh infeksi bakteri atau virus yang mengalami peningkatan granulosit neutrofil dalam sirkulasi, hal ini tidak terjadi pada obesitas. Inflamasi *low-grade* terjadi tanpa demam dan malaise seperti pada inflamasi akibat infeksi bakteri/virus (Ye J, 2010).

Akumulasi trigliserida yang berlebihan dalam adiposit terkait dengan *overload* jaringan adiposa sebagai akibat dari adanya keseimbangan energi positif yang mengakibatkan hipertrofi adiposit dan disregulasi pola sekresi adipokin. Hal ini menyebabkan ketidakseimbangan sekresi adipokin pro dan anti inflamasi. Sehingga obesitas dianggap sebagai suatu inflamasi *low-grade* kronik pada jaringan adiposa. Meskipun adiposit merupakan sumber sitokin pro inflamasi pada obesitas, sel-sel lain seperti preadiposit, makrofag dan stem sel adiposa juga dapat memproduksi sitokin (Kalupahana NS, 2011).

Inflamasi jaringan adiposa pada obesitas ditandai oleh infiltrasi makrofag. Makrofag jaringan adiposa (*Adipose Tissue Macrophages*, ATM) terdiri atas 2 tipe. M1 atau makrofag yang diaktifkan secara klasik distimulasi oleh IFN γ dan LPS serta produksi sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-6, IL-1 dan spesies oksigen reaktif seperti NO. M2 atau makrofag yang dipengaktifkan sebagai alternatif diaktifkan oleh IL-4, IL-13 dan faktor anti inflamasi seperti IL-10, TGF β , antagonis reseptor IL-1, IL-4 dan arginase (Kalupahana NS, 2011).



Gambar 2. Jaringan lemak mensekresi berbagai peptida bioaktif (Kalupahana NS, 2011)

Faktor-faktor tersebut meningkat pada resistensi insulin akibat obesitas dan inflamasi kronik. Hajri dkk membuktikan bahwa ekspresi dan sekresi TNF α dan IL-6 meningkat secara signifikan pada jaringan adiposa subjek obes dan berhubungan negatif dengan kadar adiponektin. Pada kultur adiposit manusia terbukti bahwa insulin mempengaruhi ekspresi dan sekresi adiponektin. Telah diyakini bahwa insulin meningkatkan ekspresi adiponektin dan TNF α berlawanan dengan efek stimulasi insulin. Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar IL-6 dan mRNA TNF α adiposa pada subjek obes dan penurunan pada keadaan kehilangan berat badan. TNF α memfosforilasi S6K1 yang akan merusak resistensi insulin melalui fosforilasi serin IRS-1 yang kemudian akan menghambat aktivitas tirosin kinase pada reseptor insulin di adiposit dan hepatosit. TNF α juga menginduksi *Protein Tyrosine Phosphatase* (PTP)-1B, yang bertindak sebagai regulator negatif sinyal TNF α , dan mencit yang kehilangan PTP-1B terproteksi dari resistensi insulin akibat TNF α . Banyak juga penelitian yang menunjukkan bahwa blokade TNFR1 memproteksi tikus Wistar dari obesitas akibat diet dan resistensi insulin (Shehzad A, 2011).

Obesitas yang terjadi akibat perubahan M2 ke M1 pada populasi ATM ditandai oleh penurunan produksi anti inflamasi IL-10 dan arginase serta peningkatan produksi TNF α . Peningkatan ATM M1 bisa terjadi akibat perubahan fenotip M2 menjadi M1 atau rekrutmen tambahan makrofag M1

dari pembuluh darah. Lipotoksisitas makrofag berperan penting dalam perubahan fenotip M2 menjadi M1 (Kalupahana NS, 2011).

Saat seseorang menjadi obes, sel adipositnya akan membesar dan secara molekuler dan seluler akan mempengaruhi metabolisme sistemik. Asam lemak bebas dan gliserol yang dilepaskan dari adiposit lebih tinggi pada individu obes (Greenberg AS, 2006).

Meskipun pemicu yang tepat timbulnya inflamasi jaringan adiposa sampai sekarang belum diketahui, beberapa mekanisme yang mungkin terlibat telah banyak disebutkan. Pada keadaan keseimbangan energi positif, jaringan adiposa membesar untuk mengakomodasi penyimpanan TG berlebih. *Remodeling* jaringan adiposa melalui degradasi matriks ekstraseluler dan adipogenesis merupakan 2 proses kunci terjadinya proses ini. Matriks metaloproteinase dan *inhibitor* jaringan matriks metaloproteinase memegang peranan penting dalam degradasi matriks ekstraseluler dan *remodeling* jaringan adiposa. Gangguan pada proses ini sebagai akibat disregulasi faktor-faktor diatas akan menyebabkan trauma, kematian dan inflamasi adiposit (Kalupahana NS, 2011).

Penelitian pada tikus menunjukkan bahwa peningkatan jaringan adiposa yang tidak diimbangi dengan peningkatan jaringan pendukung seperti jaringan vaskuler akan mengakibatkan terjadinya hipoksia jaringan yang akan memicu ekspresi gen *hypoxia-inducible factor-1* dan gen inflamasi. Tekanan parsial oksigen pada jaringan adiposa subkutan berkorelasi negatif dengan adipositas pada manusia. Maka hipoksia dapat

menjadi pemicu terjadinya inflamasi jaringan adiposa. Baik penelitian pada binatang maupun manusia mendukung peranan stres retikulum endoplasma jaringan adiposa sebagai penyebab lain terjadinya inflamasi pada obesitas (Kalupahana NS, 2011).

Obesitas memicu terjadinya resistensi insulin pada otot, hati dan jaringan adiposa. Banyak penelitian telah dilakukan untuk menjelaskan mekanisme terjadinya resistensi insulin akibat obesitas. Inflamasi *low-grade* kronik yang terjadi pada jaringan adiposa tampaknya merupakan faktor utama dalam patogenesis resistensi insulin akibat obesitas. Banyak penelitian yang telah membuktikan hal ini. Pertama, over ekspresi sitokin proinflamasi adiposa spesifik seperti MCP-1 memicu resistensi insulin. Kedua, netralisasi atau *knockdown* mediator inflamasi seperti TNF α , MCP-1 memproteksi tikus dari resistensi insulin akibat diet tinggi lemak. Yang terakhir, over ekspresi adipokin anti inflamasi seperti adiponektin mencegah tikus dari resistensi insulin akibat diet tinggi lemak (Kalupahana NS, 2011).

Peningkatan sitokin proinflamasi dapat menginduksi resistensi insulin melalui beberapa mekanisme. Sitokin proinflamasi dapat menginduksi ekspresi SOCS3 yang akan menghambat sinyal insulin melalui inhibisi aktivitas IRS. Sitokin proinflamasi juga mengaktifkan berbagai kinase serin intraseluler seperti JNK dan *inhibitor κ B kinase*. Peningkatan kadar FFA sirkulasi akibat resistensi insulin pada jaringan adiposa pada akhirnya juga dapat menghambat sinyal insulin melalui

fosforilasi serin pada IRS dan kemudian mengakibatkan resistensi insulin pada otot dan hati (Kalupahana NS, 2011).

Meskipun ketidakseimbangan antara sitokin pro dan anti inflamasi dapat memicu resistensi insulin melalui efek parakrin, efek endokrin adipositokin juga penting dalam perkembangan resistensi insulin pada otot dan hati. Contohnya, kadar adiponektin sirkulasi yang merupakan adipokin yang khusus disekresi oleh jaringan adiposa, berkorelasi positif dengan sensitivitas insulin baik pada manusia maupun tikus. Individu dengan adiponektin plasma yang tinggi berisiko lebih rendah untuk mengalami diabetes tipe 2. Inflamasi jaringan adiposa pada obesitas berperan penting terhadap terjadinya resistensi insulin. Oleh karena itu, penelitian dengan menggunakan tikus model dengan berbagai derajat obesitas penting dilakukan (Kalupahana NS, 2011).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa pengaktifan AMP kinase merupakan bagian dari efek sinyal adiponektin. AMP kinase akhir-akhir ini, dianggap sebagai komponen yang berperan dalam mekanisme kerja metformin sehingga diduga adiponektin mempunyai efek metabolik anti diabetik melalui peningkatan sensitivitas insulin. Secara garis besar dampak adiponektin terhadap respon inflamasi adalah menghambat produksi TNF- α , sehingga dianggap adiponektin adalah anti inflamasi (Chandran M, 2003 ; Fernandez R, 2004).

Peningkatan TNF α dalam jaringan adiposa adalah sitokin yang pertama kali diteliti pada mencit obes oleh Hotamisligil dkk pada tahun

1993. Sesudah itu, literatur yang membahas tentang sitokin inflamasi semakin banyak, misalnya CRP, IL-6, PAI-1. Pengaktifan kinase inflamasi seperti IKK β dan JNK1 merupakan bukti tambahan terjadinya pengaktifan jalur inflamasi intraseluler pada obesitas (Ye J, 2010 ; Hotamisligil, 1995)

Peningkatan TNF α pada keadaan resistensi insulin akan menekan proses penyandian *post receptor* sehingga menghambat aktivitas IRT (*Insulin Receptor Tyrosine*) kinase dan menghambat translokasi GLUT 4, sehingga berakibat ambilan glukosa kedalam sel berkurang dan glukosa darah meningkat.

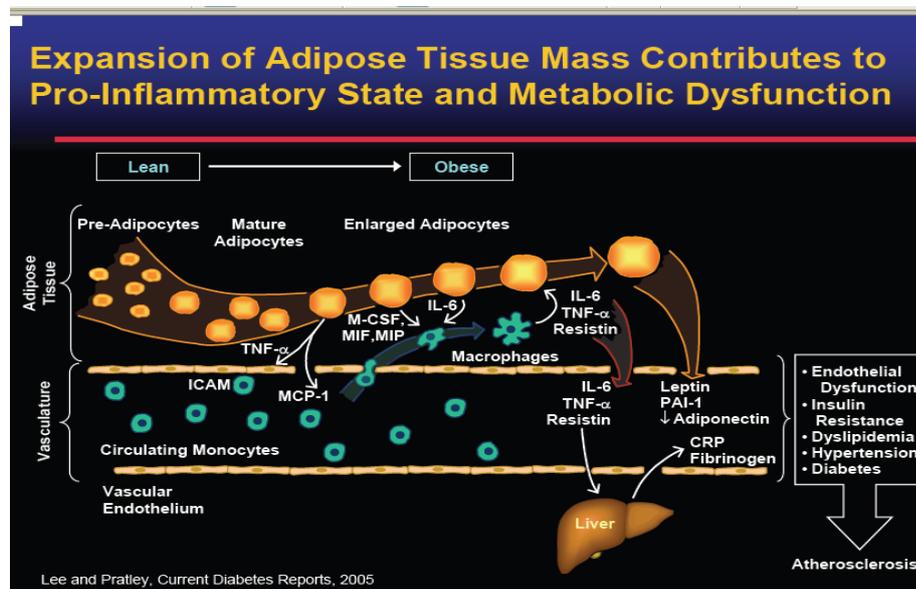
Sel adiposit model binatang coba yang obes ditandai dengan adanya suasana inflamasi atau disebut juga sebagai sel lemak yang sedang “sakit” (*sick fat cells*), serta tampak adanya infiltrasi makrofag yang sejalan dengan derajat obesitas. Perubahan pada adiposit dalam hal jumlah dan ukuran sel, menyebabkan perubahan pada daerah sekitarnya dan terjadi modifikasi fungsi parakrin dari adiposit. Pada keadaan obes, adiposit akan mensekresi TNF α dan *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1). Sel endotel juga menghasilkan MCP-1 sebagai respons terhadap rangsangan sitokin. Keduanya bertanggung jawab pada peningkatan makrofag pada jaringan adiposa. Xu dkk (2003) membuktikan bahwa ekspresi MCP-1 mendahului ekspresi petanda dari makrofag dalam perkembangan obesitas (Xu H, 2003 ; Lee YH, 2005)

Perubahan lemak dari yang normal menjadi obes dipengaruhi oleh adanya faktor genetik dan gaya hidup dengan pola konsumsi yang

berlebihan. Dalam perkembangan menjadi obesitas, sel adiposit membesar, melepaskan TNF α dan MCP-1 ke pembuluh darah, sehingga merangsang sel monosit berubah menjadi makrofag dan masuk ke jaringan adiposa. Jaringan adiposa akan berkembang menjadi bertambah besar dan bertambah banyak. Sel adiposit bersama makrofag selanjutnya terjadi pergesekan satu sama lain yang kemudian merangsang pelepasan adipositokin dan sel pro inflamasi seperti TNF α dan IL-6 (Lee YH,2005 ; Wellen KE, 2003)

Keberadaan makrofag pada jaringan adiposa akan menghasilkan berbagai sitokin, diantaranya IL-6 dan TNF α , yang akan mengaktifkan *Jun N-terminal kinase* (JNK) dan *Nuclear Factor* $\kappa\beta$ (NF $\kappa\beta$). Pengaktifan faktor proinflamasi tersebut pada gilirannya akan mengganggu fosforilasi reseptor insulin, sehingga reseptor insulin tidak dapat berfungsi secara optimal untuk berikatan dengan lepasan insulin dalam sirkulasi, dan menimbulkan keadaan klinis yang dikenal sebagai resistensi insulin. Oleh sebab itu disfungsi adiposit tersebut, atau lebih dikenal sebagai "*sick fat cells*" pada gilirannya akan mengakibatkan resistensi insulin pada penderita (Xu H, 2003).

Peningkatan kadar TNF α dalam sirkulasi orang obes tidak hanya berkaitan dengan over produksi pada jaringan adiposa, namun juga merupakan efek sistemik leptin dan adipokin lainnya yang mungkin menginduksi sekresi TNF α dari makrofag dan limfosit (Nur Aslan, 2010).



Gambar 3. Patogenesis obesitas (Lee YH, 2005)

Perbedaan relatif kadar TNF α tergantung pada kondisi klinis, genetik dan lingkungan pada populasi tertentu, dan batas nilainya masih kontroversial. Kadar TNF α dapat diperiksa dengan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) sensitivitas tinggi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Gurrola dkk (2009) diperoleh data bahwa pada individu *overweight* dan obes kadar TNF α lebih besar dari 1,36 pg/mL (Di'az CMG, 2009).

Kueht dkk (2008) melaporkan bahwa terjadi peningkatan TNF α pada wanita Afrika-Amerika dengan obesitas kelas III (BMI > 40,0 kg/m²). Hal ini terjadi akibat pengaktifan NF κ B yang memainkan peran penting sebagai promoter ekspresi gen proinflamasi yang menyertai stimulasi seluler oleh LPS (Kueht ML, 2009).

Tumor Necrosis Factor α dapat menginduksi resistensi insulin melalui beberapa mekanisme termasuk penurunan regulasi reseptor insulin, penurunan sintesis GLUT4 dan pengaruhnya terhadap aktivitas lipolisis. Hubungan timbal balik antara obesitas dan TNF α sangat kompleks dan mungkin melibatkan banyak hal diantaranya genetik, jenis kelamin dan proses metabolik. Namun demikian, sudah jelas bahwa TNF α berperan penting dalam fungsi dan massa sel adiposit yang berimplikasi terhadap resistensi insulin dan diabetes (Farmer JA, 2008).

Tumor Necrosis Factor α menurunkan aktivitas reseptor tirosin kinase yang diinduksi oleh insulin dan ekspresi reseptor insulin IRS-1 dan GLUT-4, dan meningkatkan fosforilasi serin 307 pada IRS-1, sehingga mengganggu kemampuan insulin untuk berikatan dengan reseptornya dan mengawali menurunnya sinyal insulin (Jain SK, 2009).

Cara umum untuk mengukur sensitivitas insulin adalah secara surogat dengan memeriksa kadar insulin puasa atau kadar insulin setelah pembebanan glukosa. Banyak variasi prosedur yang digunakan untuk mendeteksi resistensi insulin secara klinis. Yang paling baku dipakai dalam penelitian dengan pengukuran yang spesifik adalah cara klem euglikemik hiperinsulinemik dengan cara mengukur jumlah rata-rata glukosa yang diberikan intravena untuk mempertahankan normoglikemia bila insulin diinfuskan. Cara kedua yang kurang invasif adalah dengan metode *Frequently Sampled Intravenous Glucose Tolerance Test (FSIVGTT)*. Cara ketiga merupakan cara yang paling mudah secara klinis adalah pengukuran

insulin puasa. Modifikasi cara ini adalah *Oral Glucose Tolerance Test* (OGTT) pada manusia dan *Intraperitoneal Glucose Tolerance Test* (IPGTT) pada hewan coba (Cefalu WT, 2001).

E. Efek Kurkumin terhadap Resistensi Insulin dan TNF α pada Obesitas

Kunyit (*Curcuma longa*) termasuk salah satu tanaman rempah dan obat, habitat asli tanaman ini meliputi wilayah Asia khususnya Asia Tenggara. Hampir setiap orang Indonesia pernah mengonsumsi tanaman rempah ini, baik sebagai pelengkap bumbu masakan, jamu atau untuk menjaga kesehatan dan kecantikan, juga dapat digunakan sebagai obat berbagai penyakit.

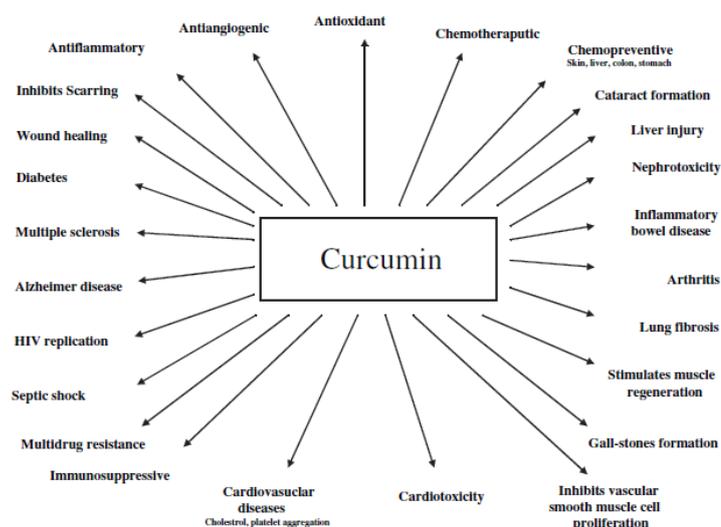
Taksonomi tanaman kunyit adalah sebagai berikut (Chattopadhyay I, 2004) :

Kelas : Liliopsida
Subklas : Commelinids
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Curcuma*
Species : *Curcuma longa*

Kunyit mengandung protein (6.3%), fat (5.1%), mineral (3.5%), karbohidrat (69.4%) dan *moisture* (13.1%). Kurkuminoid sebagai komponen yang utama dalam jenis kurkuma yang bertanggung jawab untuk efek

farmakologis karena sifat kimia dan biologinya. Kurkuminoid dalam *C. longa* dan spesies kurkuma lainnya terutama terdiri dari *curcumin* (1), *bis-demethoxycurcumin* (2) and *demethoxycurcumin* (3) dan telah banyak penelitian yang menunjukkan spektrum aktivitas biologiknya (Itokawa H, 1985 ; Uehara S, 1987)

Kurkumin pertama kali diisolasi pada tahun 1815 dan struktur kimianya ditemukan oleh Roughley dan Whiting pada tahun 1973 (Chattopadhyay I, 2004).

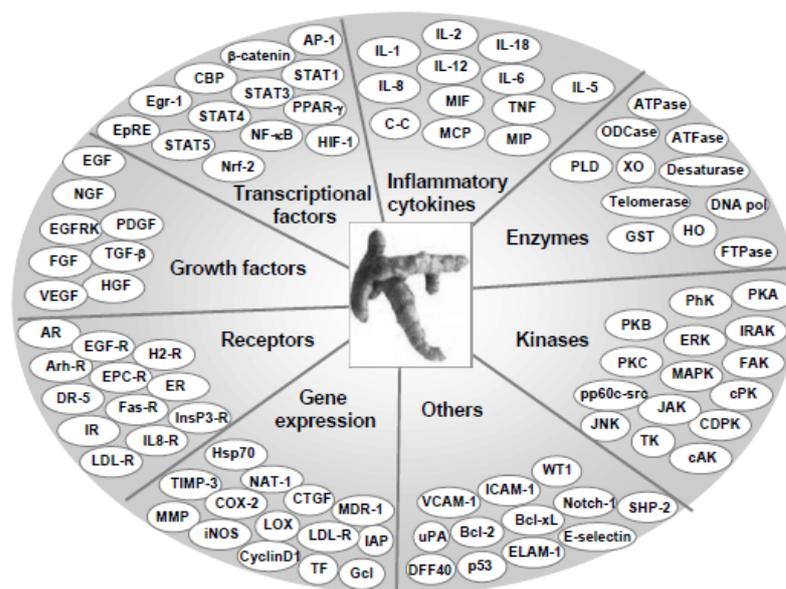


Gambar 4. Penggunaan kurkumin sebagai obat berbagai penyakit (Aggarwal BB, 2006)

Kurkumin merupakan suatu senyawa polifenol yang sudah digunakan berabad-abad sebagai obat di India dan mempunyai berbagai efek farmakologis, diantaranya efek anti inflamasi, anti oksidan, kemopreventif dan efek kemoterapi. Rhizoma dari kunyit ini telah lama

dikenal di dunia sebagai bumbu dapur dan pewarna makanan maupun pakaian (Mohamed MK, 2010 ; Aggarwal BB, 2006)

Kurkumin dihasilkan dari kunyit melalui proses ekstraksi etanol. Secara farmakologi, tanaman ini cukup aman berdasarkan pertimbangan bahwa tanaman ini telah digunakan sebagai bumbu dengan dosis sampai 100 mg/hari selama berabad-abad. Penelitian eksperimental yang telah dilakukan menunjukkan bahwa manusia dapat mentoleransi sampai dosis 8 gram/hari. Di Amerika Serikat, kurkumin digunakan sebagai pewarna makanan pada keju, bumbu, mustar, sereal, acar, keripik kentang, sup, es krim dan yogurt (Aggarwal BB, 2005).



Gambar 5. Target molekul kurkumin (Aggarwal BB, 2007)

Kurkumin telah digunakan secara luas untuk mengobati penyakit-penyakit inflamasi, termasuk obesitas dan penyakit metabolik lainnya.

Penelitian tentang efek terapi kurkumin telah banyak dilakukan. Kurkumin dipercaya sebagai agen anti oksidan dan anti inflamasi yang potensial. Saat ini penelitian lebih difokuskan pada mekanisme efek molekulernya. Berbagai penelitian tentang kurkumin sebagai anti oksidan dan efeknya terhadap kadar TNF α telah dilakukan. Kurkumin bekerja secara langsung melalui COX2, DNA polimerase, LOX, glycogen synthase-3 β (GSK-3 β) dan sitokin-sitokin (TNF α). Juga bekerja secara tidak langsung melalui NF κ B, AP-1, β -katenin, protein STAT dan PPAR γ (Shehzad A, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Seo dkk (2007) menunjukkan bahwa kurkumin terbukti sebagai agen penurun glukosa darah dan anti oksidan yang potensial pada tikus diabetes. Mekanismenya melalui perbaikan resistensi insulin dengan peningkatan kadar leptin dan insulin plasma. Tampaknya kurkumin mempengaruhi pelepasan insulin melalui induksi pada aktivitas elektrik sel β pankreas. Insulin menginduksi sintesis dan sekresi leptin melalui regulasi metabolisme glukosa di adiposit. Kurkumin juga memperbaiki metabolisme glukosa dan lemak di hati dan otot, melalui regulasi enzim glukoneogenik dan glikolitik (Jain SK, 2009 ; Seo KI, 2008).

Banyak pula penelitian yang menunjukkan efek kurkumin sebagai anti inflamasi. Kurkumin menghambat metabolisme asam arakhidonat, siklooksigenase, lipooksigenase dan sitokin-sitokin (interleukin dan TNF α), NF κ B dan pelepasan hormon steroid. Beberapa penelitian pada hewan, dosis 100 – 200 mg/kg berat badan memperlihatkan aktivitas anti inflamasi yang baik dan mengakibatkan efek samping yang ringan pada manusia.

Dosis letal (LD50) per oral pada mencit mencapai lebih dari 2 g/kg berat badan. Dalam suatu penelitian tentang toksisitas sub akut, tidak ditemukan efek samping yang signifikan pada tikus dengan pemberian kurkumin 1 – 2 g/kg berat badan selama 4 minggu. Menurut Sharma dkk (2007) sifat anti inflamasi kurkumin dengan cara menghambat produksi IL-1, IL-6 dan TNF- α dan merangsang sekresi IL-10 melalui pengaruhnya terhadap makrofag (Mullaicharam AR, 2012 ; Sharma S, 2007).

Dalam 2 dekade terakhir, terdapat banyak penelitian tentang kurkumin yang telah dipublikasikan yang mengungkapkan bahwa kurkumin memodulasi berbagai protein regulator, termasuk faktor transkripsi, enzim, sitokin dan *growth factor*. Penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa kurkumin menghambat berbagai jalur sinyal dan target molekul pada inflamasi dan penyakit metabolik terkait obesitas. Kurkumin dapat menghambat kompleks sinyal IKK yang bertanggung jawab untuk fosforilasi I κ B yang akan menghentikan pengaktifan NF κ B yang diinduksi oleh agen-agen inflamasi. Kurkumin juga menurunkan ekspresi berbagai sitokin proinflamasi termasuk TNF α , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12 melalui inaktivasi NF κ B (Shehzad A, 2011).

Penelitian yang dilakukan oleh Weisberg dkk (2008) menunjukkan bahwa kurkumin terbukti memperbaiki inflamasi terkait obesitas dan diabetes. Mereka melaporkan setelah pemberian 3% kurkumin dalam diet pada tikus percobaan, dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan cara menekan infiltrasi makrofag pada jaringan adipose putih (WAT),

meningkatkan produksi adiponektin, menurunkan aktivitas NF κ B, hepatomegali, dan petanda inflamasi di hepar (Weisberg SP, 2008).

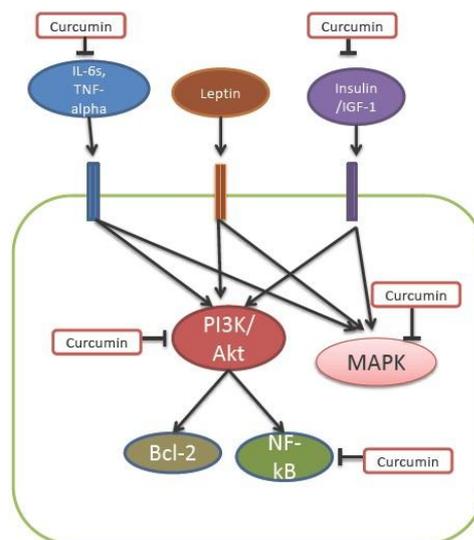
Penelitian oleh Wang dkk (2009) membuktikan bahwa kurkumin meningkatkan ambilan glukosa yang distimulasi oleh insulin pada sel dan menekan transkripsi dan sekresi TNF α dan IL-6 melalui palmitat dengan *concentration-dependent manner*. Palmitat dan glukosa tinggi dapat mengaktifkan NF κ B dan menginduksi TNF α dan IL-6 pada adiposit. Kurkumin menghambat pengaktifan NF κ B. Kurkumin juga menurunkan aktivitas JNK. Inhibisi JNK menekan ekspresi TNF α yang diinduksi oleh palmitat, sehingga disimpulkan bahwa kurkumin memediasi efeknya pada adiposit melalui inhibisi JNK (Aggarwal BB, 2010 ; Wang SL, 2009).

Gonzales dan Orlando (2008) melaporkan bahwa kurkumin menghambat sinyal NF κ B yang mengaktifkan TNF α pada adiposit dan menurunkan ekspresi sitokin secara signifikan. Mekanismenya diduga oleh karena kurkumin mencegah degradasi I κ B dan mengurangi translokasi nuklear NF κ B adiposit (Gonzales AM, 2008).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Jain dkk (2009) melaporkan bahwa suplementasi kurkumin menurunkan produksi sitokin inflamasi termasuk TNF α , IL-6, IL-8 dan MCP-1 dari monosit yang diinduksi oleh kadar glukosa yang tinggi. Mereka juga menunjukkan bahwa kadar TNF α , IL-6, MCP-1, glukosa dan hemoglobin terglikosilasi dalam darah menurun pada tikus diabetes yang diberi diet kurkumin (Jain SK, 2009).

Kurkumin juga telah terbukti menurunkan ekspresi gen yang diinduksi TNF α pada sel endotelial aorta sapi melalui penekanan aktivitas AP-1 dan NF κ B (Bierhous A, 1997).

Terdapat beberapa mekanisme efek protektif kurkumin pada obesitas. Kurkumin dapat menghambat jalur MAPK dan Akt. Kurkumin juga menurunkan NF κ B yang diinduksi oleh TNF α , mengurangi kadar TNF α , IL-6, reseptor IGF-1 dan mRNA COX2. Sehingga kurkumin mengurangi inflamasi pada obesitas (Chen J, 2012).



Gambar 6. Mekanisme kurkumin menghambat inflamasi (Chen J, 2012)

Penelitian efek anti inflamasi ekstrak etanol kunyit terhadap tikus juga telah dilakukan di Indonesia oleh Rustam E dkk (2007) dan menyimpulkan bahwa ekstrak etanol kunyit dengan berbagai dosis memperlihatkan efek anti inflamasi dan pada dosis tinggi 1000 mg/kg dapat menekan udem sebesarnya sebesar 78,37%. Hal ini diduga merupakan efek dari

kurkumin sebagai salah satu bahan aktif kunyit yang dapat menghambat pembentukan prostaglandin dan menekan efektivitas enzim siklooksigenase (Rustam E, 2007).

F. Efek *Fish Oil* terhadap Resistensi Insulin dan TNF α pada Obesitas

Lipid merupakan komponen esensial dalam diet, yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan fungsi yang normal. Asam lemak esensial seperti asam linoleat (omega 6) dan asam linolenat (omega 3) merupakan komponen lipid yang penting. Contoh peran fisiologik *Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA)* rantai panjang adalah asam eikosapentanoat (EPA), asam dokosaheksanoat (DHA) dan asam arakhidonat (ARA) yang diproduksi melalui desaturasi dan elongasi asam lemak atau diperoleh dari diet (Yeung DL, 2003).

Fish oil berasal dari jaringan *oily fish*. *Fish oil* mengandung asam lemak omega 3 EPA dan DHA, yang merupakan prekursor eikosanoid yang penting untuk mengurangi inflamasi. Ikan sebenarnya tidak memproduksi asam lemak omega 3, tetapi memperolehnya dengan mengonsumsi mikroalga.

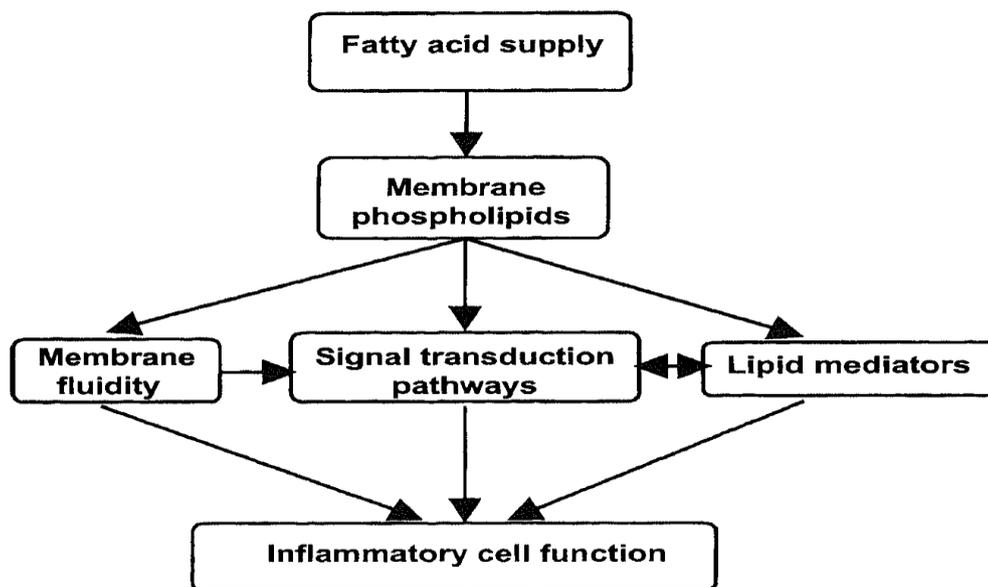
Tabel 1. Komposisi asam lemak DHA dan EPA

Nama ikan	DHA (%)	EPA (%)
Ikan Selar Kuning	9.4	3.2
Ikan Kembung	14.9	5.0
Ikan Layang	21.8	5.4
Ikan Pari	21.3	3.7
Ikan Lemuru	16.1	12.3

Asam lemak mempengaruhi inflamasi melalui berbagai mekanisme, sebagian besar berdasarkan komposisi asam lemak membran sel. Perubahan komposisi ini dapat memodifikasi fluiditas membran, sinyal sel yang mempengaruhi ekspresi gen dan pola produksi mediator lipid. Respons inflamasi sel melibatkan asam lemak omega 6 asam arakhidonat. Eikosanoid yang diproduksi dari asam arakhidonat berperan dalam proses inflamasi. Asam eikosapentanoat juga menghasilkan eikosanoid namun dengan karakteristik yang berbeda dengan eikosanoid yang dihasilkan oleh asam arakhidonat. EPA dan DHA menghasilkan resolvin yang mempunyai efek anti inflamasi. Perubahan komposisi asam lemak sel inflamasi juga mempengaruhi produksi mediator peptida seperti sitokin (Calder PC, 2010).

Kaitan antara asam lemak dan inflamasi terdapat pada komposisi fosfolipid membran sel inflamasi, karena komposisi asam lemak fosfolipid membran dapat mempengaruhi berbagai aktivitas membran yang dapat mempengaruhi respons seluler (Calder PC, 2003).

Fluiditas membran sel inflamasi sebagian ditentukan oleh komposisi kandungan fosfolipidnya. Fluiditas membran mempengaruhi aktivitas *membrane-bound* protein termasuk reseptor, transporter dan enzim yang akan mempengaruhi respons sel inflamasi terhadap stimulus. Eikosanoid, suatu kelompok mediator, dihasilkan dari asam lemak yang dibebaskan dari fosfolipid membran, sehingga kemampuan untuk memproduksi mediator ini sangat dipengaruhi oleh komposisi asam lemak fosfolipid membran (ketersediaan substrat). Jadi, komposisi asam lemak sel inflamasi sangat penting untuk regulasi respons fungsional sel tersebut (Calder PC, 2003).



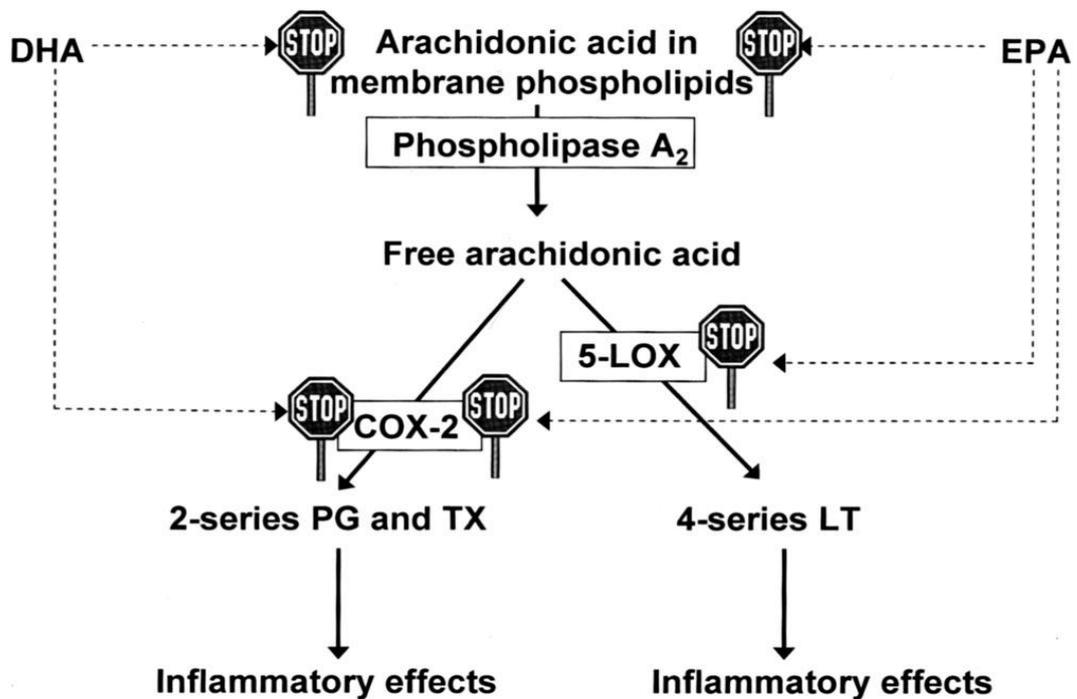
Gambar 7. Mekanisme pengaruh suplai asam lemak terhadap fungsi sel inflamasi (Calder PC, 2003)

Peningkatan konsumsi omega 3 EPA dan DHA akan meningkatkan proporsi asam lemak tersebut dalam fosfolipid sel inflamasi. Penggabungan EPA dan DHA ke dalam sel inflamasi manusia

terjadi secara *dose-respons*. Suplementasi fish oil dalam diet telah terbukti menurunkan produksi PGE₂, B₂ tromboksan, LTB₄, 5-asam hidroksieikosatetaranoat, dan LTE₄ oleh sel inflamasi. Kelley dkk melaporkan bahwa 6 g DHA / hari menghasilkan penurunan produksi PGE₂ (60%) dan LTB₄ (75%) melalui sel mononuklear yang distimulasi oleh endotoksin (Calder PC, 2006).

Asam eikosapentanoat juga dapat bertindak sebagai substrat untuk COX dan 5-LOX, meningkatkan eikosanoid dengan struktur yang sedikit berbeda dengan eikosanoid yang terbentuk dari asam arakhidonat. Bagga dkk melaporkan bahwa PGE₃ merupakan induser kurang ampuh terhadap ekspresi gen COX-2 dalam fibroblas dan produksi IL-6 oleh makrofag. Namun demikian, PGE₂ dan PGE₃ memiliki efek inhibisi terhadap efek produksi TNF α dan IL-1 oleh sel mononuklear manusia yang distimulasi oleh endotoksin. Berkurangnya mediator yang berasal dari asam arakhidonat ketika mengonsumsi fish oil telah membuktikan efek fish oil sebagai antiinflamasi (Calder PC, 2006).

Meskipun efek antagonis metabolisme asam arakhidonat adalah efek anti inflamasi utama omega 3, asam lemak ini memiliki beberapa efek anti inflamasi lain yang mungkin berhubungan dengan produksi eikosanoid. Sebagai contoh, penelitian telah menunjukkan bahwa, bila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup, *fish oil* mengakibatkan penurunan kemotaksis leukosit, penurunan produksi spesies oksigen reaktif dan sitokin pro inflamasi, dan penurunan ekspresi adhesi molekul (Calder PC, 2006).



Gambar 8. Mekanisme klasik efek anti inflamasi asam lemak omega 3 (Calder PC, 2006)

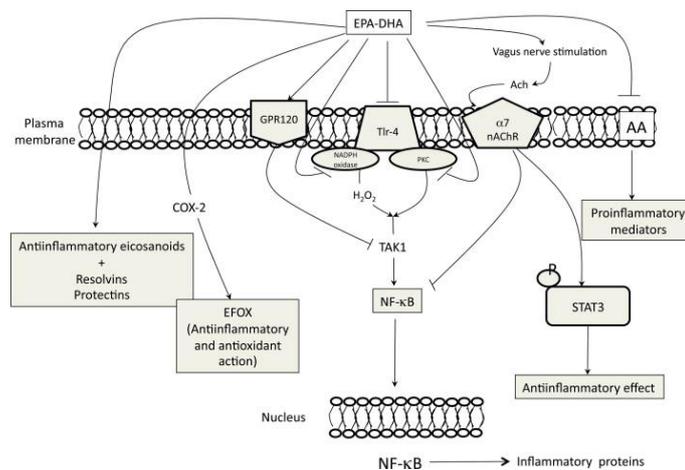
Philip C. Calder (2009) dalam sebuah *review* melaporkan bahwa efek omega 3 terhadap ekspresi gen sitokin inflamasi dapat melalui modifikasi aktivitas faktor transkripsi, sebagian besar melalui NF κ B dan PPAR- γ (Calder PC, 2009).

Nuclear Factor κ B diaktifkan sebagai akibat dari kaskade sinyal yang dipicu oleh stimulus inflamasi ekstraseluler dan melibatkan fosforilasi. EPA atau fish oil menurunkan pengaktifan NF κ B yang diinduksi oleh lipopolisakarida pada kultur monosit manusia dan hal ini dikaitkan dengan penurunan fosforilasi IKB, mungkin karena berkurangnya pengaktifan *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) (Calder PC, 2009).

Penelitian pada tikus telah membuktikan bahwa EPA dan DHA dapat mencegah dan mengatasi resistensi insulin terkait diet tinggi lemak atau diet tinggi sukrosa. EPA dan DHA mengurangi adipositas pada manusia khususnya jika dikombinasi dengan restriksi energi. Asam lemak ini mencegah perkembangan adipositas akibat diet tinggi lemak dan hipertropi adiposit pada tikus. Terdapat 2 mekanisme yang mungkin mendasari efek anti obesitas ini. Pertama, EPA dan DHA dapat meningkatkan oksidasi asam lemak di hati, jaringan adiposa dan usus halus pada tikus *in vivo* dan adiposit *in vitro*. *Fish oil* juga meningkatkan oksidasi asam lemak pada manusia dengan menurunkan *respiratory quotient*. Kedua, EPA dan DHA menghambat lipogenesis hepatic. Efek terhadap oksidasi asam lemak dapat terjadi melalui mekanisme pengaktifan AMPK pada jaringan adiposa. PUFA juga diketahui memicu biogenesis mitokondria (Kalupahana NS, 2011).

Meskipun kemungkinan bahwa perbaikan resistensi insulin sistemik terjadi secara sekunder akibat berkurangnya massa lemak, namun hal ini juga dapat terjadi akibat kerja langsung EPA dan DHA dalam memperbaiki fungsi jaringan adiposa. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sensitivitas insulin yang dimediasi oleh EPA dan DHA tetap terjadi meskipun terjadi peningkatan massa lemak. EPA dan DHA memodulasi sekresi adipokin dari jaringan adiposa. EPA dan DHA meningkatkan kadar adiponektin plasma pada manusia dan tikus obes, yang mungkin merupakan mekanisme potensial bagaimana EPA dan DHA memperbaiki sensitivitas insulin. EPA dan DHA juga menginduksi sekresi leptin dan

visfatin serta menurunkan ekspresi beberapa sitokin proinflamasi dari jaringan adiposa, termasuk TGF α , IL-6, MCP-1 dan PAI-1. Bukti-bukti terbaru menunjukkan bahwa aktivitas anti inflamasi inilah yang memegang peranan utama pada efeknya dalam memperbaiki sensitivitas insulin (Kalupahana NS, 2011).



Gambar 9. Mekanisme efek anti inflamasi *fish oil* (Giudetti AM, 2012)

Suplementasi dengan EPA dan DHA juga mengurangi inflamasi melalui penurunan kadar sitokin proinflamasi TNF α , IL-1 dan IL-6 dalam sirkulasi. Mekanisme ini mungkin terkait dengan kemampuannya untuk memodulasi faktor transkripsi. Sintesis sitokin diatur oleh NF κ B. Secara *in vitro* EPA mencegah pengaktifan NF κ B yang diinduksi oleh LPS dan ekspresi TNF α mRNA (Duda MK, 2009).

Studi kultur sel menunjukkan bahwa EPA dan DHA dapat menghambat produksi IL-1 dan TNF α oleh monosit dan produksi IL-6 dan IL-8 oleh sel endotel vena. Pemberian *fish oil* menurunkan produksi *ex vivo* TNF α , IL-1, dan IL-6 oleh makrofag tikus. Suplementasi pada subjek yang

sehat dengan *fish oil* yang mengandung > 2 g EPA+DHA / hari menurunkan produksi TNF α atau IL-1 atau IL-6 oleh sel mononuklear dalam beberapa penelitian. Caughey dkk melaporkan korelasi terbalik yang signifikan antara kandungan EPA sel mononuklear dan kemampuan sel-sel untuk memproduksi TNF α dan IL-1 sebagai respons terhadap endotoksin (Calder PC, 2006).

Kelley dkk menunjukkan bahwa 6 g DHA / hari selama 12 minggu menghasilkan penurunan produksi TNF α (20%) dan IL-1 (35%) oleh sel mononuklear yang distimulasi oleh endotoksin. Baik EPA dan DHA mengakibatkan penurunan konsentrasi TNF α plasma, meskipun efek DHA lebih kuat (reduksi 35% dibandingkan dengan 20% untuk EPA) (Calder PC, 2006).

Asam eikosapentanoat dan DHA dapat menghambat produksi IL-1 dan TNF α oleh monosit. Pada keadaan inflamasi, fosfolipase A2 menghidrolisis fosfolipid membran, yang menyediakan asam arakhidonat untuk produksi prostaglandin E2 (PGE2) dan leukotrien B4 (LTB4), suatu eikosanoid proinflamasi. Studi *invitro* menunjukkan bahwa PGE2 dan LTB4 mempunyai efek berlawanan dengan produksi sitokin proinflamasi *fish oil* mungkin merubah produksi sitokin proinflamasi secara langsung melalui kandungan omega 3, mengganti asam arakhidonat pada membran sel. Hal ini akan menurunkan produksi PGE2 dan LTB4 dan meningkatkan formasi PGE3 dan LTB5 (Calder PC, 2003).

Faktor genetik juga mempengaruhi produksi TNF α . Grimble dkk (2002) melaporkan bahwa *fish oil* mampu menurunkan produksi TNF α pada subjek sehat melalui polimorfisme TNF α dan gen limfotoksin α (Grimble RF, 2002).

Penelitian yang dilakukan oleh Muurling M dkk yang dipublikasikan pada tahun 2003 menunjukkan bahwa mencit obes yang diberi diet *fish oil* mengalami penurunan kadar TNF α disertai penurunan berat badan. Penurunan berat badan diduga akibat berkurangnya massa lemak akibat meningkatnya lipolisis jaringan adiposa (Muurling M, 2003).