

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obesitas ditandai dengan akumulasi lemak tubuh yang berlebihan sehingga menyebabkan berat badan seseorang jauh melebihi batas normal dan menimbulkan risiko kesehatan yang signifikan. Berdasarkan klasifikasi dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), terdapat dua kategori indeks massa tubuh (IMT) untuk obesitas, yaitu: seseorang dikategorikan obesitas jika memiliki $IMT \geq 30 \text{ kg/m}^2$ sesuai klasifikasi global WHO, atau $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ sesuai klasifikasi WHO Asia-Pasifik. Obesitas telah menjadi masalah epidemik dengan dampak serius terhadap kesehatan dan perekonomian global. Peningkatan prevalensi obesitas berkontribusi terhadap penurunan kualitas hidup dan harapan hidup generasi mendatang. Menurut WHO, pada tahun 2022, sebanyak 8 miliar penduduk dunia mengalami obesitas. Di Indonesia, berdasarkan Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018 dan Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023, prevalensi obesitas pada orang dewasa menunjukkan peningkatan yang konsisten setiap tahunnya, dari 11,7% pada tahun 2007 menjadi 21,8% pada tahun 2018, dan mencapai angka tertinggi sebesar 36,8% pada tahun 2023. (Lastialno et al., 2024)

Studi-studi dari penelitian keluarga dan kembar menunjukkan bahwa sekitar 40–70% variasi obesitas pada manusia disebabkan oleh faktor genetik. Meskipun dalam 20 tahun terakhir perubahan lingkungan telah berkontribusi terhadap peningkatan angka obesitas, faktor genetik tetap memainkan peran penting dalam perkembangan obesitas. Pendekatan Genome-Wide Association Study (GWAS) telah berhasil mengidentifikasi lebih dari 400 gen yang berhubungan dengan diabetes melitus tipe 2 (T2DM), namun gen-gen tersebut hanya mampu memprediksi sekitar 5% risiko obesitas. Rendahnya kekuatan prediktif ini kemungkinan disebabkan oleh interaksi kompleks antar gen (gene-gene interaction), interaksi gen-lingkungan (gene-environment interaction), serta faktor epigenetik yang belum sepenuhnya diidentifikasi melalui metode genetika populasi saat ini. Banyak gen yang berasosiasi dengan obesitas diketahui berperan dalam jalur-jalur regulasi homeostasis energi. (Lin & Li, 2021)

Faktor genetik memiliki peran yang signifikan dalam perkembangan obesitas, dengan banyak gen yang terlibat dalam awal mula dan progresivitas kondisi ini. Salah satu varian genetik **melanocortin 4 receptor (MC4R)** telah dikaitkan dengan obesitas yang terjadi sejak usia dini, yang semakin menegaskan peran gen ini dalam keseimbangan energi dan regulasi berat badan. Studi asosiasi genom luas (GWAS) telah mengidentifikasi berbagai varian genetik yang meningkatkan risiko obesitas, sehingga memberikan pemahaman lebih lanjut mengenai kerangka genetik kompleks yang mendasari kondisi ini. Selain itu, gangguan pada jalur sinyal leptin, yang berperan penting dalam pengaturan nafsu makan dan keseimbangan energi, semakin memperkuat bukti tentang dasar genetik obesitas. Meskipun faktor genetik berkontribusi terhadap kerentanan seseorang terhadap obesitas, pilihan gaya hidup seperti pola makan dan aktivitas fisik juga memiliki peran yang sangat penting. Studi keluarga dan kembar telah memberikan wawasan tentang hereditas indeks massa tubuh (IMT), dengan estimasi berkisar antara 20% hingga 90%, tergantung pada variasi populasi dan desain penelitian yang digunakan. (Imangaliyeva et al., 2025)

Gen melanocortin 4 receptor (MC4R) yang terletak pada kromosom 18q21 mengkode reseptor yang berikatan dengan α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) dan termasuk dalam kelompok reseptor protein yang berikatan dengan G-protein (G-protein-coupled receptor). MC4R berperan dalam metabolisme asam lemak di hati (dengan meningkatkan

lipolisis) serta menurunkan sekresi insulin di pankreas. Ekspresi MC4R terjadi di hipotalamus sebagai respons terhadap jalur sinyal leptin. Diperkirakan bahwa MC4R dapat menginduksi proses lipolisis secara langsung pada adiposit kelinci, dan dalam kadar yang lebih rendah juga terjadi pada adiposit subkutan manusia obesitas, yang dimediasi oleh respons intraseluler terhadap sinyal neuronal. Beberapa sinyal asosiasi telah diidentifikasi antara variasi eksonik MC4R dengan tingkat obesitas yang berbeda. Mutasi langka pada gen MC4R, di mana peningkatan adipositas merupakan bagian dari gangguan hereditas monogenik, telah ditemukan. Beberapa studi populasi menghasilkan bukti serupa yang menunjukkan adanya hubungan antara MC4R rs2229616 (Val103Ile) dengan proteksi terhadap obesitas, peningkatan aktivitas lipolisis MC4R, dan pada akhirnya penurunan berat badan. Sebaliknya, terdapat dugaan bahwa varian di wilayah non-koding di bagian 3' dari MC4R mungkin berhubungan dengan peningkatan risiko obesitas, sebagaimana diidentifikasi melalui analisis GWAS pada populasi Eropa. (Bakhashab et al., 2020a)

Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pemahaman mengenai peran gen MC4R rs2229616 dan faktor non-genetik dalam obesitas, serta mendukung pengembangan pendekatan medis yang lebih personal dan berbasis bukti dalam penanganan obesitas di Indonesia.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat hubungan antara pola diet dan aktivitas fisik dengan SNP MC4R rs2229616 pada subjek dewasa obesitas dan non-obesitas?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Untuk menganalisis hubungan antara pola diet dan aktivitas fisik dengan SNP MC4R rs2229616 pada subyek dewasa obesitas dan non obesitas.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mendeskripsikan pola diet dan aktivitas fisik pada kelompok obesitas dan non-obesitas.
2. Menganalisis hubungan SNP MC4R rs2229616 dengan pola diet pada kelompok obesitas dan non-obesitas.
3. Menganalisis hubungan SNP MC4R rs2229616 dengan aktivitas fisik pada kelompok obesitas dan non-obesitas.

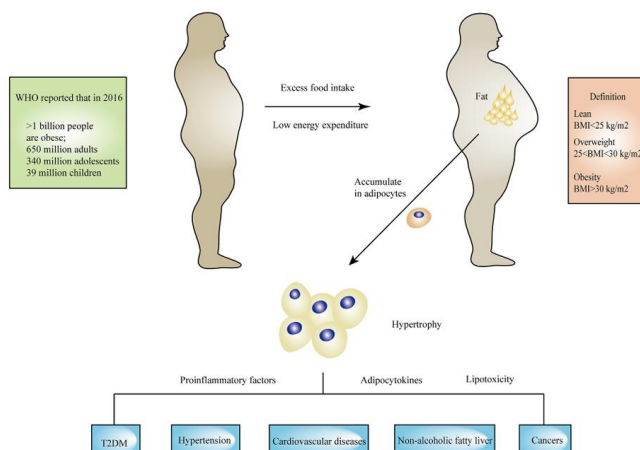
1.4 Teori

1.4.1 Definisi dan Epidemiologi Obesitas

Obesitas didefinisikan sebagai akumulasi lemak yang tidak normal atau berlebihan (Organisasi Kesehatan Dunia, WHO) dan telah digambarkan sebagai 'pandemi global'. Kelebihan berat badan atau obesitas didefinisikan dengan ukuran indeks massa tubuh (BMI). BMI obesitas adalah lebih dari 30 kg/m² sedangkan BMI 25-29,9 kg/m² didefinisikan sebagai kelebihan berat badan. Standar untuk obesitas dan kelebihan berat badan berbeda pada populasi tertentu. Sebagai contoh, untuk orang Cina, standarnya berbeda dengan standar WHO. (Jin et al., 2023b)

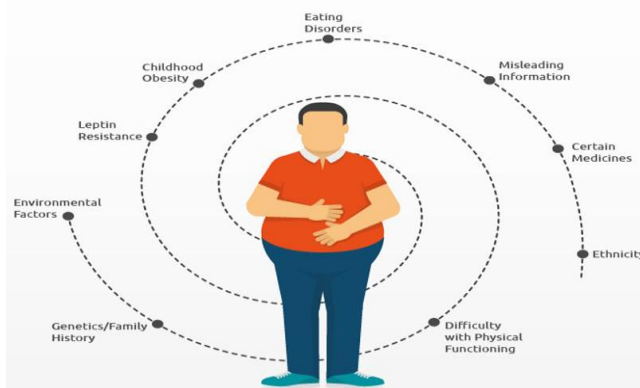
Menurut laporan WHO yang diterbitkan pada tahun 2021, lebih dari 1 miliar orang mengalami obesitas, termasuk 650 juta orang dewasa, 340 juta remaja, dan 39 juta anak-anak berdasarkan data yang dikumpulkan pada tahun 2016. Prevalensi global kelebihan

berat badan atau obesitas telah meningkat sebesar 27% pada usia dewasa dan 47% pada masa kanak-kanak selama tahun 1980 hingga 2013. Jumlah ini masih terus meningkat, dan WHO memperkirakan akan meningkat sekitar 167 juta orang pada tahun 2025. Obesitas merupakan faktor risiko untuk berbagai penyakit, terutama diabetes melitus tipe 2 (T2DM), penyakit hati berlemak non-alkohol (NAFLD), steatohepatitis non-alkohol (NASH), penyakit kardiovaskular (CVD), dan beberapa jenis kanker. SARS-CoV-2, yang juga disebut COVID-19, telah menginfeksi lebih dari 598 juta orang dan menewaskan lebih dari 6,2 juta orang di seluruh dunia. Orang dengan obesitas yang terjangkit COVID-19 menunjukkan tingkat rawat inap, rawat inap di ICU, dan kematian yang lebih tinggi. Obesitas dan penyakit terkait memberikan beban yang berat pada individu, masyarakat, dan ekonomi, melalui peningkatan biaya kesehatan masyarakat, morbiditas dan mortalitas yang lebih besar. (Jin et al., 2023b)



Gambar 1. 1 Epidemi obesitas, definisi obesitas, dan penyakit terkait obesitas.

Obesitas diklasifikasikan berdasarkan tingkat peningkatan indeks massa tubuh (IMT). IMT sebesar 25 hingga 30 kg/m² didefinisikan sebagai kelebihan berat badan (overweight), sedangkan IMT 30 hingga 35 kg/m², 35 hingga 40 kg/m², dan lebih dari 40 kg/m² masing-masing dikategorikan sebagai obesitas kelas 1, kelas 2, dan kelas 3. Klasifikasi ini digunakan sebagai panduan dalam rekomendasi skrining serta dalam penyusunan pedoman terapi farmakologis dan bedah untuk obesitas. Namun demikian, IMT memiliki keterbatasan dalam memprediksi risiko terkait obesitas maupun respons terhadap pengobatan. Sistem klasifikasi lain yang berpotensi memberikan prognostik yang lebih baik serta memungkinkan pendekatan manajemen yang lebih individual mencakup pengukuran lingkaran pinggang, status metabolik, adanya sarkopenia, dan fenotipe fisiologis berdasarkan motilitas lambung, pengeluaran energi, karakteristik psikobehavioral, serta rasa kenyang. Beberapa dari sistem ini telah divalidasi secara menyeluruh, sedangkan yang lain, meskipun menjanjikan, masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan perannya dalam praktik klinis.



Gambar 1. 2 Pengertian obesitas dan penyebabnya (Jin et al.,2023)

Ada beberapa cara menentukan obesitas :

a. Pengukuran Indeks Massa Tubuh (IMT)

Indeks Massa Tubuh (IMT), yang dihitung dengan rumus $[(\text{berat badan dalam kg})/(\text{tinggi badan dalam m}^2)]$, merupakan indeks sederhana yang digunakan untuk mengklasifikasikan status gizi orang dewasa ke dalam tiga kategori: “kurus,” “kelebihan berat badan,” atau “obesitas.” Meskipun awalnya dikembangkan pada tahun 1830-an oleh seorang matematikawan dan sosiolog asal Belgia, IMT masih banyak digunakan sebagai alat ukur obesitas dan prevalensinya. WHO sering menggunakan ambang batas tertentu dari nilai IMT untuk mengklasifikasikan obesitas pada orang dewasa. Klasifikasi WHO ini bermanfaat untuk mengidentifikasi individu yang mungkin memiliki risiko lebih tinggi terhadap morbiditas dan mortalitas akibat obesitas. Selama dua dekade terakhir, angka kejadian obesitas (yang dihitung sebagai $\text{IMT} > 30 \text{ kg/m}^2$ pada orang dewasa) telah meningkat pesat di berbagai negara berkembang. (Safaei et al., 2021)

Tabel 1. 1 Klasifikasi berat badan orang dewasa berdasarkan skema WHO

Klasifikasi	IMT (kg/m^2)	Risiko Komorbiditas
Kurus	$<18,5$	Rendah (tetapi risiko masalah klinis lainnya meningkat)
Berat badan normal	18,5–24,9	Rata-rata
Kelebihan berat badan	25,0–29,9	Sedikit meningkat
Obesitas	≥ 30	—
Obesitas I	30,0–34,9	Sedang
Obesitas II	35,0–39,9	Berat
Obesitas III	≥ 40	Sangat berat

b. Lingkar Pinggang (LP)

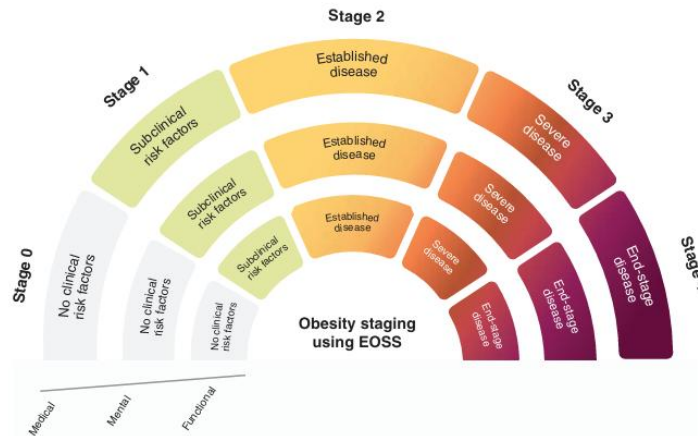
Lingkar pinggang merupakan salah satu indikator yang cukup bermanfaat untuk mengukur lemak perut dan sebagai penanda untuk penyakit kardiometabolik. Lingkar pinggang harus diukur pada saat pasien menggunakan pakaian yang tipis. Pengukuran dilakukan saat ekspirasi, pada titik tengah antara iga paling bawah dan penonjolan iliaka superior dengan menggunakan pita ukur secara horizontal. (KEPUTUSAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA, n.d.)

Tabel 1. 2 Lingkar pinggang obesitas menurut jenis kelamin

Klasifikasi	Lingkar Pinggang	
	Laki-laki	Perempuan
Konsensus Asia Pasifik	$>90 \text{ cm}$	$>80 \text{ cm}$

c. Edmonton Obesity Staging System (EOSS)

EOSS (*Edmonton Obesity Staging System*) adalah alat klinis yang digunakan untuk mengevaluasi komorbiditas terkait obesitas berdasarkan skala 5 tingkat. Tahapan pada skala ini telah terbukti berkorelasi dengan luaran klinis. EOSS memungkinkan penilaian terhadap dampak komorbiditas terkait obesitas pada individu, yang melampaui sekadar pengukuran berat badan. Komorbiditas tersebut merupakan faktor utama peningkatan morbiditas, mortalitas, dan beban biaya sistem kesehatan pada individu dengan obesitas. Peningkatan kualitas perawatan bagi individu dengan obesitas memerlukan akses yang efisien terhadap alat bantu klinis di tempat pelayanan (point-of-care) yang mampu mengumpulkan dan mensintesis informasi yang semakin kompleks, baik pada tingkat individu maupun praktik klinis. (Swaleh et al., 2021)



Gambar 1. 3 Penilaian Obesitas Berdasarkan Edmonton Obesity Staging System (EOSS)

d. Bioelectrical Impedance Analysis (BIA)

Penentuan obesitas dengan alat ini merupakan teknik yang praktis dan non invasif untuk mengukur total air tubuh (TBW) dan massa bebas lemak (FFM), sedangkan massa lemak dihitung dari selisih antara berat badan dan FFM. dan juga untuk populasi obesitas lebih akurat dalam memperkirakan lemak tubuh. Persamaan BIA yang spesifik untuk persentase lemak telah divalidasi untuk menentukan obesitas (Mallik et al., 2023).

1.4.2 Etiologi Obesitas

Obesitas disebabkan oleh berbagai factor yaitu faktor yang tidak dapat dimodifikasi dan faktor yang dapat dimodifikasi.

a. Faktor yang tidak dapat di modifikasi

1. Faktor genetik

Selama 20 tahun terakhir, telah dilakukan berbagai penelitian mengenai obesitas genetik yang menemukan bahwa mutasi genetik (perubahan abnormal pada urutan DNA), polimorfisme (variasi normal dalam urutan DNA yang umum ditemukan dalam populasi), dan perubahan ekspresi gen (proses di mana informasi yang dikodekan dalam gen diubah menjadi suatu fungsi), semuanya memiliki peran dalam meningkatkan kerentanan individu terhadap obesitas.

Terdapat tiga jenis obesitas genetik, yaitu:

- 1) Obesitas monogenik disebabkan oleh mutasi atau defisiensi pada satu gen dan merupakan penyebab obesitas yang jarang namun bersifat berat. Kondisi ini terjadi ketika terdapat mutasi pada salah satu gen yang terlibat dalam jalur leptin–melanokortin (lihat penjelasan di bawah). Gen-gen yang berhubungan dengan jenis obesitas ini dirinci dalam Tabel 1. Ciri khas dari obesitas monogenik antara lain adalah hiperfagia (rasa lapar yang tak terpuaskan) dan obesitas dengan onset dini (usia 3–5 tahun).
- 2) Obesitas poligenik terjadi akibat adanya berbagai varian gen secara simultan yang memberikan efek kumulatif. Terdapat beberapa gen yang telah diidentifikasi berasosiasi dengan jenis obesitas ini, antara lain FTO, MC4R, BDNF, INSIG2.
- 3) Obesitas sindromik, yang disertai dengan tanda-tanda kelainan perkembangan lainnya, dan dapat disertai atau tidak dengan sindrom malformasi kongenital. Tanda-tanda khas meliputi ciri dismorfik dan kelainan organ internal. Contoh sindrom yang berhubungan dengan obesitas antara lain Prader-Willi, Cohen, dan Bardet-Biedl; gen-gen lain seperti MKRN3, MAGEL2, NDN, NPAP1, SNURF-SNRPN, COH1/VPS13B, BBS 1–26

Genome-wide Association Studies (GWAS) memungkinkan para peneliti untuk menemukan bahwa akumulasi varian genetik memengaruhi kerentanan individu terhadap obesitas umum atau obesitas poligenik. Gen-gen yang lebih sering ditemukan pada individu dengan obesitas kemudian dianalisis hubungannya dengan risiko perkembangan obesitas, indeks massa tubuh (IMT), dan karakteristik komposisi tubuh lainnya, seperti persentase lemak tubuh; massa bebas lemak; jaringan adiposa berdasarkan pencitraan; kadar leptin sirkulasi serta kadar reseptor leptin (LEPR).

2. Jalur leptin-melanocortin

Sebagian besar penelitian mengenai obesitas genetik menunjukkan bahwa jalur leptin–melanokortin di hipotalamus memiliki peran penting dalam regulasi nafsu makan, dan bahwa gen-gen yang diekspresikan secara spesifik dalam jalur ini memainkan peran sentral dalam terjadinya obesitas.

Leptin adalah hormon pengatur nafsu makan yang disekresikan oleh sel-sel lemak dan bersirkulasi dalam kadar yang sebanding dengan massa lemak tubuh. Pada obesitas, terjadi sekresi leptin berlebih yang pada akhirnya menyebabkan resistensi leptin (serupa dengan resistensi insulin). Ketika sel-sel di hipotalamus menjadi resisten terhadap leptin, sinyal kenyang tidak diterima, sehingga individu tetap merasa lapar. Kadar leptin menurun saat terjadi pembatasan asupan makanan (misalnya saat puasa) dan meningkat setelah makan.

Leptin mengaktivasi reseptor leptin (LEPR) yang diekspresikan di berbagai area sistem saraf pusat. Di dalam nukleus arkuatus hipotalamus, isoform LEPRb (suatu bentuk dari reseptor leptin) ditemukan pada dua jenis neuron yang memiliki peran penting dalam jalur melanokortin, yaitu:

- Neuron yang mengekspresikan **pro-opiomelanokortin (POMC)**
- Neuron yang mengekspresikan **agouti-related protein (AGRP)**

Neuron POMC di nukleus arkuatus terhubung dengan neuron melanocortin-4 receptor (MC4R) di nukleus paraventrikular melalui mediator melanokortin, yang berfungsi memberikan sinyal untuk menurunkan asupan makanan. Sebaliknya, neuron AGRP bekerja pada neuron MC4R untuk meningkatkan asupan makanan. Ditemukan bahwa keseimbangan antara aksi kedua jenis neuron ini sangat menentukan perilaku makan.

Hipotalamus menerima sinyal melalui peptida dan hormon seperti peptida Y (NPY), glucagon-like peptide-1 (GLP-1), kolesistokinin (CCK), dan ghrelin, yang dilepaskan oleh saluran cerna sebagai respons terhadap makanan—yang bervariasi tergantung pada komposisi makronutrien. Selain itu, hipotalamus juga menerima sinyal dari jaringan adiposa (leptin) dan informasi viserosensori dari saraf vagus.

Meskipun proses ini sepenuhnya terjadi di bawah kesadaran, hormon hipokretin (seperti melanin-concentrating hormone dan oreksin) yang disekresikan dari area hipotalamus lateral dapat memengaruhi hipotalamus medial dan area otak yang berhubungan dengan sistem penghargaan (reward system), sehingga membentuk suatu sirkuit penting antara sistem homeostatik dan sistem hedonik. Inilah bentuk interaksi ('cross-talk') antara metabolisme dan pengejaran kesenangan, yang menjelaskan mengapa regulasi nafsu makan dan penurunan berat badan sering kali sulit dikendalikan.

3. Obesitas Hipotalamus

Jalur leptin–melanokortin juga terlibat dalam penyebab lain dari obesitas non-genetik yang jarang terjadi, yang secara klinis dikenal sebagai obesitas hipotalamus. Obesitas hipotalamus yang disebabkan oleh lesi (lesional hypothalamic obesity)

merupakan akibat dari perubahan anatomis pada hipotalamus (biasanya mengenai nukleus ventromedial dan arkuatus), seperti yang terjadi pada kasus tumor intrakranial, misalnya kraniofaringioma (paling umum), glioma, atau tumor lain yang mengenai hipotalamus.

Penanganan tumor-tumor ini melalui pembedahan dan radioterapi, serta kondisi patologis yang melibatkan hipotalamus seperti neurosarkoidosis, tuberkulosis, dan histiokitosis sel Langerhans, juga dapat menyebabkan terjadinya obesitas hipotalamus.

Rapid-Onset Hypoventilation Hypothalamic Autonomic Disorder (ROHHAD) adalah suatu sindrom yang kemungkinan dimediasi oleh mekanisme autoimun, dengan ditemukannya antibodi anti-hipofisis dan anti-hipotalamus yang positif.

Sementara itu, Rapid-Onset Hypoventilation Hypothalamic Autonomic Disorder with Neuroendocrine Tumours (ROHHADNET) merupakan bentuk sindrom paraneoplastik, di mana obesitas hipotalamus terjadi bersamaan dengan tumor neuroendokrin (neuroendocrine tumours/NETs).

b. Faktor yang dapat di Modifikasi.

1. Epigenetik

Perubahan epigenetik adalah perubahan yang memengaruhi ekspresi genetik tanpa mengubah urutan DNA, yang diperoleh melalui interaksi dengan lingkungan dan, menariknya, juga dapat diturunkan secara hereditas. Beberapa sindrom obesitas tertentu, seperti sindrom Prader-Willi, disebabkan oleh kegagalan proses imprinting.

Studi GWAS (Genome-Wide Association Studies) yang mendasari kolaborasi internasional seperti Genetic Investigation for Anthropometric Traits (GIANT) Consortium, menemukan asosiasi antara gen-gen terkait obesitas dan karakteristik tubuh. Meta-analisis dari GIANT melaporkan 32 polimorfisme nukleotida tunggal (single nucleotide polymorphisms/SNPs) yang berhubungan dengan obesitas. SNP ini kemudian digunakan oleh peneliti lain untuk menyusun skor risiko genetik (genetic risk score) terhadap obesitas.

Konsorsium lain, yaitu Early Growth Genetics (EGG) Consortium, dibentuk untuk menganalisis data genetik dari berbagai studi guna meningkatkan pemahaman mengenai mekanisme mendasar yang menyebabkan peningkatan berat badan pada masa awal kehidupan, masa kanak-kanak, dan dewasa muda.

Studi pada anak kembar, keluarga, dan adopsi memperkirakan bahwa hereditabilitas obesitas berkisar antara 40% hingga 70%. Memiliki profil genetik berisiko tinggi akan membuat seseorang lebih rentan terhadap lingkungan obesogenik (lingkungan yang mendukung perkembangan obesitas). Namun, studi-studi tersebut menyimpulkan bahwa keberadaan gen-gen risiko ini meningkatkan kemungkinan terjadinya obesitas, tetapi tidak berarti obesitas akan terjadi secara pasti. Risiko ini masih dapat dikurangi melalui pola makan sehat, peningkatan aktivitas fisik, serta menghindari faktor penyebab obesitas lainnya seperti yang telah dibahas dalam ulasan ini.

2. Aktivitas Fisik

Dalam sebuah studi terhadap 109.000 orang dari UK Biobank, hubungan antara aktivitas fisik dan skor risiko genetik untuk obesitas dianalisis, dan hasilnya menunjukkan bahwa aktivitas fisik menurunkan risiko obesitas. Menariknya, individu dengan skor risiko genetik yang lebih tinggi justru memperoleh manfaat paling besar, bahkan hanya dengan aktivitas fisik ringan.

Menurut survei dari Organisasi Kesehatan Dunia (World Health Organization / WHO), lebih dari 28% populasi dewasa global dan 81% remaja pada tahun 2016 tergolong tidak aktif secara fisik.

Peningkatan penggunaan alat transportasi pasif turut menyebabkan penurunan tingkat aktivitas fisik secara keseluruhan. Selain itu, kebijakan lockdown selama pandemi Covid-19 secara signifikan juga telah berkontribusi terhadap penurunan aktivitas fisik di seluruh dunia.

3. Asupan Kalori Berlebihan

Model karbohidrat–insulin (carbohydrate–insulin model/CIM) dari obesitas, yang pertama kali dikemukakan oleh Gary Taubes dalam bukunya *Good Calories, Bad Calories* (2007) dan kemudian didukung oleh Ludwig dan Ebbeling pada tahun 2018, menyatakan bahwa pola makan tinggi karbohidrat (terutama yang mengandung banyak gula dan pati) menyebabkan hiperinsulinemia postprandial; kadar insulin yang tinggi ini mengarahkan kalori masuk ke dalam sel-sel lemak, bukan ke jaringan tanpa lemak, sehingga tubuh mengalami kondisi seperti kelaparan, dengan penurunan laju metabolisme dan peningkatan rasa lapar.

Namun, model ini ditantang oleh Hall dan kolega pada tahun 2022, yang berpendapat bahwa model CIM tidak akurat dan bahwa EBM merupakan teori obesitas yang lebih kokoh dibandingkan CIM. Mereka menekankan bahwa otak memiliki peran utama dalam regulasi berat badan, melalui interaksi kompleks antara sinyal metabolik, endokrin, dan sistem saraf yang merespons kebutuhan energi tubuh secara intrinsik, serta dipengaruhi oleh faktor lingkungan eksternal. Menurut Hall dan kolega, jaringan lemak bertindak sebagai organ endokrin, dan sekresi leptin serta adipokin lainnya berperan langsung dalam peningkatan asupan makanan.

Di samping mekanisme intrinsik obesitas, kita juga harus mengakui pengaruh eksternal, seperti munculnya secara masif jaringan makanan cepat saji, paket promosi makanan, minuman berukuran besar, serta kemudahan akses terhadap makanan ultra-proses yang murah, sebagai bagian dari permasalahan. Kita juga perlu melakukan refleksi mengapa sebagian besar populasi dunia tiba-tiba mengalami gangguan keseimbangan energi.

Menurut Laporan Foresight tentang Penanggulangan Obesitas, meskipun faktor genetik, asupan energi, pola pertumbuhan awal, dan diet memainkan peran penting dalam perkembangan obesitas, yang lebih utama adalah bahwa lingkungan obesogenik telah mengubah perilaku manusia dan berinteraksi dengan fisiologi tubuh, sehingga menyebabkan peningkatan angka kejadian obesitas.

Saat ini, terdapat banyak sekali kesempatan untuk mengonsumsi makanan tinggi kalori. Faktor lain yang juga berkontribusi meliputi: rendahnya biaya makanan dan minuman, peningkatan pemasaran produk makanan, kemajuan teknologi (seperti kualitas layar televisi dan komputer yang lebih baik, ragam video game dan simulasi realitas virtual yang meningkatkan perilaku sedentari), peningkatan pekerjaan yang menetap, jam kerja yang lebih panjang, dan kemudahan akses terhadap makanan (misalnya melalui minimarket dan mesin penjual otomatis), yang semuanya berkontribusi terhadap penurunan aktivitas fisik secara keseluruhan.

4. Lingkungan dalam Rahim

Obesitas pada ibu telah lama diketahui sebagai faktor risiko terkuat untuk terjadinya obesitas pada masa kanak-kanak. Sebuah studi prospektif yang dilakukan di University of Southampton menyimpulkan bahwa terdapat asosiasi yang kuat antara adipositas ibu dan anak perempuan mereka, namun tidak ditemukan hubungan serupa antara adipositas ibu dan anak laki-laki. Sebaliknya, tidak ditemukan hubungan antara adipositas ayah dan anak-anaknya dalam studi tersebut. Oleh karena itu, asosiasi yang lebih kuat antara massa lemak ibu dan anak menunjukkan adanya kemungkinan peran lingkungan intrauterin dalam perkembangan obesitas di kemudian hari.

Namun demikian, hingga saat ini, bukti yang menghubungkan pola makan ibu selama kehamilan dengan berat badan lahir masih dianggap belum memadai. Lingkungan hangat dan kaya nutrisi dalam rahim memiliki pengaruh yang mendalam terhadap perkembangan awal janin.

Sebuah meta-analisis dari 14 studi menemukan bahwa merokok selama kehamilan dikaitkan dengan peningkatan 50% risiko obesitas masa kanak-kanak. Pertambahan berat badan ibu selama kehamilan menyebabkan resistensi insulin dan diabetes gestasional, yang dimanifestasikan dalam bentuk berat lahir besar.

Selain itu, beberapa studi juga menemukan hubungan langsung antara berat badan lahir dan indeks massa tubuh (IMT) di kemudian hari. Saat ini telah diketahui bahwa pertambahan berat badan selama kehamilan dan diabetes gestasional merupakan kontributor terhadap risiko obesitas pada keturunannya.

5. Pengaruh pascakelahiran

Lingkungan pascakelahiran sama pentingnya dalam menentukan laju peningkatan berat badan sepanjang hidup. Beberapa faktor pascakelahiran yang dapat dimodifikasi dan berpengaruh terhadap berat badan di kemudian hari meliputi:

- 1) Durasi tidur : terdapat hubungan langsung antara durasi tidur yang pendek pada bayi dengan penambahan berat badan baik pada masa bayi maupun saat dewasa. Sebuah meta-analisis dari 42 studi menyimpulkan bahwa durasi tidur yang pendek merupakan faktor risiko untuk perkembangan obesitas pada segala usia. Penelitian juga menemukan bahwa depresi antenatal, pengenalan makanan padat sebelum usia 4 bulan, serta kebiasaan menonton televisi pada bayi, berperan dalam menurunkan durasi tidur bayi.
- 2) Durasi menyusui : Sebuah meta-analisis dari 17 studi melaporkan bahwa durasi menyusui yang lebih lama berhubungan dengan penurunan risiko kenaikan berat badan pada bayi. Setiap tambahan satu bulan menyusui dapat mengurangi risiko kenaikan berat badan sebesar 4%.
- 3) Laju pertambahan berat badan pada bayi : Kecepatan kenaikan berat badan pada masa bayi juga telah dikaitkan dengan obesitas di kemudian hari. Sebuah tinjauan sistematis dari 10 studi menunjukkan adanya hubungan antara pertumbuhan cepat pada awal kehidupan dengan peningkatan risiko obesitas di masa mendatang.

6. Tidur yang Tidak Cukup

Tidur berperan penting dalam mengatur metabolisme glukosa dan fungsi neuroendokrin. Kurang tidur akan menurunkan toleransi glukosa, sensitivitas insulin, dan kadar leptin, serta meningkatkan kadar kortisol dan ghrelin, yang pada akhirnya meningkatkan nafsu makan. Tidur dan olahraga saling mendukung secara fisiologis, karena olahraga telah lama diketahui membantu kualitas tidur malam, dan penelitian terbaru menunjukkan bahwa tidur yang buruk dapat menyebabkan penurunan tingkat aktivitas fisik. Salah satu studi juga menemukan bahwa perubahan rata-rata durasi tidur dapat meningkatkan risiko obesitas melalui modifikasi efek varian gen FTO (fat mass and obesity-associated gene) terhadap indeks massa tubuh (IMT).

7. Obat-obatan

Beberapa obat terapeutik tertentu dapat menyebabkan penambahan berat badan yang signifikan pada sebagian individu.

Tabel 1. 3 Obat-obatan yang Berhubungan dengan Obesitas dan Mekanisme Patofisiologinya

Golongan Obat	Contoh Obat	Mekanisme patofisiologi yang Mungkin
Antidepresan	Amitriptyline, Nortriptyline, Phenelzine, Citalopram	Peningkatan serotonin, dopamin, norepinefrin → nafsu makan meningkat dan gangguan metabolisme
Antipsikotik	Lithium, Clozapine, Quetiapine, Haloperidol	Meningkatkan nafsu makan, meningkatkan keinginan terhadap makanan manis/berlemak
Antidiabetik	Thiazolidinedione, Sulfonilurea, Insulin	Meningkatkan massa lemak dan retensi cairan; meningkatkan pelepasan insulin dan absorpsi glukosa; kelebihan glukosa → lemak
Agonis α2-adrenergik	Clonidine	Retensi cairan
Agonis β2-adrenergik	Atenolol	Penurunan metabolisme dan homeostasis energi terganggu
Steroid	-	Peningkatan kadar kortisol → glukosa darah dan insulin meningkat

8. Kondisi Medis

Beberapa kondisi medis juga dapat menyebabkan penambahan berat badan melalui berbagai mekanisme. Sebagai contoh, insulinoma adalah tumor neuroendokrin langka pada pankreas, umumnya bersifat jinak, yang ditandai dengan peningkatan berat badan dan gejala hipoglikemia akibat sekresi insulin berlebih oleh sel-sel tumor. Insulinoma dapat terjadi secara sporadis maupun sebagai bagian dari sindrom neoplasia endokrin multipel tipe 1 (MEN-1). Insulinoma merupakan kondisi sangat jarang, dengan angka kejadian antara 1 hingga 32 kasus per juta per tahun.

Obesitas juga dapat berkaitan dengan ketidakseimbangan hormonal. Misalnya, penurunan kadar tiroksin pada hipotiroidisme menyebabkan perlambatan metabolisme, yang kemudian memicu kenaikan berat badan. Pada sindrom Cushing, peningkatan kadar kortisol serum menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah, yang kemudian meningkatkan sekresi insulin, serta memicu sintesis lemak. Kortisol yang tinggi juga meningkatkan nafsu makan dan keinginan untuk mengonsumsi makanan manis dan asin. Mekanisme serupa yang berkaitan dengan hiperinsulinemia menyebabkan kenaikan berat badan pada pasien dengan sindrom ovarium polikistik (PCOS).

Sindrom metabolik adalah kondisi yang mencakup hipertensi, resistensi insulin, gangguan toleransi glukosa, obesitas abdominal, trigliserida tinggi, dan kadar HDL rendah. Kenaikan berat badan pada kondisi ini terutama disebabkan oleh kadar insulin yang tinggi.

Penambahan berat badan, terutama di area leher dapat menyebabkan penyempitan jalan napas, apnea tidur, dan gangguan tidur (obstructive sleep apnoea/OSA). Jika tidak ditangani, kondisi ini dapat menghambat penurunan berat badan, karena gangguan siklus tidur meningkatkan kadar kortisol.

Akhirnya, kondisi yang menyebabkan edema, seperti gagal jantung kongestif, hipoproteinemia akibat malabsorpsi, atau gangguan fungsi hati dan ginjal, juga dapat menyebabkan penambahan berat badan secara keseluruhan. Namun, kenaikan berat badan ini lebih berkaitan dengan penumpukan cairan dibandingkan akumulasi lemak, sehingga bisa dikatakan bukan merupakan kenaikan berat badan sejati.

9. Status Sosial Ekonomi

Menurut *National Child Measurement Programme* di Inggris tahun 2021–2022, terdapat hubungan yang kuat antara kemiskinan dan obesitas pada anak-anak. Prevalensi obesitas berat pada anak usia taman kanak-kanak (reception age) hampir tiga kali lebih tinggi di wilayah paling miskin (4,6%) dibandingkan dengan wilayah paling sejahtera (1,3%). Demikian pula pada anak-anak usia kelas 6 (usia 10–12 tahun), sekitar 31,3% dari anak-anak di wilayah termiskin mengalami obesitas, dibandingkan hanya 13,5% di wilayah terkaya.

Status sosial ekonomi juga merupakan determinasi penting obesitas pada orang dewasa. Dalam studi terhadap sekitar 9.000 orang non-Hispanik keturunan Eropa, status sosial ekonomi yang rendah atau menurun memperkuat skor risiko genetik terhadap obesitas, sedangkan status sosial ekonomi yang tinggi atau membaik mengurangi asosiasi ini. Studi oleh Spinosa dan kolega menghubungkan temuan ini dengan stres psikososial dan perilaku makan emosional. Sebaliknya, studi lain yang mengevaluasi hubungan antara obesitas, produk domestik bruto (PDB), dan status sosial ekonomi di 67 negara, menunjukkan bahwa prevalensi obesitas meningkat seiring dengan pertumbuhan ekonomi suatu negara.

Di negara berpendapatan rendah, individu dengan status sosial ekonomi tinggi lebih mungkin mengalami obesitas. Di negara berpendapatan tinggi, individu dengan status sosial ekonomi tinggi cenderung tidak mengalami obesitas. Hal ini dikaitkan dengan perbedaan respons terhadap peningkatan pendapatan. Di negara berkembang, peningkatan pendapatan biasanya konsumsi makanan tinggi kalori dan penurunan aktivitas fisik. Di negara maju, peningkatan pendapatan menunjukkan perilaku makan sehat dan peningkatan aktivitas fisik. Beberapa negara dengan pendapatan rendah, seperti India, menghadapi tantangan ganda berupa peningkatan obesitas dan malnutrisi secara bersamaan.

10. Etnisitas

Beberapa kelompok etnis lebih rentan mengalami obesitas dibandingkan kelompok lainnya. Data November 2021 menunjukkan bahwa sekitar 63,5% orang dewasa mengalami kelebihan berat badan atau obesitas, 72% dari etnis Kulit Hitam, 64,5% dari White British, 57% dari etnis Asia, 57,9% dari kelompok 'White Other', 59,5% dari etnis campuran. Hanya 37,5% dari etnis Tionghoa yang mengalami kelebihan berat badan atau obesitas

11. Stres Psikososial

Dalam studi terhadap 2.983 orang dewasa di sebuah komunitas di Chicago, AS, ditemukan bahwa banyaknya sumber stres berhubungan dengan peningkatan risiko obesitas. Studi lain menunjukkan bahwa stres psikososial kronis dapat berinteraksi dengan predisposisi genetik untuk memengaruhi penumpukan lemak tubuh. Stres meningkatkan paparan glukokortikoid secara kronis, yang mendorong obesitas abdominal, serta memicu perilaku makan emosional/comfort eating.

12. Bahan Kimia Pengganggu Endokrin (Endocrine-Disrupting Chemicals/EDCs)

Bahan kimia lingkungan yang mengganggu aksi hormon dalam tubuh manusia disebut endocrine-disrupting chemicals (EDCs). EDCs bersifat lipofilik, sehingga dapat mengganggu fungsi hormonal dan mengganggu fungsi normal sistem endokrin. Beberapa EDC mengganggu hormon steroid dan tiroid, sementara lainnya mengganggu metabolisme dan fungsi adiposit (sel lemak), yang berperan sebagai organ endokrin. EDC yang mengganggu fungsi adiposit dapat menyebabkan obesitas dan karena itu disebut juga "obesogen".

Janin dan neonatus merupakan kelompok yang paling rentan terhadap efek EDC obesogenik. Salah satu studi menemukan bahwa paparan dietilstilbestrol (DES) selama periode neonatal menyebabkan tikus menjadi obesitas pada usia 4–6 bulan.

Tabel 1. 4 Bahan kimia pengganggu endokrin

Bahan Kimia	Deskripsi
Tributilin	Digunakan untuk mengecat lambung kapal; menghambat aromatase (enzim yang mengubah testosteron menjadi estrogen)
Diethylstilbestrol (DES)	Estrogen sintesis yang tidak lagi digunakan pada manusia, tetapi masih digunakan untuk meningkatkan fertilitas pada hewan ternak
Polutan organik persisten	
Diklorodifeniltrikloroetana (DDT)	Insektisida
Diklorodifenildikloroetilena (DDE)	Produk hasil degradasi dari DDT
Polychlorinated biphenyls (PCBs)	Polutan industri persisten
Bisphenol A (BPA) dan ftalat	Digunakan dalam pembuatan plastik
Eter difenil polibrominasi (PBDEs) dan bifenil polibrominasi	Digunakan sebagai penghambat nyala api
Paraben (ester alkil dari asam p-hidroksibenzoat)	Digunakan sebagai agen antimikroba untuk pengawet makanan, obat-obatan, dan produk perawatan pribadi
Fitoestrogen	Secara alami terdapat dalam kedelai, polong-polongan, lentil, dan kacang arab

13. Mikrobioma Gastrointestinal

John F. Cryan, seorang tokoh penting dalam penelitian mikrobioma usus, menyebut mikroba usus sebagai *“teman yang menguntungkan”*. Mikrobioma usus manusia normal terdiri dari sekitar 100 triliun mikroorganisme, yang mencakup Firmicutes, Bacteroides, Proteus, Actinomycetes, dan Fusobacteria.

Dua filum utama yang sering ditemukan dalam tubuh individu dengan obesitas adalah Firmicutes dan Bacteroides. Penelitian oleh Turnbaugh dan kolega menunjukkan bahwa Firmicutes lebih dominan pada mikrobiota tikus yang mengalami obesitas. Studi lainnya mengaitkan obesitas dengan Akkermansia muciniphila; suplementasi bakteri ini menunjukkan perbaikan metabolisme, sensitivitas insulin, dan kadar trigliserida plasma. Bifidobacteria juga telah digunakan dalam terapi obesitas pada remaja, dengan hasil berupa peningkatan sensitivitas insulin. Faktor-faktor yang memengaruhi komposisi mikrobioma usus antara lain: jenis persalinan (normal vs. sesar), lama menyusui, usia saat pemberian makanan padat, pola makan, penggunaan antibiotik sepanjang hidup.

14. Pendekatan Profesional Kesehatan

Manajemen obesitas sangat bergantung pada pendekatan profesional kesehatan terhadap pasien obesitas, sehingga penting untuk mengevaluasi cara kita dalam memperlakukan pasien obesitas. Sikap masyarakat umum terhadap anak-anak dan orang dewasa dengan obesitas juga perlu diubah. Stigma terhadap berat badan berdampak buruk pada kesehatan fisik dan mental, serta berkontribusi pada harga diri yang rendah sepanjang hidup.

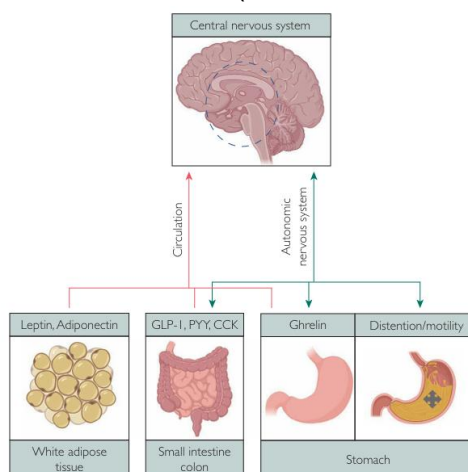
Menurut World Obesity Federation, bias terhadap berat badan lambat laun berkembang menjadi stigma terhadap obesitas. Secara umum, masyarakat kerap mengasosiasikan kemalasan, rendahnya kecerdasan, buruknya kebersihan pribadi, dan kurangnya kemauan dengan obesitas. Meskipun bukan penyebab langsung obesitas,

stigma ini dapat memperburuk prevalensi obesitas karena individu yang mengalaminya merasa patah semangat dan enggan mencari pertolongan medis.

Sebuah studi terhadap 10.854 orang dengan obesitas menunjukkan bahwa: dukungan dari tenaga kesehatan, interaksi positif dengan dokter atau perawat sangat membantu dalam memotivasi pasien untuk menurunkan berat badan. Manajemen obesitas yang efektif memerlukan pendekatan multidisiplin, sebagaimana ditekankan oleh sejumlah klinisi. Karena obesitas merupakan hasil dari berbagai faktor yang kompleks, maka penanganannya perlu melibatkan: tim medis multidisipliner, dan juga dukungan dari perawat spesialis obesitas dan ahli gizi/dietisien untuk menyusun rencana penanganan yang dipersonalisasi bagi setiap pasien.

1.4.3 Patofisiologi Obesitas

Obesitas merupakan penyakit kronis yang multifaktorial dan melibatkan interaksi kompleks antara faktor genetik, lingkungan, hormonal, saraf, serta perilaku. Patofisiologi obesitas berakar dari ketidakseimbangan energi, di mana asupan kalori melebihi pengeluaran energi. Mekanisme regulasi energi melibatkan sistem sensorik enterik, sinyal hormonal perifer (seperti leptin, ghrelin, GLP-1, PYY), dan jalur neurologis sentral di hipotalamus yang mengatur nafsu makan, kenyang, dan pengeluaran energi. Selain itu, adiposit (sel lemak) tidak hanya berfungsi sebagai tempat penyimpanan energi, tetapi juga sebagai organ endokrin yang mengeluarkan hormon seperti leptin dan adiponektin yang mempengaruhi metabolisme dan inflamasi. (Busebee et al., 2023)



Gambar 1. 4 Regulasi Energi Sentral dan Perifer

Faktor genetik diketahui menyumbang sekitar 40–70% dari kerentanan seseorang terhadap obesitas, meskipun hanya sebagian kecil kasus yang disebabkan oleh mutasi gen tunggal. Sebagian besar kasus melibatkan interaksi poligenik dan epigenetik yang mempengaruhi ekspresi gen melalui metilasi DNA dan faktor lingkungan seperti diet dan aktivitas fisik. Disfungsi pada sistem pengaturan pusat, termasuk jalur melanokortin di hipotalamus (melibatkan neuron AgRP dan POMC), juga berperan besar dalam mengatur perilaku makan dan pengeluaran energi. Ghrelin merangsang nafsu makan, sedangkan hormon seperti GLP-1, CCK, dan leptin menurunkan asupan makanan dan memperlambat pengosongan lambung. (Busebee et al., 2023)

Selain itu, jaringan adiposa pada obesitas mengalami perubahan struktur dan aktivitas imun, seperti peningkatan infiltrasi makrofag dan sel T, yang menyebabkan inflamasi sistemik dan lokal. Inflamasi ini memicu resistensi insulin, dislipidemia, dan disfungsi metabolik lainnya. Penumpukan lipid berlebih, terutama di hati dan otot, dapat merusak sinyal insulin melalui jalur inflamasi dan stres oksidatif. Komplikasi metabolik ini pada

akhirnya meningkatkan risiko penyakit jantung, diabetes melitus tipe 2, penyakit hati berlemak non-alkoholik (NAFLD), dan kanker tertentu. Obesitas juga menimbulkan dampak mekanis, seperti gangguan sendi, sleep apnea, dan sindrom hipoventilasi.(Busebee et al., 2023)

Secara keseluruhan, patofisiologi obesitas mencerminkan suatu kondisi penyakit yang kompleks dan heterogen, yang membutuhkan pendekatan personalisasi dalam diagnosis dan penatalaksanaannya. Pemahaman yang lebih dalam mengenai proses biologis di balik obesitas memungkinkan pengembangan klasifikasi berbasis fisiologi, seperti fenotipe gangguan kenyang, pengosongan lambung yang cepat, atau perilaku makan emosional, untuk mengarahkan terapi yang lebih efektif dan individual.(Busebee et al., 2023)

1.4.4 Faktor Resiko Obesitas

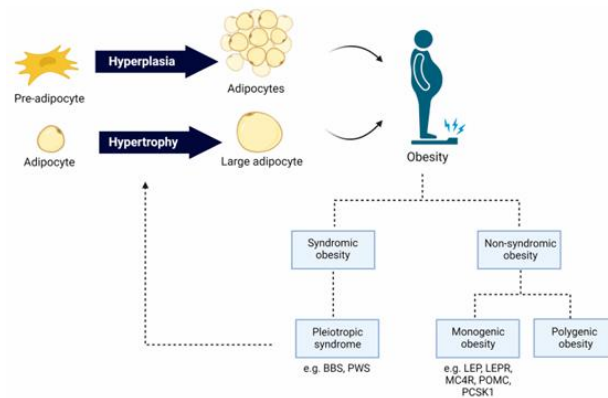
1) Faktor Genetik

Obesitas secara genetik dibagi menjadi dua bentuk utama:

- a. Obesitas poligenik umum: Merupakan bentuk paling sering, disebabkan oleh ratusan variasi gen kecil yang masing-masing memberikan kontribusi kecil terhadap risiko obesitas. Onsetnya biasanya lambat dan sangat dipengaruhi oleh faktor lingkungan. Obesitas poligenik melibatkan interaksi kompleks antara banyak gen dan faktor lingkungan. Studi kembar dan adopsi memperkirakan kontribusi genetik terhadap obesitas sekitar 40–70%. Lebih dari 300 SNP (single-nucleotide polymorphisms) telah diidentifikasi melalui GWAS yang berhubungan dengan risiko obesitas.(Horwitz & Birk, 2023a).

- b. Obesitas genetik (monogenik): Bentuk yang jarang terjadi, diturunkan secara Mendel, disebabkan oleh mutasi pada satu gen. Umumnya bersifat berat dan muncul sejak dini dengan sedikit atau tanpa pengaruh lingkungan.(Horwitz & Birk, 2023a).

Jenis obesitas yang berasal dari mutasi genetik yang mengikuti pola pewarisan Mendel. Kondisi ini ditandai oleh kelebihan lemak tubuh (adiposity) dan sering disertai gangguan endokrin serta kebiasaan makan berlebih. Penelitian awal menggunakan tikus transgenik yang menunjukkan obesitas spontan dan hiperfagia membantu mengidentifikasi gen penyebab obesitas, seperti gen encoding leptin (ob) yang mengkode leptin dan encoding the leptin reseptor (gen db) yang mengkode reseptor leptin. Selain itu, beberapa gen manusia yang terlibat dalam jalur leptin-melanokortin, yang mengontrol nafsu makan, juga telah diidentifikasi. Seperti defisiensi leptin bawaan yang diwariskan secara resesif pertama kali terdeteksi pada dua sepupu asal Pakistan dengan mutasi pada gen LEP, yang menyebabkan kenaikan berat badan cepat, obesitas dini, dan hiperfagia. Pengobatan dengan leptin rekombinan dapat memperbaiki kondisi ini. Mutasi pada gen lain seperti reseptor leptin (LEPR), POMC, MC4R, ADCY3, SIM1, NTRK2, dan BDNF juga berperan dalam obesitas monogenik dengan berbagai gejala terkait, termasuk gangguan metabolik dan perkembangan (Trang & Grant, 2023).



Gambar 1. 5 Genetika obesitas

Obesitas juga dapat dibedakan menjadi sindromik (disertai kelainan lain seperti keterlambatan perkembangan) dan non-sindromik (hanya obesitas).

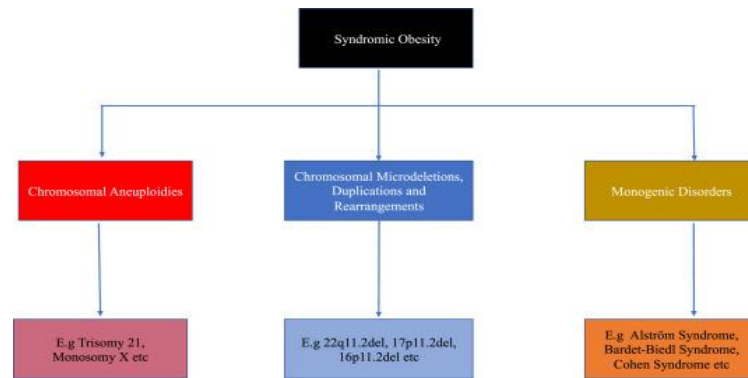
1) Obesitas sindromik adalah obesitas yang disertai dengan berbagai komorbiditas seperti Dismorfisme kraniofasial, disabilitas neurodevelopmental dan malformasi kongenital dan disebabkan oleh 2 kelompok:

a. Gangguan kromosom

Obesitas sindromik seringkali dikaitkan dengan aneuploidi kromosom seperti trisomi 21 dan monosomi X. Trisomi 21, atau Down Syndrome sebagai penyebab utama obesitas sindromik dengan insidensi 1 per 700 kelahiran serta berbagai risiko disabilitas neurodevelopmental dan cacat bawaan (Antonarakis et al., 2004; Parker et al., 2010; Antonarakis et al., 2020). Murray dan Ryan-Krause, 2010; Basil et al., 2016; Amr, 2018) membahas tentang Penurunan metabolisme basal terkait Down Syndrome meningkatkan kecenderungan obesitas. Monosomi X, dikenal sebagai Sindrom Turner, terjadi pada 1 per 2000 kelahiran perempuan dan melibatkan fenotip seperti perawakan pendek dan risiko obesitas, akibat peristiwa non disjungsi (Cui et al., 2018; Sun et al., 2019; Bakalov et al., 2004).

b. Gangguan monogenik

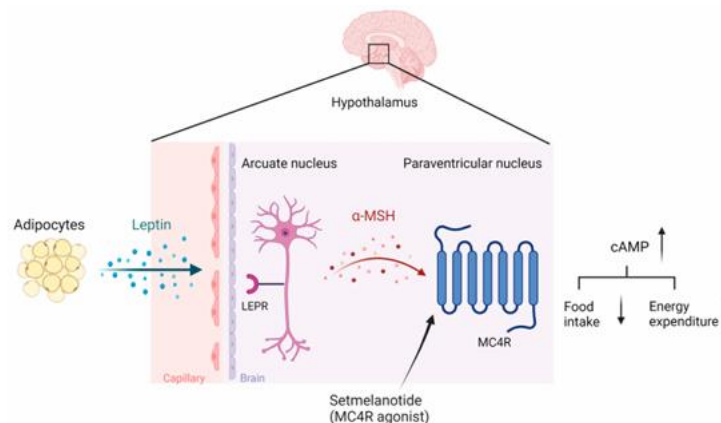
Kemajuan dalam teknologi sekuensing generasi dapat mengidentifikasi penyebab monogenik baru dari obesitas sindromik (Al Tuwaijri dan Alfadhel, 2019). Fragile X syndrome (FXS) adalah penyebab monogenik paling umum dari keterlambatan perkembangan dan gangguan spektrum autisme (Kaufmann et al., 2017). Börjeson-Forssman-Lehmann syndrome (BFLS) adalah gangguan terkait X yang juga melibatkan obesitas dan gangguan kognitif (Borjeson et al., 1962). Penelitian Sarathi dan Wadhwa, 2021 dan (Bosch et al., 2021; Izumi et al., 2015) menemukan bahwa inaktivasi GNAS merupakan penyebab monogenik yang signifikan dengan manifestasi fenotip Albright Hereditary Osteodystrophy yang mencakup obesitas umum dan disabilitas neurodevelopmental. Kemajuan teknologi berkelanjutan terus memperkenalkan penyebab baru, seperti Blakemore-Durmaz Vasileiou (BDV) syndrome dan CHOPS syndrome. (Horwitz & Birk, 2023b)



Gambar 1. 6 Sindrome Obesitas

- 2) Obesitas non-sindromik monogenik melibatkan gangguan pada jalur leptin–melanokortin di hipotalamus, yang mengatur nafsu makan dan pengeluaran energi. Gen penting yang terlibat antara lain *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *MC4R*, dan *PCSK1*.(Horwitz & Birk, 2023a)

Mutasi pada gen *MC4R* menyumbang 3–5% kasus obesitas berat dengan onset dini. Tikus tanpa *MC4R* menunjukkan hiperfagia dan peningkatan berat badan, sedangkan aktivasi ulang *MC4R* menurunkan nafsu makan. Obat setmelanotide, agonis *MC4R*, telah disetujui untuk pengobatan obesitas genetik langka.(Horwitz & Birk, 2023a)



Gambar 1. 7 Jalur pensinyalan leptin–melanokortin

Mekanisme obesitas poligenik masih belum sepenuhnya dipahami, namun melibatkan gangguan pada sensitivitas leptin, regulasi hormon nafsu makan, dan jalur pensinyalan energi. Salah satu SNP penting, rs17782313 dekat *MC4R*, dikaitkan dengan peningkatan BMI dan risiko obesitas di berbagai populasi.(Horwitz & Birk, 2023a)

2) Faktor non Genetik

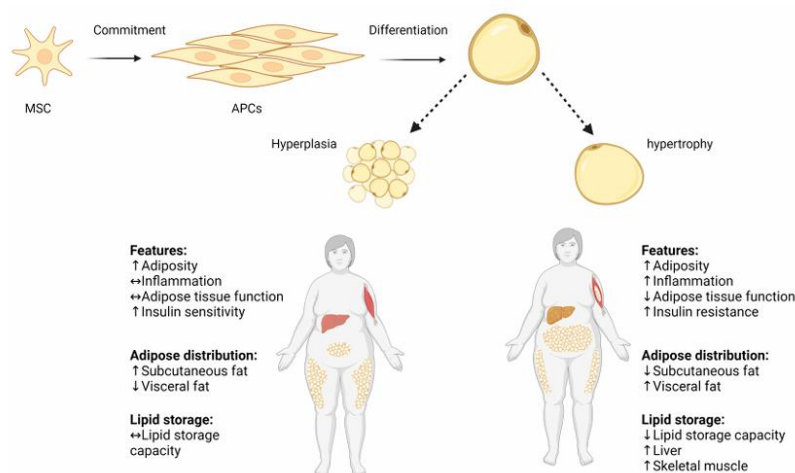
a. Ketidakseimbangan Energi dan Lingkungan Obesogenik

Faktor risiko utama obesitas adalah ketidakseimbangan energi kronik, yakni asupan energi yang melebihi pengeluaran energi. Ketika hal ini terjadi terus-menerus, lemak tubuh menumpuk, dimulai dari jaringan lemak putih (white adipose tissue/WAT), dan berlanjut ke organ lain. Kondisi ini didorong oleh lingkungan obesogenik yang mencakup pola makan tinggi kalori, gaya hidup sedentari, serta perubahan lingkungan sosial dan ekonomi. Akumulasi lemak ini tidak hanya meningkatkan berat badan, tetapi juga

menyebabkan disfungsi metabolik dan peningkatan risiko komorbiditas seperti diabetes tipe 2, penyakit jantung, dan kanker. (Horwitz & Birk, 2023a)

b. Proses Hipertrofi dan Hiperplasia Jaringan Lemak

Obesitas terjadi melalui dua mekanisme utama: hiperplasia (peningkatan jumlah sel lemak) dan hipertrofi (pembesaran ukuran sel lemak). Anak-anak dengan obesitas sering mengalami hiperplasia adiposit yang lebih awal dan masif, yang meningkatkan risiko obesitas persisten di masa dewasa. Pada orang dewasa, hipertrofi lebih dominan, terutama di jaringan lemak visceral, dan berkaitan dengan disfungsi adiposit, resistensi insulin, dan inflamasi kronik. Ketika kapasitas ekspansi subkutan terbatas, lemak "bocor" ke organ lain (lipotoksitas), memperparah risiko metabolik. (Horwitz & Birk, 2023a)



Gambar 1. 8 Hiperplasia dan hipertrofi pada jaringan adiposa

c. Pengaruh Hormon Seks dan Jenis Kelamin

Hormon seks juga memengaruhi risiko obesitas melalui pola distribusi lemak. Estrogen mendorong penyimpanan lemak subkutan (gluteofemoral), sedangkan testosteron lebih berkaitan dengan akumulasi lemak visceral. Ini menjelaskan pola tubuh "pear-shape" pada wanita dan "apple-shape" pada pria. Perbedaan ini juga berdampak pada risiko metabolik, di mana lemak visceral (lebih umum pada pria) cenderung lebih berbahaya secara metabolik dibanding lemak subkutan. (Horwitz & Birk, 2023a)

d. Obesitas Sindromik dan Kelainan Genetik Spesifik

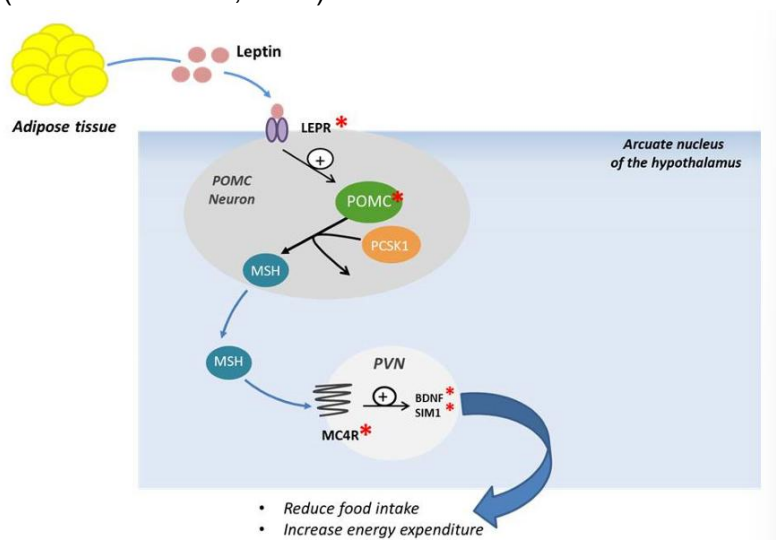
Obesitas juga dapat merupakan bagian dari sindrom genetik langka seperti Prader–Willi Syndrome (PWS) dan Bardet–Biedl Syndrome (BBS). Pada PWS, hipotonus neonatal, gangguan neuroendokrin, dan hiperfagia parah menjadi penyebab obesitas awal. Pada BBS, obesitas disebabkan oleh gangguan fungsi silia yang memengaruhi sinyal leptin di hipotalamus serta mengubah proliferasi dan diferensiasi adiposit secara langsung. Menariknya, mutasi heterozigot pada gen BBS juga ditemukan meningkatkan risiko obesitas umum, menunjukkan bahwa penelitian obesitas sindromik dapat memberi wawasan penting pada bentuk obesitas poligenik yang lebih luas. (Horwitz & Birk, 2023a)

1.4.5 Gen MC4R dan mekanisme regulasi nafsu makan.

MC4R adalah reseptor tujuh transmembran yang digabungkan dengan protein G, diekspresikan dengan tinggi di hipotalamus dan memainkan peran mendasar dalam sistem pensinyalan leptin-melanokortin. Reseptor ini sebagian besar terletak di inti hipotalamus yang mengontrol asupan makanan melalui sinyal anoreksigenik dan oreksigenik; mutasi pada reseptor ini dapat memengaruhi perilaku makan. Jalur MC4R terkait erat dengan protein kunci di bagian hulu MC4R, seperti LEP, LEPR, POMC, dan PCSK1. Jalur pensinyalan diaktifkan oleh pengikatan LEP ke LEPR yang terletak di permukaan neuron POMC di nukleus arkuata

hipotalamus. Neuropeptida yang berasal dari POMC dapat mengaktifkan MC4R untuk meningkatkan rasa kenyang, pengeluaran energi, dan penurunan berat badan. (Chiurazzi et al., 2020)

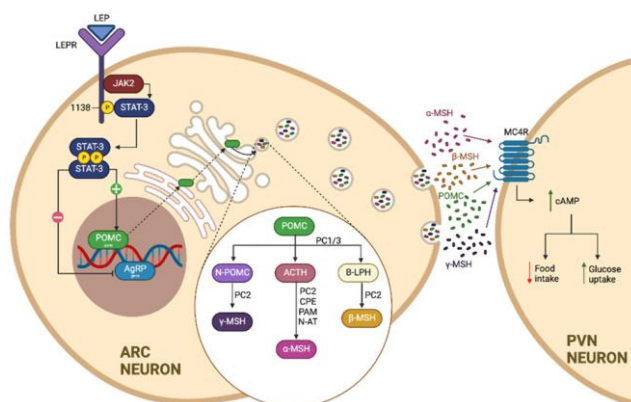
MC4R berperan dalam homeostasis energi, fungsi kardiovaskular, dan sistem reproduksi. Gen MC4R mengkodekan sekitar 332 asam amino dan diekspresikan dalam hipotalamus. MC4R adalah salah satu protein transmembran dengan tujuh sub tipe protein. Jalur melanokortin dikaitkan dengan pro-opiomelanokortin (POMC) dalam leptin aktivasi sehingga meningkatkan dan menurunkan nafsu makan. Mutasi yang ditemukan di MC4R secara langsung dibandingkan dengan kejadian obesitas. Mutasi yang terjadi mungkin disebabkan oleh munculnya cacat pada struktur MC4R, ekspresi pada permukaan membran sel, ikatan dengan ligan dan jalur sinyal. POMC akan mengaktifkan atau menonaktifkan MC4R sesuai dengan pengeluaran energi tubuh. MC4R akan berikatan dengan agonis α -MSH atau β -MSH dan antagonis AgRP. (Arieska & Meutia, 2023)



Gambar 1. 9 Skema representasi aktivasi reseptor POMC neuron dan melanokortin-4

Aktivasi ini akan menginduksi sinyal hilir lebih lanjut dengan produksi faktor neurotropik turunan otak (BDNF) dan faktor transkripsi tunggal 1 (SIM 1), yang terlibat dalam mengurangi asupan makanan dan memodulasi pengeluaran energi. Mutasi MC4R, baik dalam bentuk dominan maupun resesif, merupakan penyebab paling umum dari obesitas monogenik yang diketahui sejauh ini. Kasus pertama mutasi MC4R diidentifikasi pada tahun 1998 pada pasien yang mengalami obesitas dan hiperfagia berat. Fenotipe obesitas dari pembawa mutasi heterozigot MC4R sangat bervariasi. Collet dkk., pada tahun 2017, menunjukkan bahwa setmelanotide, agonis MC4R yang kuat, dapat menyebabkan penurunan berat badan pada orang gemuk dengan defisiensi MC4R, meskipun mekanisme penurunan berat badan pada orang gemuk dengan defisiensi MC4R, meskipun mekanisme penurunan berat badan masih belum jelas. Selain itu, pasien dengan defisiensi POMC di bagian atas MC4R menunjukkan penurunan berat badan yang jauh lebih besar dengan setmelanotide dibandingkan pasien dengan defisiensi MC4R saja atau kontrol obesitas. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menetapkan terapi yang efektif untuk mengatasi obesitas yang disebabkan oleh mutasi ini. Sebuah penelitian sebelumnya yang dilakukan pada pasien dengan cacat langka pada gen yang mengkode POMC, yang menunjukkan obesitas serta hiperfagia, hipopigmentasi, dan hipokortisolisme onset dini, menunjukkan bahwa pengobatan dengan setmelanotide menginduksi penurunan nafsu makan dan penurunan berat badan yang signifikan. Pada tahun 2018, lepsen et al. menilai efek pemberian agonis reseptor GLP-1 (GLP-1 RA), yang menginduksi penurunan berat badan dan penurunan nafsu makan pada pasien yang

mengalami mutasi patogenik MC4R. Hasil penelitian mereka menunjukkan bahwa efek liraglutide GLP-1 RA tidak tergantung pada jalur MC4R, menunjukkan bahwa ini dapat mewakili peluang terapeutik untuk pasien dengan berbagai bentuk obesitas monogenik, terutama bagi mereka yang memiliki mutasi MC4R. (Chiurazzi et al., 2020)



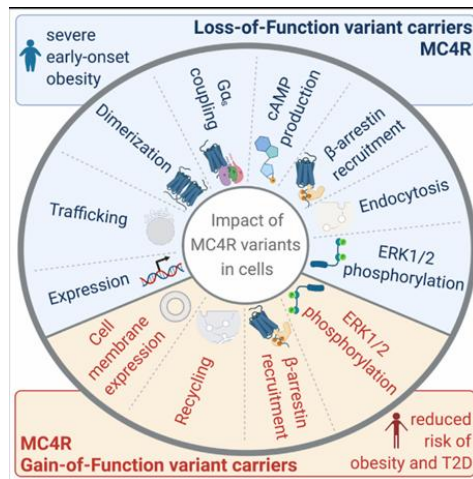
Gambar 1. 10 Jalur leptin-melanokortin klasik

Leptin (LEP) adalah protein dengan fungsi seperti hormon yang diproduksi dan disekresikan oleh jaringan adiposa. Penelitian telah menunjukkan pentingnya leptin dalam mengendalikan homeostasis pengaturan energi; gangguannya dapat menyebabkan ketidakseimbangan dalam pengaturan asupan makanan, massa tubuh, respons imun, dan lipolisis. Keragaman aksi leptin disebabkan oleh efeknya pada sistem saraf pusat (SSP), yang terjadi dengan melintasi sawar darah-otak melalui mekanisme endositosis yang diperantarai oleh reseptor. Kontrol rasa kenyang diatur oleh jalur leptin dan melanokortin, di mana LEP yang disekresikan oleh adiposit berinteraksi dengan reseptor leptin (LEPR) yang ada di neuron nukleus arkuata hipotalamus. Mengaktifkan reseptor ini menyebabkan aktivasi berbagai faktor transkripsi yang memungkinkan transkripsi proopiomelanocortin (POMC), yang mengalami modifikasi pasca-translasi, terutama untuk proteolisis yang diatur oleh prohormone convertase 1 (PCSK1). Peptida yang dihasilkan dan hormon yang merangsang melanosit dikenali dan mengaktifkan reseptor melanokortin 4 (MC4R) hadir dalam neuron inti paraventrikular, menginduksi sinyal rasa kenyang dan meningkatkan pemanfaatan energi. (Chiurazzi et al., 2020)

Gen reseptor melanokortin 4 (MC4R), yang terletak pada kromosom 18q21, mengkode reseptor berpasangan protein G yang berikatan dengan hormon perangsang melanosit. Gen ini berperan dalam metabolisme asam lemak di hati (mendorong lipolisis) dan menurunkan sekresi insulin di pankreas. MC4R diekspresikan di hipotalamus sebagai respons terhadap jalur pensinyalan leptin. Dipercaya bahwa MC4R menginduksi lipolisis secara langsung pada adiposit kelinci dan pada tingkat minimum pada adiposit subkutan manusia yang mengalami obesitas, yang dimediasi oleh respons intraseluler terhadap sinyal neuron. Sinyal asosiasi diidentifikasi antara varian eksonik MC4R dan tingkat obesitas yang berbeda. Mutasi langka pada gen MC4R, di mana adipositas merupakan bentuk kelainan keturunan monogenik, telah terdeteksi. Beberapa penelitian populasi telah menghasilkan bukti serupa yang menunjukkan hubungan MC4R rs2229616 Val103Ile dengan perlindungan terhadap obesitas dan meningkatkan aktivitas lipolisis MC4R dan akhirnya mengurangi berat badan. Sebaliknya, wilayah non-kode yang terletak di 3' dari MC4R mungkin memiliki varian yang terkait dengan risiko obesitas, menurut analisis GWAS dari populasi Eropa. (Bakhashab et al., 2020b)

a. Transduksi Sinyal

Transduksi sinyal untuk mengaktifkan MC4R dapat terjadi secara intraseluler dan ekstraseluler. Pada intraseluler, MC4R berikatan dengan protein G. Protein G atau dikenal dengan G protein-coupled receptors (GPCRs) memiliki turunan senyawa salah satunya dikenal dengan MC4R dilengkapi tujuh protein transmembran pada lingkaran intraseluler dan ekstraseluler. Adapun 7 sub tipe protein transmembran adalah TM1, TM2, TM3, TM4, TM5, TM6, dan TM7. Di ekstraseluler terdapat N terminus dan di intraseluler C terminus. Protein G melepaskan diri dari protein heterodimer $\beta\gamma$, mentransduksi aktivasi dari adenylate cyclase dilanjutkan dengan aktivasi dari cAMP-dependent pathway dalam sel. Proses aktivasi transduksi sinyal MC4R terjadi akibat perbedaan voltase kanal kalsium (CaV) melalui Gs dan Gi/o pathway. Kalsium (Ca^{2+}) berperan sebagai kofaktor untuk ligan MC4R. Elusidasi berbentuk kristal MC4R dengan SHU9119 merupakan bentuk poten agonis peptida, ini berperan penting untuk regulasi sinyal downstream. Ligan agonis dan Ca^{2+} mengaktifkan MC4R untuk menutup kanal potasium dalam mempertahankan kadar potasium intrasel. Namun, ternyata MC4R juga mampu berikatan dengan protein G yang lain seperti protein Gai. Ikatan ini menyebabkan aktif phospholipase C (PLC) dan menghambat protein kinase. Pada ekstraseluler transduksi sinyal aktif melalui extracellular signal-regulated kinase $\frac{1}{2}$ (ERK1/2), c-Jun N-terminal kinase (JNK), 5' AMP-activated protein kinase (AMPK) dan protein kinase B (PKB or AKT) (16). MC4R memiliki 4 jenis melanokortin endogen, yaitu β -MSH, α -MSH, ACTH, dan γ MSH. Pembagian jenis tersebut berdasarkan tingkat afinitasnya. Keempat produk endogen tersebut merupakan hasil translasi pro-opiomelanocortin (POMC). POMC tersusun dari 267 asam amino. Neuron POMC mensekresikan MSH yang distimulasi oleh ikatan antara hormon leptin dengan reseptor leptin. Hormon leptin disekresikan dari jaringan adiposa. Jalur sinyal ini dikenal dengan leptin-melanocortin pathway yang dibantu oleh Rhodopsin-like Class A GPCR yang merupakan turunan dari reseptor melanocortin 4. Selanjutnya MSH akan berikatan dengan reseptor melanocortin 4 untuk aktivasi atau inaktivasi. Aktivasi dari MC4R dengan produk POMC akan meningkatkan nafsu makan. Namun sebaliknya, inaktivasi MC4R akan menurunkan nafsu makan. Pengaktifan MC4R bergantung pada agonis α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH) atau β -MSH yang disebut dengan efek anorexigenik dan begitu pula inaktivasi MC4R bergantung pada antagonis agouti-related peptide (AgRP) yang tersusun dari 132 asam amino yang disebut dengan efek orexigenik. Gangguan kesalahan pada proses jalur transduksi dapat disebabkan karena mutasi. Penelitian kohort menyatakan sekitar 150 lebih mutasi yang terjadi pada gen MC4R. Diantaranya 122 missense, 2 delesi, 7 nonsense dan sisanya frameshift mutation. Mutasi yang terjadi berakibat peningkatan resiko terjadinya obesitas. Selain mutasi pada gen MC4R, mutasi juga dapat terjadi pada reseptor protein G yang menyebabkan defek saat berikatan dengan gen MC4R. Banyak mutasi yang terjadi pada MC4R berbentuk heterozigot dengan karakteristik BMI yang tinggi, hiperfagia, pertumbuhan linear, peningkatan densitas mineral tulang dan hiperinsulinemia. Para ahli meyakini banyak kemungkinan yang menyebabkan mutasi dari fungsi MC4R. Salah satunya retensi pada intrasel yang mempengaruhi reseptor pada membran plasma sehingga jumlah reseptor berkurang. Ini berakibat gangguan regulasi downstream signalling yang bermanifestasi muncul penyakit. Misfold/protein ubiquitin juga terjadi karena proses retensi intrasel ini. (Arieska & Meutia, 2023)

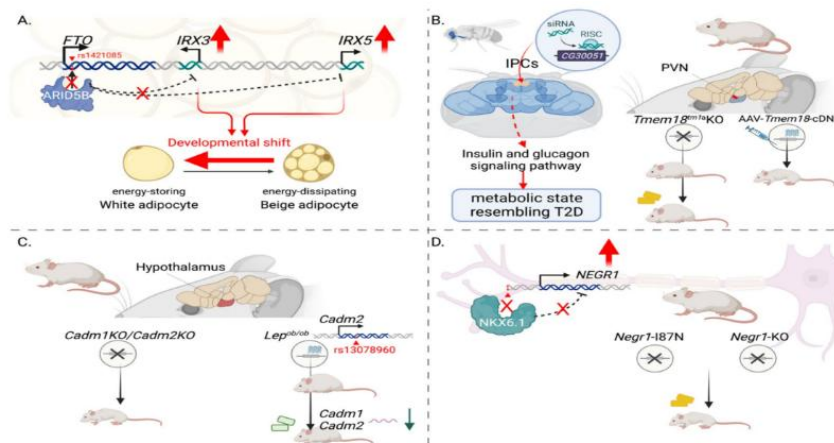


Gambar 1. 11 Dampak varian MC4R dalam sel

Variasi kuantitatif dalam pensinyalan MC4R memainkan peran penting dalam homeostasis energi, karena hilangnya satu alel MC4R cukup untuk menyebabkan obesitas parah pada hewan pengerat dan manusia. Selain itu, mutasi heterozigot pada MC4R yang mengganggu produksi cAMP merupakan bentuk obesitas monogenik yang paling umum. Namun, hingga 5% mutasi MC4R yang ditemukan pada kelompok obesitas tidak mengurangi produksi. (Brouwers et al., 2021)

b. Jalur sinyal leptin-melanokortin

Gen yang mengatur Jalur sinyal leptin-melanokortin, yang penting dalam pengaturan keseimbangan energi dan nafsu makan seperti MC4R, yang mutasinya dapat menyebabkan obesitas parah (Horwitz & Birk, 2023).



Gambar 1. 12 Strategi Fungsional locus Obesitas Melalui GWAS

1.4. 6 Polimorfisme rs2229616 (Val103Ile)

Gen Melanocortin-4 Receptor (MC4R) merupakan salah satu gen paling penting dalam regulasi homeostasis energi dan pengaturan nafsu makan pada manusia. Gen ini berlokasi di kromosom 18q21–q22, tidak memiliki intron, dan menyandi suatu reseptor protein G transmembran tujuh heliks yang termasuk dalam keluarga reseptor melanokortin. MC4R diekspresikan terutama di hipotalamus, khususnya pada nukleus paraventricular, nukleus arkuata, dan daerah lain yang berperan dalam regulasi perilaku makan dan pengeluaran energi. Aktivasi MC4R oleh agonis endogen seperti alfa-melanocyte stimulating hormone (α -MSH), yang berasal dari pemrosesan proopiomelanokortin (POMC), akan meningkatkan produksi

cyclic AMP (cAMP) melalui aktivasi adenilat siklase, memicu aktivasi protein kinase A dan jalur pensinyalan hilir yang pada akhirnya menurunkan nafsu makan dan meningkatkan pengeluaran energi. Sebaliknya, agouti-related peptide (AgRP) bekerja sebagai antagonis/invers agonis MC4R dan menghambat sinyal anoreksigenik ini, sehingga meningkatkan asupan makanan dan berat badan.(Ayers et al., 2018; Sridhar & Gumpeny, 2024; Tao, 2010)

Secara klinis, mutasi loss-of-function pada MC4R telah diidentifikasi sebagai penyebab monogenik obesitas yang paling sering, dengan prevalensi sekitar 1–6% pada pasien obesitas berat di berbagai kohort. Mutasi ini biasanya diturunkan secara autosomal dominan, menyebabkan hiperfagia, peningkatan cepat berat badan sejak masa kanak-kanak, peningkatan lemak visceral, dan sering disertai gangguan metabolik seperti resistensi insulin dan dislipidemia.(Heid et al., 2008) Studi eksperimental menunjukkan bahwa varian yang merusak MC4R dapat memengaruhi berbagai tahap siklus hidup reseptor, termasuk ekspresi, pelipatan, transport ke membran, pengikatan ligan, dan aktivasi protein G, sehingga menurunkan efektivitas sinyal anoreksigenik.(Cheraghi et al., 2025) Di luar obesitas, disfungsi jalur MC4R juga dikaitkan dengan perubahan tekanan darah, regulasi glukosa, fungsi kardiovaskular, hingga aspek perilaku dan mood, sehingga menegaskan luasnya peran jalur ini dalam fisiologi manusia.(Tao, 2010)

Di samping mutasi yang jarang tetapi berdampak besar, terdapat pula polimorfisme umum (common variants) pada gen MC4R yang memberikan kontribusi kecil namun terukur terhadap variasi berat badan di populasi umum.(Namjou et al., 2021) Salah satu polimorfisme yang paling banyak diteliti adalah rs2229616, yang menyebabkan perubahan asam amino Valine menjadi Isoleucine pada posisi 103 reseptor (V103I).(Young et al., 2007a) Pada tingkat genom, rs2229616 biasanya digambarkan sebagai substitusi basa C>T pada DNA (atau ekuivalen G>A pada strand komplementer), di mana alel C menyandi Val103 (alel mayor) dan alel T menyandi Ile103 (alel minor).(Tao, 2010) Genotipe yang umum ditemukan adalah CC (homozygot alel mayor) dan CT (heterozygot), sedangkan TT (homozygot alel minor) sangat jarang di sebagian besar populasi dunia.(Aykut et al., 2020) Tidak seperti banyak mutasi loss-of-function, V103I dikategorikan sebagai missense variant dengan perubahan struktural ringan yang tidak menghilangkan fungsi reseptor, dan dalam beberapa studi justru dikaitkan dengan sifat gain-of-function moderat.(Malhotra et al., 2021)

Sejumlah studi kohort besar dan meta-analisis mendukung bahwa V103I merupakan varian protektif terhadap obesitas pada tingkat populasi.(Evans et al., 2014) Analisis pada lebih dari 55.000 individu menunjukkan bahwa pembawa alel 103I memiliki indeks massa tubuh yang secara statistik lebih rendah dan risiko obesitas yang lebih kecil dibandingkan individu dengan genotipe homozigot Val/Val, dengan odds ratio obesitas sekitar 0,7–0,8 dan penurunan rata-rata BMI sebesar sekitar 0,3–0,8 kg/m², walaupun efek ini relatif kecil pada tingkat individu.(Evans et al., 2014) Studi berbasis jaringan rekam medis elektronik (eMERGE) yang menggabungkan data genotipe dan fenotipe klinis dalam skala besar juga mengonfirmasi efek protektif V103I terhadap obesitas serta menunjukkan bahwa varian ini berhubungan dengan penurunan risiko diabetes tipe 2 dan penyakit ginjal kronik, bahkan setelah penyesuaian terhadap BMI, yang mengindikasikan potensi efek pleiotropik MC4R di luar regulasi berat badan semata.(Namjou et al., 2021) Beberapa penelitian lain melaporkan bahwa pembawa alel 103I memiliki lingkaran pinggang yang lebih kecil dan profil metabolik yang lebih baik, termasuk kadar trigliserida yang lebih rendah dan sensitivitas insulin yang lebih baik, meskipun tidak semua studi menemukan hasil yang konsisten lintas etnis dan lingkungan.(Evans et al., 2014)

Mekanisme biologis yang mendasari sifat protektif rs2229616 masih terus diteliti, tetapi data fungsional menunjukkan bahwa varian V103I dapat meningkatkan efisiensi sinyal anoreksigenik MC4R tanpa menyebabkan hiperaktivitas yang patologis.(Evans et al., 2014; Young et al., 2007a) Dalam beberapa model sel, reseptor 103I memperlihatkan afinitas ligan

dan respons cAMP yang sedikit berbeda dibandingkan reseptor tipe liar, yang berpotensi menghasilkan respon kenyang yang lebih kuat atau lebih cepat terhadap sinyal melanokortin.(Aykut et al., 2020) Konsep bahwa varian tertentu pada gen obesitas klasik dapat bersifat protektif, bukan hanya meningkatkan risiko, memberikan bukti “proof of principle” bahwa kerentanan dan resistensi terhadap obesitas sama-sama memiliki dasar genetik.(Young et al., 2007a) Pemahaman mekanisme ini membuka peluang pengembangan terapi yang meniru efek menguntungkan V103I, misalnya melalui agonis MC4R selektif atau modulator alosterik yang mampu meningkatkan sinyal kenyang tanpa menimbulkan efek samping kardiovaskular yang bermakna.(Cheraghi et al., 2025)

Pada konteks populasi, variasi di sekitar gen MC4R telah berulang kali muncul dalam studi asosiasi genom luas (GWAS) sebagai lokus yang berhubungan dengan BMI, berat badan, lemak tubuh, dan obesitas, baik pada anak, remaja, maupun dewasa.(Namjou et al., 2021) Varian non-coding seperti rs17782313 yang terletak di dekat MC4R menunjukkan asosiasi kuat dengan peningkatan risiko obesitas dan telah direplikasi di berbagai etnis, termasuk populasi Asia Timur dan Asia Tenggara, sementara rs2229616 lebih jarang tetapi konsisten dikaitkan dengan penurunan risiko.(Sidarta & Kumala, 2025) Data GWAS juga mengindikasikan bahwa efek varian MC4R dapat bervariasi sepanjang daur hidup; beberapa lokus menunjukkan pengaruh lebih besar pada masa anak dan remaja, yang relevan untuk memahami awal mula obesitas pada usia muda.(Chiurazzi et al., 2020) Dalam populasi Indonesia, penelitian genetik obesitas masih berkembang, namun kajian terhadap varian MC4R (khususnya rs17782313) dan gen lain seperti FTO serta TMEM18 pada dewasa muda menunjukkan bahwa kontribusi genetik berinteraksi kuat dengan komposisi tubuh, pola diet, dan latar belakang etnis.(Bakhashab et al., 2020b) Meskipun data spesifik mengenai rs2229616 pada dewasa muda Indonesia masih terbatas, tingginya keragaman genetik dan variasi pola makan di Indonesia menjadikan studi langsung terhadap frekuensi alel dan asosiasi V103I dengan obesitas dan komponen metabolik menjadi sangat relevan untuk menggambarkan lanskap risiko genetik lokal.(Heid et al., 2008)

Dalam konteks tesis yang menganalisis rs2229616 secara genotiping pada dewasa muda Indonesia, penting untuk menempatkan varian ini sebagai modulator risiko dengan efek kecil yang bekerja dalam interaksi dengan faktor lingkungan obesogenik, bukan sebagai penentu tunggal obesitas.(Young et al., 2007a) Pola makan tinggi energi dan lemak, konsumsi makanan ultra-proses, aktivitas fisik yang rendah, serta faktor sosioekonomi dapat memperkuat atau menutupi efek protektif alel 103I, sehingga analisis statistik perlu mengontrol faktor-faktor tersebut dan, bila memungkinkan, mengeksplorasi interaksi gen, lingkungan secara eksplisit.(Bakhashab et al., 2020b) Dengan demikian, tinjauan pustaka mengenai MC4R dan rs2229616 memberikan dasar teoritis yang kuat bahwa jalur melanokortin merupakan target kunci dalam regulasi berat badan, bahwa V103I adalah contoh varian yang relatif protektif terhadap obesitas pada tingkat populasi, dan bahwa karakteristik populasi lokal, termasuk latar belakang genetik dan lingkungan, harus dipertimbangkan dalam menafsirkan hasil asosiasi genotipe-fenotipe pada dewasa muda Indonesia.(Young et al., 2007a)

1.5 Manfaat Penelitian

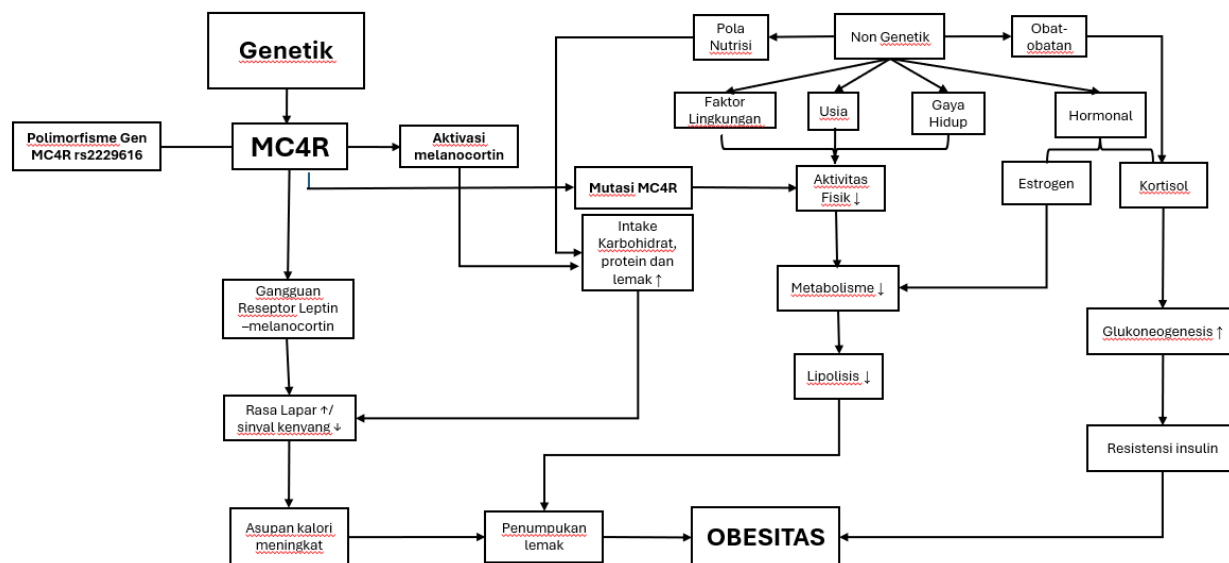
1.5.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dan pemahaman mengenai interaksi antara faktor genetik, epigenetik, dan non-genetik pada obesitas. Penelitian ini juga memberikan wawasan tentang variasi (polimorfisme) genetik MC4R rs2229616 antara kelompok obesitas dan non-obesitas yang dapat menjadi dasar bagi penelitian lanjutan di bidang ini. Penelitian ini memberikan kontribusi penting sehingga dapat mendukung pengembangan strategi medis yang lebih efektif dan berbasis bukti.

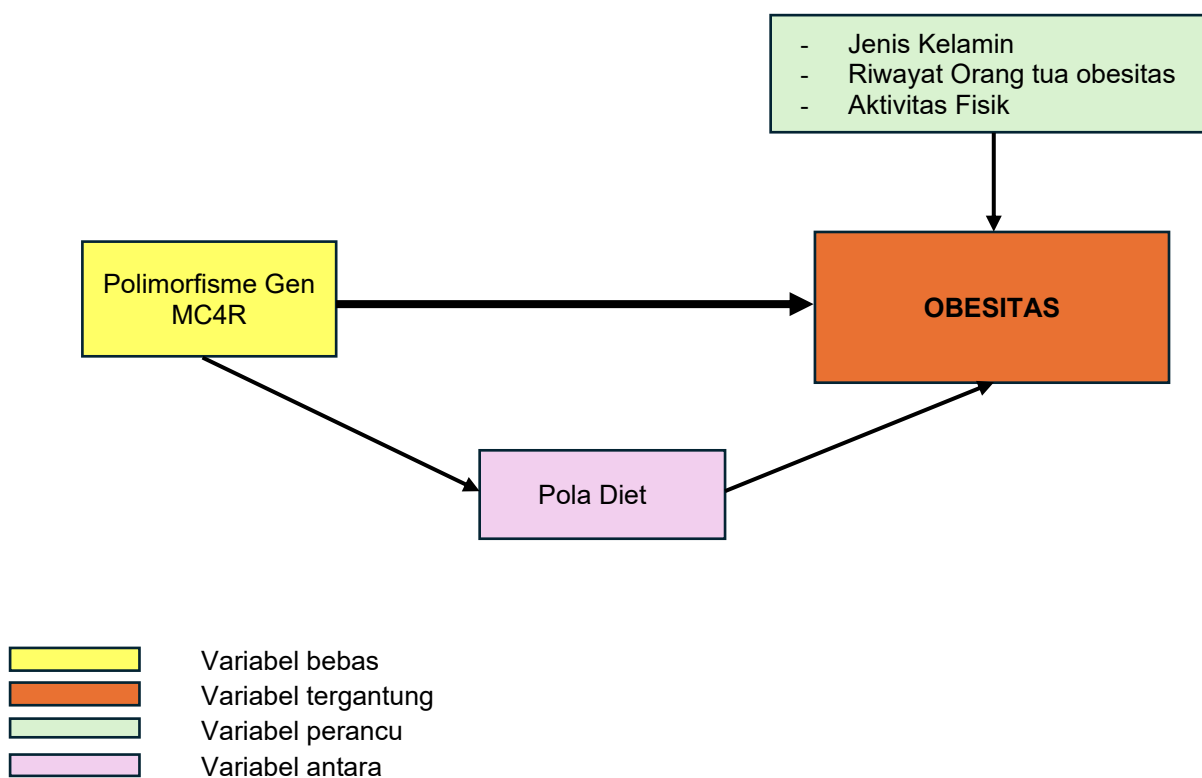
1.5.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai strategi pencegahan obesitas yang lebih efektif dalam mempertimbangkan faktor genetik dan non-genetik sehingga dapat membantu dalam pengembangan intervensi kesehatan yang personal untuk resiko obesitas, serta mendukung kebijakan kesehatan masyarakat yang lebih komprehensif dalam menangani obesitas. Penelitian ini juga berperan dalam meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya faktor genetik dan gaya hidup dalam pengelolaan berat badan. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan kontribusi yang lebih baik dalam bidang medis maupun praktik kesehatan masyarakat.

1.6 Kerangka Teori



1.7 Kerangka Konsep



BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *Crossectional* dan *Observasional* pada peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS) Universitas Hasanuddin angkatan 2024-2025 yang diklasifikasikan sebagai obesitas berdasarkan Indeks Massa Tubuh (IMT), Lingkar Pinggang (LP) dan massa lemak.

2.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas Hasanuddin Makassar dan dilaksanakan mulai pada bulan Oktober tahun 2025 hingga sampel terpenuhi.

Tabel 2. 1 Waktu Penelitian

Waktu	Aktivitas Penelitian
Oktober – November	Persiapan dokumen, surat izin dan pengambilan data
Desember	
Februari	Analisis Data
	Penyusunan laporan akhir

2.3. Populasi dan Partisipan Penelitian

2.3.1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian berasal dari peserta PPDS Universitas Hasanuddin angkatan 2024-2025 yang diklasifikasikan sebagai obesitas obesitas dan non-obesitas berdasarkan IMT, lingkar pinggang, dan persentase massa lemak tubuh.

2.3.2. Partisipan Penelitian

Partisipan penelitian merupakan bagian dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi penelitian yang menyatakan secara tertulis bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani lembar *informed consent*.

2.3.3. Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Besar sampel dalam penelitian ini ditentukan dengan menggunakan metode *total sampling*, yaitu semua peserta PPDS Universitas Hasanuddin angkatan 2024-2025 yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

2.4. Kriteria dan Partisipan Penelitian

Kriteria partisipan penelitian terdiri dari kriteria penerimaan atau kriteria inklusi, kriteria penolakan atau kriteria eksklusi dan kriteria pengeluaran atau *drop out*.

2.4.1 Kriteria Inklusi

1. Usia 25-44 tahun
2. Memiliki IMT 18,5-22,9 kg/m² (status gizi normal) dan ≥ 25 kg/m² (Status gizi obesitas)
3. Bersedia mengikuti penelitian dengan menandatangani *informed consent* dan bersedia memberikan sampel darah untuk analisis genetik dan ekspresi gen

2.4.2 Kriteria Eksklusi

1. Menderita penyakit akut dan kronik.
2. Memiliki riwayat obesitas sebelumnya
3. Mengikuti program penurunan berat badan secara aktif dalam 3 bulan terakhir
4. Mengonsumsi obat-obatan yang mempengaruhi berat badan atau metabolisme, seperti: Glukokortikoid, Antipsikotik, Obat anti-diabetes (dalam 3 bulan terakhir)
5. Sedang hamil atau menyusui

2.4.3 Kriteria drop out antara lain :

1. Peserta yang menolak mengikuti pedoman penelitian
2. Peserta yang menolak melanjutkan penelitian
3. Subjek penelitian menderita sakit berat atau meninggal dunia

2.5 Izin Penelitian dan Ethical Clearance

Pemeriksaan dilakukan dengan terlebih dahulu menjelaskan secara singkat tujuan, dan manfaat penelitian kepada subyek. Subyek kemudian menandatangani formulir persetujuan setelah penjelasan (PSP) yang telah disediakan. Data yang didapatkan pada penelitian ini bersifat rahasia dan prosedur serta protokol.

Penelitian dilaksanakan setelah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar dengan nomor: 1215/UN4.6.4.5.31/ PP36/2025.

2.6 Identifikasi dan Klasifikasi Variabel

2.6.1. Identifikasi Variabel

1. Variasi Gen dan SNPs MC4R
2. Faktor Resiko Non Genetik (Pola diet, aktivitas fisik, usia, jenis kelamin dan laju metabolisme basal (BMR))
3. Obesitas (indeks massa tubuh/IMT atau lingkar pinggang, massa lemak tubuh)

2.6.2. Klasifikasi Variabel

Variabel Bebas	: Polimorfisme Gen MC4R
Variabel Tergantung	: Obesitas
Variabel Perancu	: Usia, Jenis Kelamin, Riwayat Orang tua obesitas, Aktivitas Fisik
Variabel antara	: Pola diet

2.7 Definisi Operasional

1. Usia

Definisi : Usia kronologis yang dihitung berdasarkan pengurangan tanggal, bulan dan tahun saat diambil sebagai sampel dengan tanggal, bulan dan tahun kelahiran.

Cara ukur : wawancara

Hasil ukur : interval dalam satuan tahun

2. Jenis Kelamin

Definisi : Jenis kelamin yang ditentukan berdasarkan keterangan sampel penelitian dan konfirmasi pemeriksaan fisik berdasarkan ciri biologis

Cara ukur : observasi ciri biologis

Alat ukur : KTP

Skala ukur : Nominal

Hasil ukur : kategori

- 1 : Perempuan
- 2 : Laki-laki

3. Riwayat keluarga

- Cara ukur : riwayat keluarga berdasarkan wawancara dengan subyek penelitian dengan riwayat orang tua atau 2 generasi sebelumnya dengan Obesitas
- Alat ukur : wawancara
- Skala ukur : nominal
- Hasil ukur : Kategorik
 - 1 = ada riwayat keluarga
 - 2 = tidak ada riwayat keluarga

4. Obesitas

Definisi : Status obesitas diukur menggunakan IMT atau lingkaran pinggang atau massa lemak. IMT dihitung dengan membagi berat badan dalam kilogram dengan tinggi badan dalam meter kuadrat. Kategori obesitas berdasarkan IMT sesuai kriteria WHO untuk Asia Pasifik.

Cara ukur : BMI dihitung dengan membagi BB dalam satuan kg dengan TB kuadrat dalam satuan kg/m^2

Alat ukur : BIA TANITA MC-980 MA

Skala ukur : Kategori

- ✓ obesitas: $\text{IMT} \geq 25 \text{ kg/m}^2$
- ✓ Tidak obesitas: $\text{IMT} < 25 \text{ kg/m}^2$

5. Lingkaran Pinggang

Cara ukur : Pengukuran *Waist circumference* (WC) atau Lingkaran Pinggang dilakukan dengan menggunakan pita ukur *unstretchable*. Subyek diminta berdiri tegak, pita kain diletakkan pada pertengahan iga paling bawah dan spina iliaka anterior superior (SIAS), pengukuran LP dilakukan pada saat subyek ekspirasi dan dimulai dari titik tengah, kemudian secara sejajar horisontal melingkari pinggang dan perut, lalu kembali menuju titik tengah di awal pengukuran. Angka yang didapat menunjukkan LP subyek. Pada subyek obesitas sentral diukur lingkaran perut terluas. Pengukuran dilakukan sebanyak dua kali dan diambil nilai rata-ratanya.

Alat Ukur : menggunakan pita ukur *unstretchable*, dengan skala ketelitian 0,1 cm.

Hasil Ukur : *waist circumference* dalam satuan cm

Skala ukur : Kategori:

- Obesitas central:
 - laki-laki : $\geq 90 \text{ cm}$
 - perempuan : $\geq 80 \text{ cm}$
- tidak obesitas : tidak memenuhi kriteria di atas

6. Pola Diet

Definisi : Deskripsi spesifik dan terukur tentang bagaimana pola makan seseorang akan diamati yang mencakup jenis makanan dan frekuensi makan dan diukur melalui *Food Frequency Questionnaire (FFQ)*

Cara ukur : wawancara

Hasil ukur : Pengelompokan makan berdasarkan frekuensi konsumsi kelompok makanan sumber karbohidrat (simpleks) dan lemak (jenuh) untuk melihat kecenderungan makanan

yang dominan dikonsumsi oleh sampel penelitian dalam 1 bulan terakhir yang didapatkan dari Food Frequency Questionnaire (FFQ) (hari, minggu, bulan, tidak pernah).

Dari akumulasi hasil sampel penelitian akan ditentukan nilai median dari konsumsi makanan sumber karbohidrat dan lemak, kemudian akan diklasifikasikan menjadi sering (lebih dari nilai median), normal (sama dengan nilai median), rendah (kurang dari nilai median).

7. Aktivitas Fisik

Definisi : Segala kegiatan yang melibatkan kerja otot rangka dan membutuhkan energi dan dikelompokkan berdasarkan kriteria metabolic equivalents

Cara ukur : wawancara

Alat ukur : formulir IPAQ

Skala ukur : ordinal

Hasil ukur : Diukur dengan skor *Internasional Physical Activity Questionnaire (IPAQ)* (MET-min/week) berdasarkan kuesioner IPAQ-SF. Diklasifikasikan sebagai: Rendah: <600, Sedang: 600–3000, Tinggi: >3000.

8. Massa lemak tubuh

Definisi : proporsi massa lemak dengan total berat badan yang dinyatakan dalam %.

Cara ukur : Massa lemak tubuh dapat diukur dengan Bioimpedance analysis (BIA).

Alat ukur : BIA TANITA MC-980 MA

Skala ukur : nominal

Hasil ukur :

- Laki-laki > 21% → overfat
- Perempuan > 34% → overfat

9. Pemeriksaan Sequencing gen

- Sampel yang digunakan adalah serum.
- Ekstraksi DNA pada penelitian ini menggunakan kit dari gYSNC Geneaid Cat. No. Gs300
- Sebanyak 200ul serum sample dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge 1,5 ml steril lalu ditambahkan 20ul Proteinase K, homogenkan dengan cara pipetting, kemudian diinkubasi pada 60°C selama 5 menit.
- Tambahkan 200ul Buffer GSB (Geneid) lalu vortex kemudian diinkubasi kembali pada temperature yang sama selama 2 menit.
- Selanjutnya ditambahkan ethanol absolute (96%) dan vortex selama 10 detik.
- Pindahkan semua campuran tersebut ke dalam spin column, sentrifugasi pada 14.000 xg selama 1 menit.
- Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan anti dengan collection tube yang baru.
- Tambahkan 400ul buffer W1 lalu sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube.
- Tambahkan 600ul wash buffer (Geneid) sentrifuge selama 30 detik, lalu buang cairan pada collection tube dan sentrifuge kembali selama 3 menit.
- Buang collection tube dan letakkan mikrocentrifuge steril pada bagian bawah spin column. Selanjutnya tambahkan 100 ul Elution buffer diamkan selama 3 menit kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 30 detik.
- Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4 °C untuk digunakan sebagai template PCR.

Amplifikasi PCR

- Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel darah dan aquadest sebagai kontrol negatif.
- Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermal Cycler). Untuk amplifikasi gen TNF-Alpha, tahap awal denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 menit, selanjutnya 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 55 °C selama 30 detik, ekstensi 72 °C selama 1.5 menit sebanyak 45 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72 °C selama 10 menit dan 12 °C ± 30 menit untuk penyimpanan.

Pembuatan 2 % Gel Agarosa

- Agarosa dibuat dengan melarutkan 2 g agarose (BioRad) dalam 100 ml 10 Tris borate EDTA (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air). Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut. Selanjutnya ditambahkan 1 µl ethidium bromida (0.2 ug/ml) dan dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir. Setelah agarosa memadat (sekitar 30 menit) selanjutnya dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE 0.5x. Masukkan DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan "loading dye" ke dalam sumur dengan perbandingan 2 : 1, kemudian dimasukkan Marker 100bp setelah keseluruhan sampel dimasukkan.

Pemeriksaan Sequencing

- Analisis mutasi dengan direct sequencing dilakukan di Laboratorium 1st Base Malaysia. Hasil dari produk PCR ini di sequencing untuk medeteksi adanya mutasi pada gen TNF-alpha yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan software "bioedit" dan dilakukan perbandingan dengan data pada "Bank Gen" pada data base NCBI dengan metode Basic local alignment search tool (BLAST).

Analisa Data

- Data hasil DNA sequencing dalam bentuk elektrophenogram kemudian disejajarkan dengan sekuens normal yang berasal dari Gen Bank, kemudian dianalisis dengan menggunakan software Bioedit Sequence Alignment Editor versi 7.0.5.1.

Alat ukur : Real time PCR

Skala ukur : kategorik

1 = CC → *Common Homozygote*

2 = CT → *Heterozygote*

2.8 Teknik dan Prosedur Penelitian

1. Calon peserta dijelaskan mengenai penelitian dan pelaksanaan penelitian serta diberikan informed consent untuk ditandatangani dan bersedia mengikuti penelitian.
2. Peserta diminta mengisi data awal dan kuesioner penilaian aktivitas fisik.
3. Dilakukan pemeriksaan antropometri dan komposisi tubuh, dilakukan pencatatan hasil.
4. Dilakukan pengambilan darah (buffy coat) untuk ekstraksi DNA, dilakukan PCR kualitatif kemudian di *sequencing* untuk medeteksi adanya mutasi pada gen TNF-alpha dianalisis
5. Data yang diperoleh diolah menggunakan dengan menggunakan software "bioedit" dan uji statistik.
6. Hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel.

Wawancara

Subjek akan di wawancara mengenai identitas pasien, data usia, tempat tinggal, riwayat orang tua obesitas, Riwayat asupan makan dengan (*FFQ*) dan kuesioner aktifitas fisik.

Pengukuran Antropometri

Antropometri yang dilakukan meliputi tinggi badan (TB) dan berat badan (BB) dengan prosedur standar, hasil pengukuran tersebut digunakan untuk menentukan indeks massa tubuh (IMT).

Serta pengukuran komposisi tubuh manusia dengan menggunakan alat Body Impedance Analysis (BIA).

1. Prosedur pengukuran Tinggi Badan:

- Gantungkan microtoise di dinding pada ketinggian 2 meter dari lantai yang rata, dengan posisi tegak lurus terhadap dinding dan skala 0 cm sejajar dengan lantai.
- Subjek berdiri tegak di tengah-tengah microtoise tanpa alas kaki atau kaus kaki, mengenakan pakaian minimal, dengan wajah menghadap lurus ke depan. Bagian belakang bahu, pantat, dan tumit menyentuh dinding, sementara kedua lengan berada di samping tubuh.
- Bagian bergerak dari microtoise diturunkan dengan hati-hati hingga menyentuh bagian atas kepala, dan pastikan rambut tertekan.
- Pengukuran dilakukan dua kali, hasil dibaca dan dihitung rata-ratanya, dicatat pada formulir.

2. Prosedur pengukuran Berat Badan:

- Timbangan ditempatkan pada lantai yang rata dan keras, tanpa alas tambahan.
- Sebelum pengukuran berat badan, pastikan skala timbangan menunjukkan angka 0 kg.
- Subjek berdiri tegak di tengah pijakan timbangan tanpa alas kaki atau kaus kaki, serta mengenakan pakaian seminimal mungkin.
- Pengukuran dilakukan dua kali, hasil dibaca dan dihitung rata-ratanya, dicatat pada formulir.

3. Pengukuran Komposisi Tubuh

- Pastikan alat BIA Tanita MC-980 MA berada pada permukaan yang rata dan stabil.
- Nyalakan alat dengan menekan tombol daya hingga layar aktif.
- Periksa dan atur pengaturan awal (usia, jenis kelamin, tinggi badan) sesuai data subjek.
- Subjek diinstruksikan untuk tidak makan, minum, atau berolahraga dalam waktu 2-3 jam sebelum pengukuran.
- Pastikan subjek tidak memakai alas kaki, kaus kaki, atau aksesoris yang mengandung logam.
- Subjek harus mengenakan pakaian ringan untuk meminimalkan pengaruh berat tambahan.
- Subjek berdiri tegak dengan kedua kaki telanjang di atas elektroda pijakan pada alat.
- Pastikan posisi kaki subjek sesuai dengan panduan pada alat untuk kontak optimal.
- Subjek diminta berdiri diam tanpa berbicara atau bergerak selama proses pengukuran.
- Mulai pengukuran dengan menekan tombol sesuai instruksi pada alat.
- Alat akan memproses data dengan mengalirkan arus listrik rendah melalui tubuh untuk menganalisis komposisi tubuh.
- Tunggu hingga alat menunjukkan hasil pengukuran pada layar.
- Catat hasil yang ditampilkan, termasuk berat badan, persentase lemak tubuh, massa otot, kadar air tubuh, dan parameter lainnya.

4. Pemeriksaan laboratorium

Pemeriksaan laboratorium yang dilakukan adalah analisa Mutasi Gen MC4R dengan *direct sequencing*.

a) Protokol pengambilan Darah:

- Spesimen : Darah vena sebanyak 3 mL untuk memenuhi kriteria subjek penelitian di pisahkan menjadi *Buffy coat*
- Peralatan :
 - Vaculan EDTA K3 3ml
 - Spoit 5 ml
 - Alkohol swab 0.5%

- Plesterin bulat soft
- Tourniquet dewasa
- Handscoon

b) Protokol Ekstraksi DNA

- Sebanyak 200ul serum sample dimasukkan ke dalam tabung mikrocentrifuge 1,5 ml steril lalu ditambahkan 20ul Proteinase K, homogenkan dengan cara pipetting, kemudian diinkubasi pada 60°C selama 5 menit.
- Tambahkan 200ul Buffer GSB (Geneid) lalu vortex kemudian diinkubasi kembali pada temperature yang sama selama 2 menit.
- Selanjutnya ditambahkan ethanol absolute (96%) dan vortex selama 10 detik.
- Pindahkan semua campuran tersebut ke dalam spin column, sentrifugasi pada 14.000 xg selama 1 menit.
- Buang collection tube yang berada di bawah spin column dan ganti dengan collection tube yang baru.
- Tambahkan 400ul buffer W1 lalu sentrifuge selama 30 detik dengan kecepatan yang sama kemudian buang cairan yang ada pada collection tube.
- Tambahkan 600ul *wash buffer* (Geneid) sentrifuge selama 30 detik, lalu buang cairan pada collection tube dan sentrifuge kembali selama 3 menit.
- Buang collection tube dan letakkan mikrocentrifuge steril pada bagian bawah spin column.
- Selanjutnya tambahkan 100 ul *Elution buffer* diamkan selama 3 menit kemudian sentrifuge dengan kecepatan yang sama selama 30 detik.
- Cairan yang mengandung DNA yang tertampung pada tabung mikrocentrifuge disimpan pada -4°C untuk digunakan sebagai template PCR.

c) Protokol/Amplifikasi PCR :

- Prosedur ini dikerjakan pada sampel DNA yang telah diisolasi, ekstrak DNA dari sampel darah dan aquadest sebagai kontrol negatif. "PCR mix" dimasukkan ke dalam tabung PCR yaitu dengan komposisi PCR Mix:

Tabel 2. 2 Komposisi PCR Mix

Reaksi	(μ l)
ddH ₂ O	34.75
10X PCR buffer	5
25 mM MgCl ₂	2
5 mM dNTP	1
Reverse primer (20pmol)	1
Forward primer (20pmol)	1
Hotstart DNA pol.	0.25
DNA sample	5
Total premix	50

- Amplifikasi dilakukan dengan menggunakan mesin PCR (DNA thermal Cycler).
- Untuk amplifikasi gen TNF-Alpha, tahap awal denaturasi pada suhu 95 °C selama 15 menit, selanjutnya 94 °C selama 1 menit, annealing pada suhu 55 °C selama 30 detik, ekstensi 72 °C selama 1.5 menit sebanyak 45 siklus dilanjutkan dengan ekstensi akhir suhu 72 °C selama 10 menit dan 12 °C $\pm$ 30 menit untuk penyimpanan.

d) Pembuatan 2% Gel Agarosa:

- Agarosa dibuat dengan melarutkan 2 g agarose (BioRad) dalam 100 ml 10 Tris borate EDTA (100 g Tris base, 27.5 g asam borat, 20 ml 0.5 M EDTA pH 8.0 dalam 1 liter air).
- Kemudian dipanaskan sampai mendidih dan larut.
- Selanjutnya ditambahkan 1 µl ethidium bromida (0.2 ug/ml) dan dimasukkan dalam pencetak gel yang telah dipasang sisir.
- Setelah agarosa memadat (sekitar 30 menit) selanjutnya dimasukkan ke dalam tank elektroforesis yang berisi larutan TBE 0.5x.
- Masukkan DNA sampel yang telah dicampur dengan cairan "loading dye" ke dalam sumur dengan perbandingan 2 : 1, kemudian dimasukkan Marker 100bp setelah keseluruhan sampel dimasukkan.

e) Pemeriksaan sequencing :

- Analisis mutasi dengan direct sequencing dilakukan di Laboratorium 1st Base Malaysia.
- Hasil dari produk PCR ini di sequencing untuk mendeteksi adanya mutasi pada gen TNF-alpha yang selanjutnya dianalisis dengan menggunakan software "bioedit" dan silakukan perbandingan dengan data pada "Bank Gen" pada data base NCBI dengan metode Basic local alignment search tool (BLAST).

f) Analisa Data :

- Data hasil DNA sequencing dalam bentuk elektrophenogram kemudian disejajarkan dengan sekuens normal yang berasal dari Gen Bank, Dianalisis dengan menggunakan software *Bioedit Sequence Alignment Editor* versi 7.0.5.1.

5. Lama Pengambilan data hingga sampel darah $\pm$ 1 jam**6. Pengumpulan data demografi, antropometri, komposisi tubuh, pola makan dan aktivitas fisik disajikan dalam bentuk tabel, grafik, atau diagram lalu dilakukan analisa statistik****2.9 Hipotesis**

1. H0: Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara pola diet dan aktivitas fisik dengan SNP MC4R rs2229616 pada subyek dewasa obesitas dan non obesitas.
2. H1: Terdapat hubungan yang bermakna antara pola diet dan aktivitas fisik dengan SNP MC4R rs2229616 pada subyek dewasa obesitas dan non obesitas.

2.10 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang terkumpul dikelompokkan berdasarkan tujuan dan jenis data, kemudian dipilih metode statistik yang sesuai untuk mengevaluasi interaksi variasi Gen MC4R pada subjek Obesitas dengan obesitas pada peserta PPDS Universitas Hasanuddin angkatan 2024-2025.

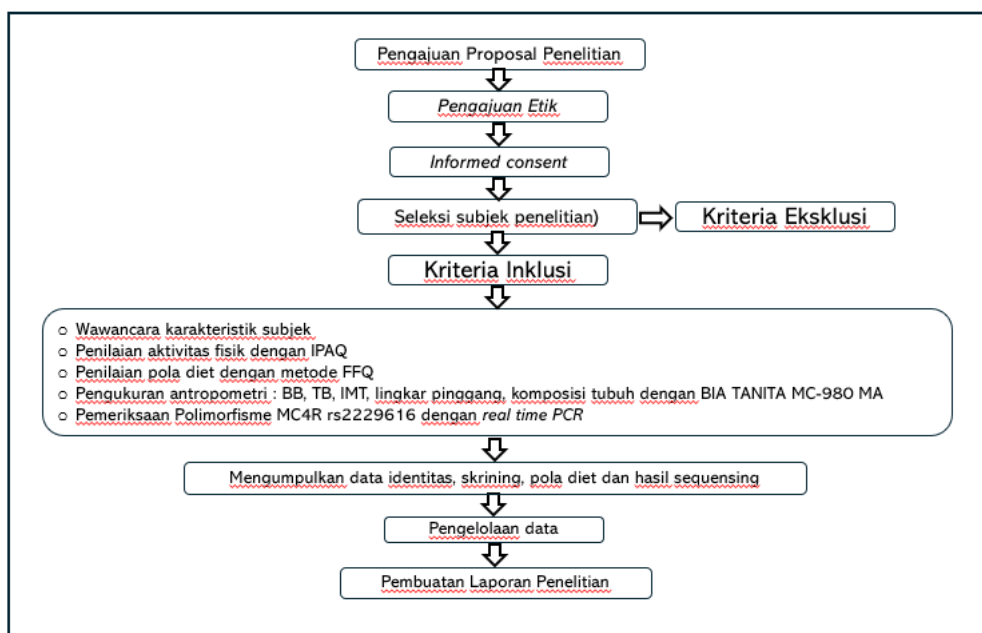
2.10.1. Analisis Bivariat

Analisis univariat digunakan untuk mendeskripsikan karakteristik dasar peserta penelitian. Data ini mencakup distribusi frekuensi yang disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, meliputi data demografi seperti usia, jenis kelamin, IMT, Lingkar pinggang, Riwayat orang tua obesitas, komposisi tubuh, pola diet, aktivitas fisik dan genotipe. Selain itu, distribusi frekuensi juga mencakup genotipe MC4R, klasifikasi kelebihan berat badan yang dibagi berdasarkan normoweight dan obesitas. Hasil analisis bivariat ini disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi.

2.10.2. Analisis Multivariat

Analisis multivariat dilakukan untuk mengeksplorasi dan menguji hubungan antara dua variabel. Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengidentifikasi adanya hubungan atau perbedaan antara dua variabel yang diteliti. Dalam penelitian ini, analisis multivariat digunakan untuk mengevaluasi interaksi antara variasi gen MC4R dengan obesitas. Metode statistik yang digunakan dalam analisis multivariat termasuk uji regresi logistic dan uji chi-square tergantung pada jenis data dan distribusi variabel.

2.11 Alur Penelitian



Gambar 2. 1 Alur Penelitian

2.12 Alat dan Bahan Penelitian

Teknik dan Prosedur penelitian

1. Calon subjek penelitian dijelaskan mengenai prosedur penelitian dan pelaksanaan penelitian serta diberikan informed consent untuk mengikuti penelitian
2. Dilakukan wawancara mengenai pola nutrisi melalui kuesioner FFQ (*Food Frequency Questionnaire*) dan aktivitas fisik melalui kuesioner *Internasional Physical Activity Questionnaire (IPAQ)* (durasi dan intensitas latihan)
3. Dilakukan pengukuran antropometri untuk menentukan status gizi subjek penelitian
4. Dilakukan penilaian komposisi tubuh memakai BIA TANITA MC-980 MA
5. Dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan SNP
6. Dilakukan ekstraksi DNA
7. Pengolahan data menggunakan uji statistik
8. Hasil analisa disajikan dalam bentuk tabel

Indikator/Parameter

Perkiraan jumlah minimal sampel yang dibutuhkan adalah 72 orang dengan perkiraan jumlah residen aktif saat ini 258 orang berdasarkan rumus:

$$n = \frac{N}{1 + N (e)^2}$$

Keterangan:

n = jumlah sampel

N = perkiraan jumlah residen aktif saat ini (258 orang)

e = *margin of error* (0,1 atau 10%)