

**PENGARUH OBESITAS TERHADAP KADAR  
INTERLEUKIN-6  
Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur  
Wistar (*Rattus norvegicus*)**

**SKRIPSI**

untuk memenuhi sebagian persyaratan  
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

**Diki Fajar Cahyanto**

**30101800049**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG  
2022**

## SKRIPSI

### PENGARUH OBESITAS TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)

Dipersiapkan dan Disusun Oleh :

**Diki Fajar Cahyanto**

**30101800049**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji

Pada tanggal, 28 Maret 2022

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

**dr. Hesty Wahyuningsih M.Si.Med.**

Penguji I

Digitally signed  
by Nurina Tyagita  
Date: 2022.04.04  
12:30:16 +0700

**dr. Nurina Tyagita M.Biomed.**

Pembimbing II

**Dra. Eni Widayati M.Si.**

Penguji II

**Dr. dr. Suryani Yuliyanti M.Kes.**

Semarang, 31 Maret 2022

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



**Dr.dr.H. Soyo Trisnadi, S.H., Sp.KF**

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Diki Fajar Cahyanto

Nim : 30101800049

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

**“PENGARUH OBESITAS TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6 Studi Eksperimental Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian besar skripsi orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 30 Maret 2022  
Yang menyatakan,



**Diki Fajar Cahyanto**

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillahirobbilalamin*, puji syukur atas kehadiran Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW yang senantiasa memberikan rahmat dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi sebagai tugas akhir menempuh pendidikan Kedokteran Umum dengan judul **“PENGARUH OBESITAS TERHADAP KADAR INTERLEUKIN-6”** sebagai salah satu syarat kelulusan Program Studi Kedokteran Umum S1 Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

Ucapan terima kasih saya haturkan kepada :

1. Dr. dr. Setyo Trisnadi, Sp.F., S.H, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. dr. Hesty Wahyuningsih, M.Si.Med dan Dra. Eni Widayati., M.Si selaku dosen pembimbing I dan II skripsi, penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas kesabaran, ketulusan, dan arahan-arahan yang diberikan dalam bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi serta dalam menempuh di Program Studi Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
3. dr Nurina Tyagita, M.Biomed dan Dr. dr. Suryani Yulianti, M.Kes. selaku dosen penguji I dan II skripsi, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas kesabaran, ketulusan, dan arahan-arahan yang diberikan selama bimbingan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi tepat

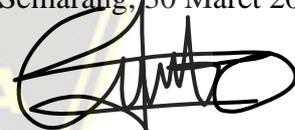
waktu dalam menempuh Pendidikan di program Studi Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.

4. dr. Nika Bellarinatasari Sp.M.M.Sc. selaku dosen wali, penulis ucapkan terima kasih sebesar-besarnya atas kesabaran, ketulusan, dan bimbingan dalam menjalani Studi Kedokteran Umum di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
5. Orang tua penulis Jumanto dan Masna, saudara, dan teman-teman yang telah memberikan dukungan pada penulis selama menjalani Studi Kedokteran Umum dan selama menyelesaikan skripsi penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Karena itu penulis sangat berterima kasih atas kritik dan saran yang bersifat membangun. Besar harapan saya skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di semua disiplin ilmu serta bermanfaat bagi pembaca.

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb.*

Semarang, 30 Maret 2022



**Diki Fajar Cahyanto**

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Interleukin-6 (IL-6).....	6
2.1.1. Definisi Interleukin-6 (IL-6).....	6
2.1.2. Faktor yang memengaruhi kadar IL-6.....	7
2.1.3. Fungsi Interleukin-6.....	8
2.2. Obesitas.....	9
2.2.1. Definisi.....	9
2.2.2. Jenis Obesitas.....	10
2.2.3. Faktor yang Memengaruhi Obesitas.....	12
2.2.4. Patofisiologi Obesitas.....	13

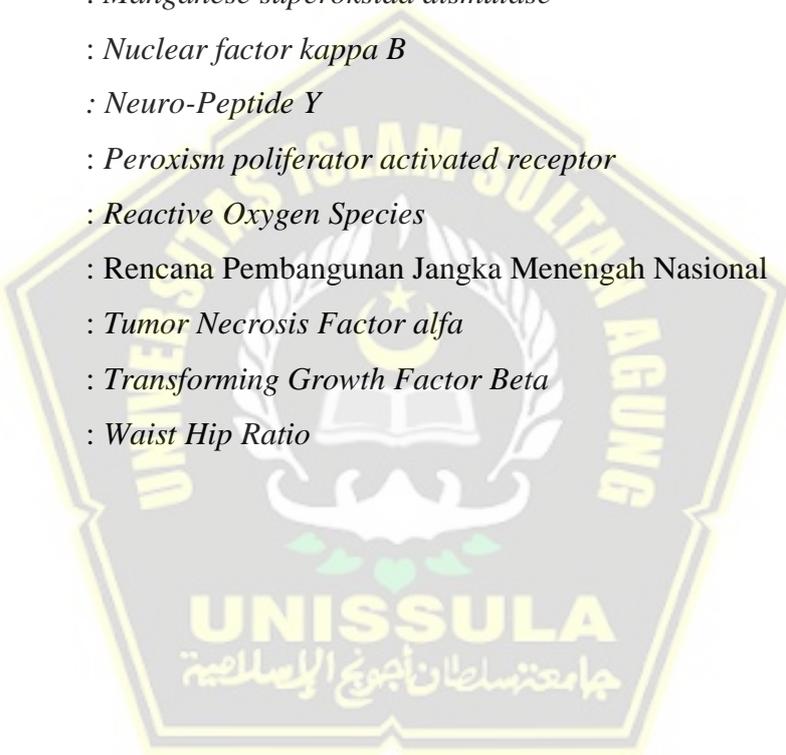
2.3.	Tikus Putih Jantan Galur Wistar .....	17
2.4.	Hubungan Obesitas terhadap Kadar Interleukin-6.....	19
2.5.	Kerangka Teori .....	21
2.6.	Kerangka Konsep.....	21
2.7.	Hipotesis .....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>		<b>22</b>
3.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....	22
3.2.	Variabel dan Definisi Operasional.....	22
3.2.1.	Variabel Penelitian.....	22
3.2.2.	Definisi Operasional .....	22
3.3.	Populasi dan sampel.....	23
3.3.1.	Populasi Target .....	23
3.3.2.	Populasi Terjangkau .....	23
3.3.3.	Sampel .....	23
3.4.	Instrumen dan Bahan Penelitian .....	25
3.4.1.	Instrumen Penelitian .....	25
3.4.2.	Bahan Penelitian .....	26
3.5.	Cara Penelitian .....	26
3.5.1.	Persiapan Penelitian.....	26
3.5.2.	Pelaksanaan Penelitian 1.....	27
3.5.3.	Pengambilan Darah.....	28
3.5.4.	Pelaksanaan Penelitian 2.....	28
3.5.5.	Pengukuran Kadar Interleukin-6 ( <i>IL-6</i> ).....	29
3.6.	Cara Kerja .....	30
3.7.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	31
3.7.1.	Tempat Penelitian .....	31
3.7.2.	Waktu Penelitian.....	31
3.8.	Alur Penelitian .....	32
3.9.	Analisis Hasil.....	33
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>34</b>
4.1.	Hasil Penelitian .....	34

4.2. Pembahasan.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	49
5.1. Kesimpulan .....	49
5.2. Saran .....	49
DAFTAR PUSTAKA .....	51
LAMPIRAN.....	55



## DAFTAR SINGKATAN

CRP	: <i>C-reactive protein</i>
DM	: Diabetes Melitus
GSH	: <i>glutathione</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
LBP <sub>s</sub>	: <i>Lipid Binding Protein</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MnSOD	: <i>Manganese superoksida dismutase</i>
NF-K $\beta$	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
NPY	: <i>Neuro-Peptide Y</i>
PPAR	: <i>Peroxisom poliferator activated receptor</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPJMN	: Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor alfa</i>
TGF- $\beta$	: <i>Transforming Growth Factor Beta</i>
WHR	: <i>Waist Hip Ratio</i>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Pengaturan keseimbangan energi .....	15
Gambar 2.2.	Jalur neurohumoral di hipotalamus yang mengatur kesetimbangan energi .....	15
Gambar 2.3.	Kerangka Teori.....	21
Gambar 2.4.	Kerangka Konsep .....	21
Gambar 3.1.	Cara kerja pengukuran kadar Interleukin-6.....	30
Gambar 3.2.	Alur Penelitian.....	32
Gambar 4.1.	Grafik Batang Rata-rata Kadar IL-6 Menurut Periode Pengukuran pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan .....	37



## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1.	Komposisi pakan standar Comfeed Par S.....	19
Tabel 2.2.	Komposisi pakan tinggi lemak (Rini, 2012).....	19
Tabel 4.1.	Hasil pengukuran berat badan (gram) tikus tiap minggu.....	34
Tabel 4.2.	Hasil Uji T Tidak Berpasangan Perbedaan Berat Badan antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan dalam Beberapa Waktu Pengukuran .....	36
Tabel 4.3.	Rata-rata Kadar IL-6.....	38
Tabel 4.4.	Hasil Analisis Normalitas Sebaran Data Kadar IL-6.....	38
Tabel 4.5.	Perbedaan Rerata Kadar IL-6 Antara Kelompok Kontrol dan perlakuan pada Tiap Periode.....	39
Tabel 4.6.	Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Pretest dan Minggu ke-8 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan.....	40
Tabel 4.7.	Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Pretest dan Minggu ke-12 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan.....	40
Tabel 4.8.	Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Minggu ke-8 dan ke-12 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan.....	41
Tabel 4.9.	Hasil Analisis Perbandingan Selisih Kadar IL-6 Minggu ke-12 dan Pretest antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan.....	42

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Berat Badan Per Minggu.....	55
Lampiran 2. Hasil Uji Statistik SPSS.....	56
Lampiran 3. <i>Ethical Clearance</i> .....	62
Lampiran 4. Surat Izin Penelitian.....	63
Lampiran 5. Surat Keterangan Selesai Penelitian .....	64
Lampiran 6. Surat Bebas Laboratorium.....	65
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	66
Lampiran 8. Surat Undangan Ujian Hasil Skripsi.....	68



## INTISARI

Obesitas adalah penumpukan lemak yang berlebih karena surplus kalori, memicu proses inflamasi yang dapat menyebabkan stres oksidatif dan peningkatan kadar IL-6 yang dapat menyebabkan berbagai penyakit metabolik dan degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kadar IL-6 pada kondisi yang awalnya normal menjadi obesitas dibandingkan dengan kondisi yang sudah obesitas.

penelitian eksperimental dengan design prepost-test control group design yang dilakukan di IBL UNISSULA selama 12 minggu dengan sampel berjumlah 32 ekor tikus jantan galur wistar di bagi 2 kelompok. Kelompok kontrol di beri pakan standar dan kelompok perlakuan obesitas yang diberi tinggi lemak. Kadar IL-6 diperiksa menggunakan ELISA reader. Analisis data menggunakan uji normalitas dan uji homogenitas dikonfirmasi uji beda data BB. Uji T-dependent dilakukan dengan signifikan  $<0,05$  pada kelompok pretest-minggu 8, pretest-minggu 12, dan minggu 8-minggu 12. Selisih kadar IL-6 pada kelompok kontrol dan perlakuan di minggu 12 diuji dengan T-independent untuk mengetahui yang paling efektif peningkatan kadar IL-6.

Kadar IL-6 pada tikus kelompok kontrol pengukuran pretest, minggu ke-8 dan minggu ke-12 masing-masing adalah 69,4 pg/ml; 71,8 pg/ml; dan 97,4 pg/ml dan kondisi obesitas pada kelompok perlakuan pengukuran pretest, minggu ke-8 dan minggu ke-12 masing-masing adalah 56,2 pg/ml; 85,1 pg/ml; dan 85,5 pg/ml. Hasil uji-T menunjukkan terdapat dua periode pengukuran yang menghasilkan perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan minggu ke-8 dan kelompok kontrol minggu ke-12.

Hasil ini disimpulkan bahwa pemberian diet tinggi lemak memengaruhi kadar IL-6 pada tikus berat badan normal dan obesitas.

**Kata Kunci:** Obesitas, Kadar IL-6.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Obesitas adalah satu dari masalah kesehatan global yang selalu berkembang, khususnya di Indonesia. Obesitas dideskripsikan sebagai penumpukan lemak yang berlebih karena banyak makan makanan berlemak, kurang olahraga, dan kurang makan makanan tinggi serat. Penyakit yang sering berkaitan dengan obesitas adalah gangguan kardiovaskular, diabetes melitus, serta penyakit kanker. Jaringan adiposa mengalami inflamasi pada keadaan obesitas, sehingga menghasilkan adipokines untuk merangsang produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), *Tumor Necrosis Factor alfa* (TNF- $\alpha$ ) dan *Interleukin-6* (IL-6). Obesitas memicu proses inflamasi yang dapat menyebabkan peningkatan stres oksidatif dan peningkatan kadar IL-6 yang dapat menyebabkan berbagai penyakit metabolik dan degeneratif (Susantiningsih, 2015).

*World Health Organization* (WHO) memastikan sasaran tahun 2025 untuk menjaga angka kejadian obesitas kembali seperti saat tahun 2010 yaitu 6,7%. Angka kejadian obesitas menjadi dua kali lipat lebih tinggi sejak tahun 1980, di tahun 2014 lebih dari 600 juta orang dewasa dari 1,9 miliar menderita obesitas. Riset kesehatan dasar (Kemenkes RI, 2018) menunjukkan peningkatan angka kejadian obesitas yang terjadi pada orang dewasa usia 18 tahun ke atas pada 2018 sebesar 21,8 % dibandingkan pada tahun 2007. Prevalensi obesitas orang dewasa di tahun 2013 sejumlah

14,8% lebih besar jika dibandingkan dengan tahun 2007 sebesar 10,5%. Angka kejadian obesitas yang terjadi pada penduduk usia lebih dari 18 tahun sekitar 21,8%, akan lebih baik jika tidak melampaui sasaran rencana pembangunan jangka menengah nasional (RPJMN). Obesitas adalah faktor yang memicu terjadinya penyakit degeneratif serta metabolik, dengan adanya peningkatan kejadian obesitas setiap tahunnya dapat mengalami peningkatan pada penyakit degeneratif dan metabolik (RPJMN, 2020).

Penelitian terdahulu sudah memperlihatkan fungsi jaringan white adiposa sebagai produsen zat bioaktif spesifik yang disebut adipokines. Mediator inflamasi lain seperti interleukin-6 (IL-6) juga ditemukan. Susantiningsih (2015) menyatakan bahwa jaringan adiposa merupakan organ yang menghasilkan adipokines serta sebagai perangsang terjadinya pembuatan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Jaringan adiposa diibaratkan sebagai variabel independent pada pembuatan stres oksidatif sistemik karena mengeluarkan adipokines, terdapat sejumlah proses pada obesitas yang dapat memperbanyak pembuatan ROS, yakni peroxisomal asam lemak serta. Penelitian terdahulu menyatakan bahwa keadaan obesitas adalah keadaan peradangan kronis derajat rendah, sel lemak serta matriks jaringan lemak mengekspresikan interleukin-6 (IL-6). Ekspresi interleukin-6 (IL-6) pada jaringan adiposa serta kadar interleukin-6 (IL-6) pada sirkulasi berhubungan positif dengan obesitas yang mengganggu toleransi glukosa serta resistensi insulin (Susantiningsih and Mustofa, 2018). Pada penderita diabetes melitus (DM) tipe 2 tidak terkontrol dan terkontrol akan terjadi

peningkatan kadar serum mediator inflamasi *Tumor Necrosis Factor alfa* (TNF- $\alpha$ ), *Interleukin-6* (IL-6), serta *Transforming Growth Factor Beta* (TGF- $\beta$ ) jika dibanding dengan yang tidak mengidap diabetes melitus tipe 2. Kadar serum IL-6, TGF- $\beta$ , dan TNF- $\alpha$  pada pasien diabetes melitus tipe 2 tidak terkontrol lebih besar jika disandingkan dengan pasien diabetes melitus tipe 2 terkontrol (Al-Shukaili *et al.*, 2013). Obesitas pada anak didapatkan IL-6 serum yang lebih tinggi pada anak obesitas dibandingkan anak normal. Anak obesitas memiliki rerata nilai IL-6 serum sebesar  $2.73 + 0.98$  pg/mL, anak normal memiliki rerata yang lebih rendah yaitu sebesar  $1.07 + 0.41$  pg/mL. IL-6 juga didapatkan berhubungan positif dengan IMT pada pasien obesitas (Frelut and De Filippo, 2015). Berdasarkan penelitian sebelumnya, dapat ditarik kesimpulan bahwa peningkatan kadar IL-6 merupakan salah satu tanda terjadinya inflamasi yang disebabkan oleh obesitas (Moulia, Sulchan and Nissa, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk melihat kadar IL-6 pada kondisi yang awalnya normal menjadi obesitas dibandingkan dengan kondisi yang sudah obesitas.

Obesitas memicu peningkatan produksi sel-sel adiposa, hal ini mengakibatkan keluarnya mediator-mediator inflamasi seperti leptin, TNF- $\alpha$  dan IL-6 sebagai proses kompensasi. Interleukin-6 berperan dalam mengatur respon imun dan reaksi inflamasi dengan mekanisme menata pertumbuhan, pergerakan, dan diferensiasi leukosit maupun sel-sel lain. Mengacu dari penelitian yang dilakukan oleh (Susantiningsih and Mustofa, 2018) maka akan dilakukan penelitian dengan kebaruan yaitu menginduksi subjek

obesitas dengan diet tinggi lemak , untuk mengetahui perbedaan selisih kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar kondisi berat badan normal hingga obesitas dengan tikus putih jantan galur wistar yang telah mengalami obesitas lama.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah terdapat pengaruh obesitas terhadap peningkatan kadar interleukin-6 pada tikus putih jantan galur wistar?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh obesitas terhadap kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1.3.2.1. Untuk mengetahui selisih kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar kondisi berat badan normal

1.3.2.2. Untuk mengetahui selisih kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar kondisi obesitas.

1.3.2.3. Untuk mengetahui perbedaan selisih kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar kondisi berat badan normal hingga obesitas dengan tikus putih jantan galur wistar yang telah mengalami obesitas lama.

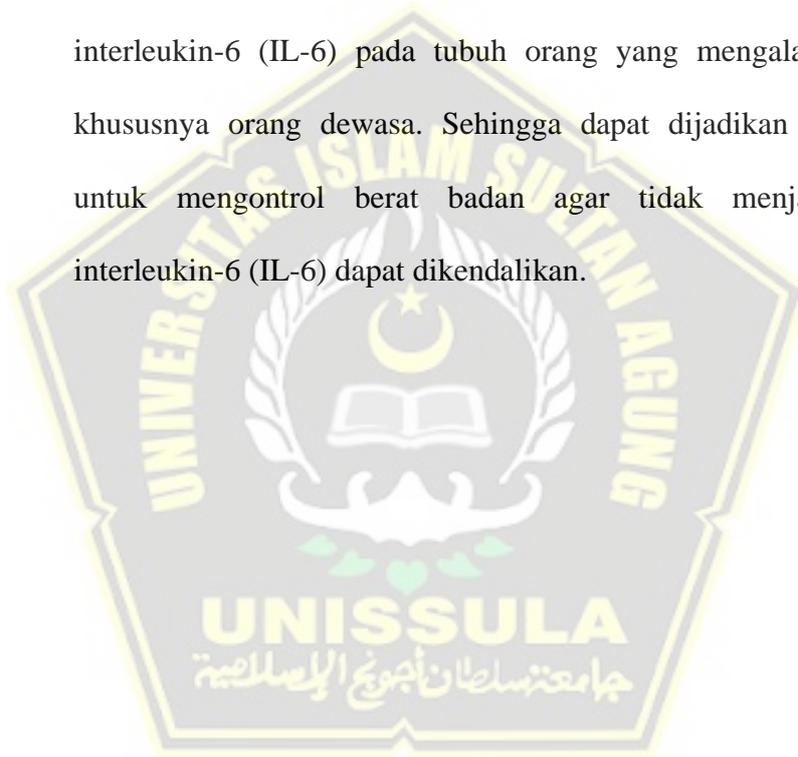
## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Manfaat Teoritis**

Menambah referensi ilmu tentang pengaruh obesitas terhadap kadar IL-6 dalam tubuh dan dapat dijadikan landasan untuk penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan interleukin-6 (IL-6).

### **1.4.2. Manfaat Praktis**

Memberikan pengetahuan sebagai informasi terkait kadar interleukin-6 (IL-6) pada tubuh orang yang mengalami obesitas, khususnya orang dewasa. Sehingga dapat dijadikan suatu acuan untuk mengontrol berat badan agar tidak menjadi obesitas interleukin-6 (IL-6) dapat dikendalikan.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Interleukin-6 (IL-6)**

##### **2.1.1. Definisi Interleukin-6 (IL-6)**

Sitokin merupakan polipeptida yang dihasilkan dalam proses pengaturan reaksi peradangan maupun imunologi saat mikroorganisme ataupun antigen lainnya masuk kedalam tubuh manusia. Sitokin tersebut berhubungan dengan terjadinya limfoposis maupun hemopoiesis, seperti pengendalian reaksi peradangan dan respon imun dengan melakukan pengaturan perkembangan, mobilisasi dan pematangan leukosit maupun sel lainnya. Sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- $\alpha$  berperan menginduksi terjadinya peradangan di tubuh.

Interleukin-6 (IL-6) diproduksi dari banyak sel dan memiliki reseptor di banyak sel pula. Makrofag dan limfosit adalah sumber utama dari IL-6 di area peradangan. IL-6 merupakan induser kuat dari reaksi fase akut yang beredar dalam jumlah yang tinggi selama stres, inflamasi, dan penyakit infeksi (Rocha and Folco, 2011). Studi tentang jaringan adiposa sebagai organ endokrin mengurai produksi yang melimpah dari IL-6 dimana jaringan adiposa menghasilkan sekitar 26% dari seluruh IL-6 yang beredar pada manusia (Rocha and Folco, 2011). Sitokin inflamasi ini diproduksi oleh sel lemak,

makrofag, endotel, sel-sel imun lainnya, fibroblas, maupun otot lurik (Rocha and Folco, 2011).

### 2.1.2. Faktor yang memengaruhi kadar IL-6

Produksi IL-6 dalam dipengaruhi oleh banyak sebagai berikut :

#### a) Umur

Semakin tinggi usia atau umur seseorang kadar IL-6 serum juga dapat meningkat. Umur 65 - 74 tahun memiliki rerata kadar IL-6 sebesar 1,4 pg/ml pada lelaki dan 1,1 pg/ml pada perempuan. Laki-laki dengan umur lebih dari 85 tahun memiliki rerata kadar IL-6 sebesar 3,5 pg/ml sedangkan pada perempuan rerata kadar IL-6 nya adalah 2,1 pg/ml. Peningkatan radikal bebas oksigen pada usia tua menjadi alasan terjadinya peningkatan kadar IL-6 terkait umur. Adanya gangguan ekspresi pada gen juga menjadi penyebab peningkatan IL-6 terkait peningkatan usia (Ketut, 2016).

#### b) Jenis kelamin

Kondisi pro-inflamasi tidak berat pada usia tua ditandai dengan rendahnya hormon steroid dalam serum. Banyak hormon yang berkorelasi negatif dengan kadar IL-6 layaknya hormon *dehidroepiandrosteron* (DHEA) sulfat dapat menurunkan produksi IL-6 pada sel mononuklear. Maka dari itu hubungan jenis kelamin dengan kadar IL-6 ini adalah pada hormon yang pastinya berbeda antara laki-laki maupun perempuan. Pada

perempuan menopause akan terjadi peningkatan produksi IL-6. Terapi hormon estrogen pada perempuan menopause juga akan menghambat produksi IL-6 di serum (Chamarthi *et al.*, 2011).

c) DM Tipe II

Orang sehat dapat terkena penyakit DM tipe 2 saat terjadi peningkatan kadar IL-6. Hal itu terjadi karena IL-6 berhubungan dengan metabolisme glukosa didalam tubuh. IL-6 dapat meningkatkan absorpsi glukosa dan mengakali kekuatan insulin (Chamarthi *et al.*, 2011).

d) Asap rokok

Asap rokok dapat menginduksi leukosit sehingga kadar IL-6 akan meningkat. Peningkatan IL-6 ini akibat perannya dalam proses sintesis protein-protein fase akut maupun *C-reactive protein* (CRP) oleh hepatosit. Karakteristik yang membedakan IL-6 dengan sitokin lainnya adalah karena sebagian besar IL-6 beredar bebas di sirkulasi (Solang *et al.*, 2016).

### 2.1.3. Fungsi Interleukin-6

Interleukin-6 merupakan sitokin yang mempunyai fungsi pleotrofik mulai dari regulasi metabolik sampai inflamasi, autoimun dan respon fase akut (Wan *et al.*, 2019). Interleukin 6 juga akan meningkatkan permeabilitas vaskular, salah satunya efek yang timbul setelah IL-6 menuju hepatosit yaitu merangsang reaktan fase akut sebagai penanda adanya inflamasi. CRP yang berperan

meningkatkan pelepasan serum amiloid dapat menyebabkan amiloidosis serta meningkatkan fase akut reaktan fibrinogen yang dapat berisiko kelainan kardiovaskular (Rahmawati, 2014). Produksi hepsidin yang meningkat pada kondisi inflamasi menyebabkan terjadinya anemia. Interleukin-6 juga menyebabkan penurunan produksi albumin yang berakibat timbulnya edema (Djuardi *et al.*, 2020).

Interleukin-6 yang dihasilkan akan merangsang sel T, CD8 maupun CD4, dan stimulasi sel limfosit T yang merupakan respon inflamasi. Interleukin-6 diproduksi oleh sel-sel imun selama respon inflamasi yang memiliki banyak efek. Interleukin berikatan dengan reseptor pada permukaan sel untuk mengerahkan efeknya pada sel target, reseptor interleukin-6 di temukan pada membran yang dapat terikat yang membutuhkan koreseptor GP130. Interleukin-6 berikatan dengan reseptor GP130 terjadi JAK STAT atau jalur MAPK, jalur ini akan mengarah pada faktor transkripsi yang akan membaca gen dalam DNA untuk mengekspresikan adanya peradangan (Cahyaningrum, 2015).

## **2.2. Obesitas**

### **2.2.1. Definisi**

Obesitas adalah kondisi dengan tingginya kadar lemak secara berlebih karena tidak ratanya energi yang masuk dengan energi yang dikeluarkan dalam waktu lama. Ciri khas obesitas adalah hipertrofi

dan hiperplasia jaringan adiposa. Jaringan adiposa merupakan organ endokrin yang aktif dan proses signalingnya adalah *parakrin* dengan mensekresi sitokin maupun mediator bioaktif dalam jumlah besar seperti *adiponectin*, *leptin*, IL- $\alpha$ ) maupun TNF- $\alpha$ . Produk-produk jaringan adiposa itu dapat menyebabkan resistensi insulin, diabetes melitus, gangguan profil lipid, gangguan tekanan darah, inflamasi, fibrinolisis, *atherosclerosis* dan gangguan koagulasi.

Salah satu yang termasuk dalam inflamasi kronis derajat rendah adalah obesitas (Susantiningih and Mustofa, 2018). Hal itu terjadi karena terdapat tanda inflamasi seperti *leptin*, IL-6, IL-8, CRP dan *haptoglobin* yang terjadi peningkatan pada pasien obesitas. Penurunan berat badan akan menurunkan kadar dari tanda-tanda inflamasi tersebut. Jaringan adiposa memproduksi 1/3 kadar IL-6 yang ada di sirkulasi perifer. Keadaan obesitas dengan meningkatnya luas jaringan adiposa dapat menyebabkan peningkatan kadar IL-6. Jaringan adiposa juga memproduksi TNF $\alpha$  yang dapat menyebabkan peningkatan kadar sitokin Th2 (IL-4 dan IL-5) (D Isaacson, J L Mueller, 2006; Frelut and De Filippo, 2015).

### 2.2.2. Jenis Obesitas

#### a) Obesitas Tipe Android (Sentral)

Obesitas tipe android memiliki nama lain obesitas sentral (OS). OS adalah obesitas dengan deposisi lemak di sentral tubuh (perut) yang dapat diukur dengan menggunakan indikator lingkaran

perut, obesitas ini juga sering disebut *apple shape obesity* dengan simpanan lemak di perut bagian intraperitoneal maupun retroperitoneal. Obesitas tipe ini banyak dijumpai pada kaum pria dengan melihat bentuk postur tubuh salah satunya yaitu perut buncit dengan postur tubuh seperti gentong, pada obesitas ini juga terjadi adanya hiperplasi dari sel adiposa dengan *Waist Hip Ratio* (WHR) lebih dari 0,90 atau rasio pinggang pinggul yang dapat dihitung dari perbandingan antara lingkaran pinggang dengan lingkaran pinggul. Sehingga hal ini dapat mempengaruhi munculnya penyakit degeneratif seperti hipertensi, diabetes, stroke, maupun penyakit jantung (Hariyanto A, 2015).

b) Obesitas Tipe Perifer

Obesitas perifer adalah obesitas dengan timbunan lemak yang di *region gluteofemoral* atau paha dan perut sehingga nama lain dari obesitas ini adalah obesitas ginekoid atau obesitas seperti buah pir. Obesitas ginekoid banyak dijumpai pada kaum perempuan. Pada obesitas ini juga terjadi peningkatan sel adiposa dengan *Waist Hip Ratio* (WHR) kurang dari 0,85 atau rasio pinggang pinggul yang dapat dihitung dari perbandingan antara lingkaran pinggang dengan lingkaran pinggul (Hariyanto A, 2015).

### 2.2.3. Faktor yang Memengaruhi Obesitas

Obesitas dipengaruhi oleh banyak hal, penyebab obesitas menurut (Kemenkes RI, 2016) adalah sebagai berikut :

#### a) Faktor Genetik

Sebesar 40-50% peluang seseorang mengalami obesitas apabila keluarganya ada yang mengidap obesitas. Peluang terjadi hipotesis sampai 70-80% bila semua orang tuanya mengidap obesitas.

#### b) Faktor Lingkungan

##### 1) Jumlah Konsumsi Makanan

Jumlah masukan energi berlebihan dapat meningkatkan peluang berat badan berlebih maupun obesitas. Kandungan energi tinggi terdapat pada makanan tinggi lemak dan juga makanan rendah serat menjadikan energi tubuh tidak seimbangan

##### 2) Aktivitas Fisik

Risiko obesitas terjadi lebih tinggi pada orang kurang gerak, yang menyebabkan energi yang di keluarkan tidak maksimal.

#### c) Faktor Obat-obatan

Konsumsi obat-obatan kelamaan seperti steroid yang digunakan sebagai tatalaksana asma, alergi, atau osteoarthritis

dapat meningkatkan nafsu makan dapat menaikkan untuk rentan terkena obesitas.

d) Faktor Hormonal

Hormon leptin, grelin, tiroid, dan esterogen merupakan hormon yang berperan dalam kejadian obesitas.

#### 2.2.4. Patofisiologi Obesitas

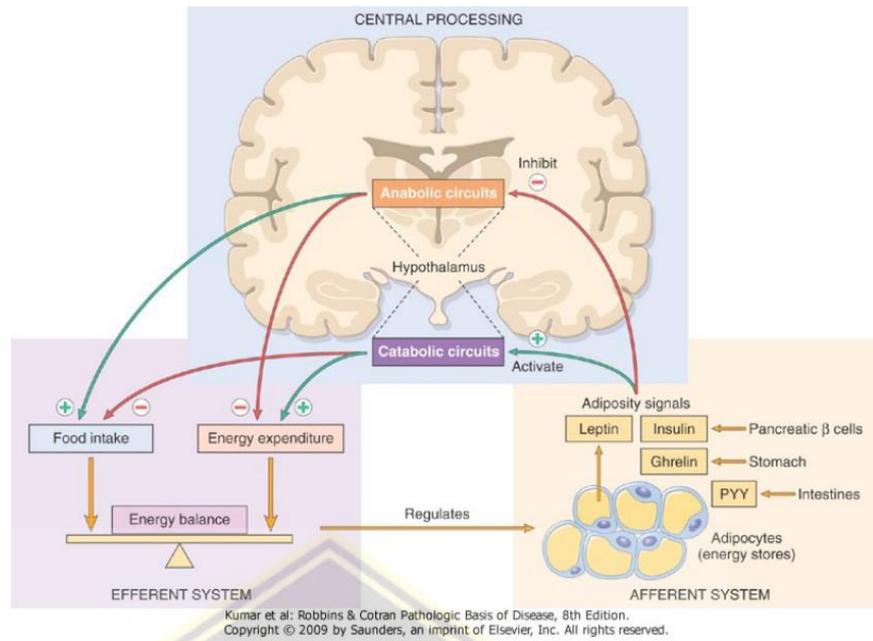
Obesitas merupakan gangguan keseimbangan energi didalam tubuh, terjadi apabila sumber energi tinggi serta energi yang dikeluarkan rendah. Pengaturan keseimbangan energi dapat dilihat pada Gambar 2.2. Hipotalamus memiliki peran untuk menyeimbangkan energi dengan tiga proses fisiologi yakni mengendalikan nafsu makan, melalui laju pengeluaran energi, dan pengaturan produksi hormon yang melewati sinyal eferen di hipotalamus sebagai pusatnya. Jaringan lemak, otot maupun usus mengirim sinyal aferen dari perifer ke hipotalamus. Persinyalan itu dapat meningkatkan nafsu makan (anabolik) dan anorekasia (katabolik) menjadi sinyal panjang dan pendek (Coleman, 2010).

Sinyal pendek mengakibatkan jadwal makan dan porsi makan yang berhubungan dengan faktor distensi lambung dan peptida gastrointestinal yang diperankan oleh *kolesistokinin* (CCK) yang merupakan simulator untuk meningkatkan nafsu makan. Sinyal panjang diperankan melalui hormon leptin juga insulin sebagai regulator penyimpan serta menjaga energi agar tetap seimbang.

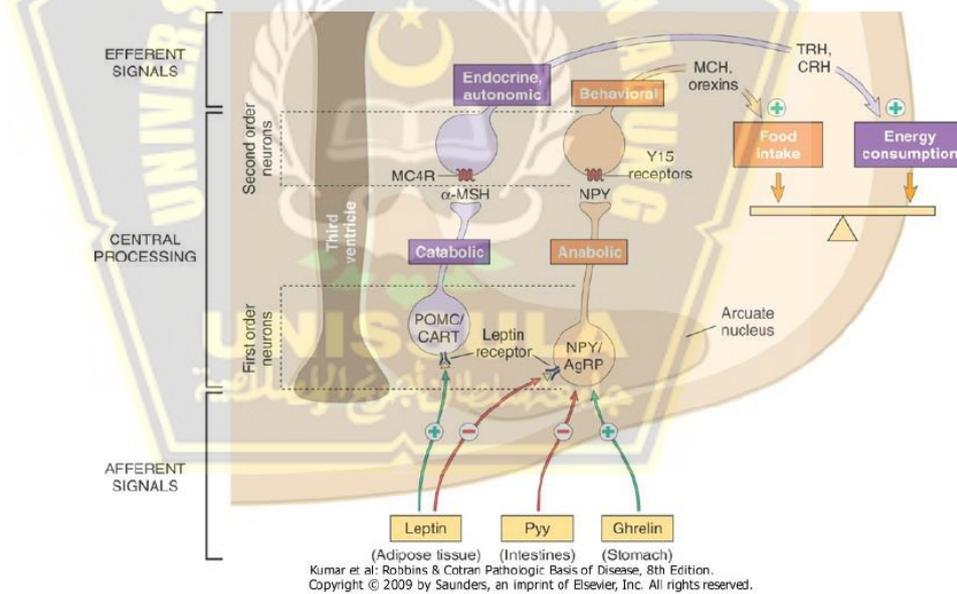
Jaringan lemak mengalami peningkatan disertai meningkatnya jumlah leptin jika masukan energi lebih besar dibandingkan kebutuhan. Leptin akan menarik *anorexigenic center* di hipotalamus sehingga *neuro-peptide Y* (NPY) akan menurun menyebabkan nafsu makan berkurang. Resistensi leptin pada pengidap obesitas membuat kadar leptin meningkat sehingga dapat mengakibatkan turunnya nafsu makan (Cahyaningrum, 2015).

Pengontrolan rasa lapar dan rasa kenyang di atur oleh metode neurohumoral (Gambar 2.1), dimana metode ini diaktivasi melalui reaksi metabolis melalui hipotalamus sebagai pusatnya. Kelainan alur sinyal makan dipengaruhi nukleus hipotalmikus media hingga munculnya rasa ingin makan melalui :

- 1) Tingginya reaksi tanda oreksigenik (*ghrelin* maupun *neuropeptida Y*)
- 2) Memblokase reaksi tanda jaringan lemak contohnya leptin yang memblokir jalur *propiomelanocortin* (POMC) di hipotalamus



**Gambar 2.1.** Pengaturan keseimbangan energi (Coleman, 2010).



**Gambar 2.2.** Jalur neurohumoral di hipotalamus yang mengatur kesetimbangan energi (Coleman, 2010).

Obesitas merupakan kondisi lebih banyak asupan daripada energi. Asupan energi yang berlebih disimpan di jaringan lemak dalam bentuk trigliserida. Keseimbangan energi dalam tubuh dipengaruhi oleh faktor dari dalam dan luar tubuh. Faktor dari dalam tubuh adalah regulasi fisiologis dan metabolisme yang dapat dipengaruhi oleh genetik dan lingkungan. Faktor dari luar tubuh adalah gaya hidup yang dapat mempengaruhi aktivitas fisik dan makanan (Nissa and Madjid, 2016).

Regulasi fisiologis dan metabolisme terdiri dari 2 faktor, yaitu *controller* (otak) dan *controlled system/ nutrient partitioning* (selain otak yang dapat menyimpan energi, seperti : otot, saluran cerna, ginjal, hati, dan jaringan adiposa. Otak akan mengeluarkan respon untuk mengaktifasi atau menghambat motor system dan memodulasi sistem saraf dan hormonal untuk mencari atau menjauhi makanan. Saluran cerna memiliki beberapa peptida yang dapat mempengaruhi dalam mengontrol asupan makanan, seperti *gastrin-releasing peptide, neuromedin B, kolesistokinin, oksintomodulin*, dan neuropeptida YY3-36 yang dapat mengurangi asupan makan. Pankreas akan mengeluarkan peptida yaitu amylin yang akan menyebabkan otak menekan asupan makan. Peptida yang dikeluarkan oleh gaster adalah grelin. Hormon dalam tubuh dapat mempengaruhi otak dan mengontrol naik atau turunnya asupan makanan, salah satu contoh hormon histamin, apabila sekresi

histamin berkurang maka otak akan meningkatkan asupan makana (Soewoto and Molekuler, 2009).

*Controlled system* (otak) akan mengatur asupan makanan setelah zat gizi masuk ke dalam sel. *Peroxisme poliferator activated receptor* (PPAR)-  $\gamma$  diketahui bahwa berperan dalam cadangan lemak di jaringan adiposa. Sel adiposit akan dibagi menjadi (1) adiposit normal, terjadi hipertrofi (2) jumlah sel meningkat/ hiperplasia dan terjadi hipertrofi sel. Apabila adiposit yang sudah terisi penuh pada orang yang bersangkutan dan terus mengkonsumsi kalori yang banyak daripada yang dikeluarkan, maka sel-sel adiposit baru berisiko tinggi untuk menjadi obesitas (Nissa and Madjid, 2016).

### 2.3. Tikus Putih Jantan Galur Wistar

Tikus putih jantan galur wistar memiliki ciri kepala lebih sempit dengan tubuh yang panjang, telinga pendek dan tebal dengan berambut halus, ekor tidak pernah lebih panjang dari tubuhnya, dan memiliki mata yang merah. Tikus putih jantan galur wistar dipilih karena lebih tahan terhadap perlakuan dan tidak mudah stress jika di bandingkan dengan mencit serta pertumbuhannya yang cepat (Wiryawan, 2006). Obesitas pada tikus putih jantan galur wistar mengikuti kriteria Lee yaitu berat badan tikus usia 2-5 bulan dengan berat lebih dari 250 gram (Nesti, 2015). Sebelum diinduksi obesitas, hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu untuk menyesuaikan dengan lingkungan.

Diet tinggi lemak akan mempengaruhi absorpsi lemak dan metabolisme lipid, diet tinggi lemak akan memicu meningkatnya ekspresi LBPs. Ekspresi dari *Lipid Binding Protein* (LBPs) yang berlokasi pada entrosit sehingga absorpsi lipid akan meningkat, pada diet tinggi lemak juga akan meningkatkan ekspresi Apo CII dan Apo CIII yang berperan sebagai aktivator dan inhibitor dari Lipoprotein Lipase (LPL) di intestinal. Diet moderate lemak pada tikus selama 12 minggu dapat menginduksi gangguan profil lipid dan peningkatan berat badan pada tikus, sedangkan pemberian diet lemak dengan kandungan 32% kkal lemak selama 10 minggu dapat meningkatkan kadar LDL dengan disertai peningkatan tekanan darah. Diet tinggi lemak selama 10 minggu pada tikus putih akan menjadikan tikus obesitas (Purwo, 2010). Induksi diet tinggi lemak pada tikus dapat meningkatkan berat badan melalui modulasi mikrobiota usus sehingga akan terjadi peningkatan permeabilitas dan kemampuan absorpsi pada usus. Peningkatan asam lemak akan meningkatkan acyl-CoA dan metabolitnya *diacylglycerol* (DAG), *triacylglycerol* (TAG) dan seramid di intrasel. Akumulasi seramid dapat memicu peningkatan aktivitas *glucose transporter-4* (GLUT-4) sehingga akan terjadi peningkatan glukoneogenesis sehingga dapat meningkatkan massa tubuh. (Nissa and Madjid, 2016).

Komposisi pakan standar Comfeed Par S dapat di lihat pada Tabel 2.1 dan bahan baku yang digunakan dalam pakan standar Comfeed Par S yaitu jagung, katul, pollard, vapessed, Copra meal, biji batu, Vitamin mineral, DDGS.

**Tabel 2.1. Komposisi pakan standar Comfeed Par S**  
**Komposisi pakan standar**

No.	Komposisi	Kandungan
1.	Air	Max. 12 %
2.	Lemak kasar	Min. 4 %
3.	Serat kasar	Max 6 %
4.	Protein kasar	12-14 %
5.	Kalsium	0,9-1,2 %
6.	Abu	Max. 7,5 %
7.	Fosfor	0,6-0,8 %

Pakan tinggi lemak di buat dengan komposisi bahan yang memiliki kandungan lemak yang tinggi, seperti yang dapat dilihat di Tabel 2.2. Diet tinggi lemak yang pernah dilakukan terdahulu oleh (Rini, 2012) penelitian tentang hiperlipidemia.

**Tabel 2.2. Komposisi pakan tinggi lemak (Rini, 2012)**  
**Komposisi pakan tinggi lemak**

No.	Bahan	Satuan (gr)
1.	Pakan standar Comfeed Par S	300
2.	Mentega	100
3.	Lemak sapi	10
4.	Kuning telur ayam	20

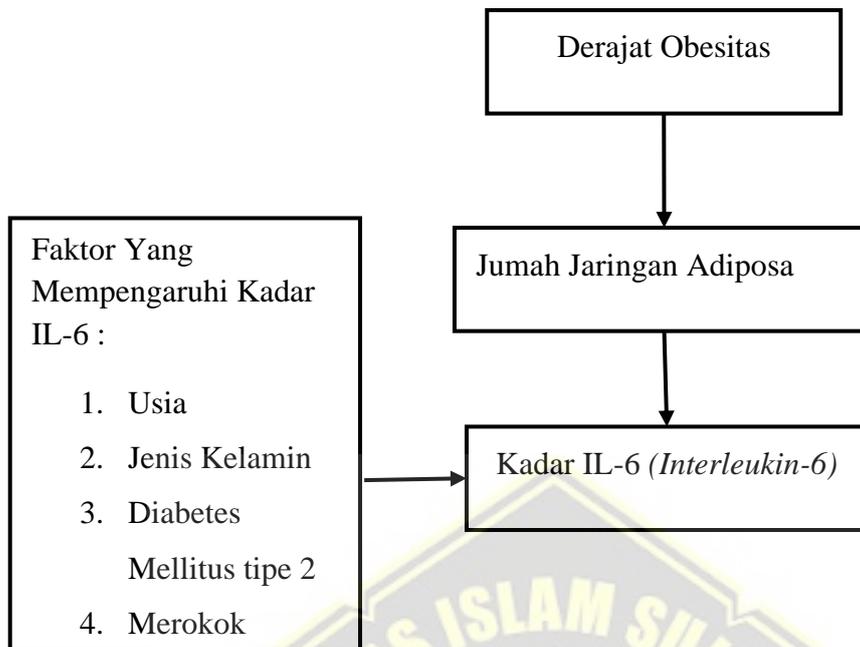
#### 2.4. Hubungan Obesitas terhadap Kadar Interleukin-6

Ciri khas obesitas ditandai dengan hipertrofi dan hiperplasia jaringan lemak. Persinyalan parakrin dari jaringan lemak dapat memproduksi sitokin dan mediator lainnya dalam jumlah besar, contohnya *adinopectin*, *leptin*, IL-6 dan TNF- $\alpha$ . Obesitas juga ditandai dengan terjadinya peradangan kronis derajat rendah. Hal itu dikarenakan munculnya tanda peradangan (IL-6, IL-8, CRP, leptin dan haptoglobin) yang terdeteksi pada penderita obesitas. Hal ini dapat diatasi dengan menurunkan berat badan. IL-6 dan IL-6R di jaringan diekspresikan oleh adiposit dan matriks di jaringan adiposa (Anam, 2010).

Ekspresi dari IL-6 dan IL-6R di jaringan adiposa viseral 2-3 x lebih banyak dibanding jaringan adiposa dibawah kulit. Ekspresi IL-6 di pembuluh darah berhubungan secara positif dengan gangguan toleransi glukosa, obesitas, dan insulin resisten. Ekspresi IL-6 di pembuluh darah dapat menyebabkan turunnya berat badan dan menghambat sinyal dari insulin di tepi dengan cara merendahkan *insulin receptor signaling components*, dan menjadikan *supresi cytokine signaling* 3 sebagai pengaturan negatif untuk insulin dan leptin signaling (Susantiningsih and Mustofa, 2018).



## 2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.3. Kerangka Teori

## 2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.4. Kerangka Konsep

## 2.7. Hipotesis

Terdapat pengaruh obesitas terhadap kadar Interleukin-6 (IL-6) pada tikus putih jantan galur wistar.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan rancangan penelitian *pre test post test control group design*.

#### **3.2. Variabel dan Definisi Operasional**

##### **3.2.1. Variabel Penelitian**

###### 3.2.1.1. Variabel Bebas

Obesitas

###### 3.2.1.2. Variabel Tergantung

Kadar Interleukin-6 (IL-6)

##### **3.2.2. Definisi Operasional**

###### 3.2.2.1. Obesitas

Obesitas pada tikus dewasa usia 3 bulan dengan rata-rata berat badan obesitas lebih dari 250 gram.

Skala data : nominal (obes (BB>250 g) & tidak (BB<250g))

###### 3.2.2.2. Variabel Tergantung

Interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin pro inflamasi yang ada dalam tubuh yang di produksi oleh makrofag yang berfungsi untuk merangsang sel inflamasi, fibroblas dan sel epitel, dapat diukur menggunakan *Enzyme Linked*

*Immunosorbent Assay* (ELISA) Reader dengan satuan pg/ml. Darah diambil melalui darah sinus orbitalis.

Skala data : Ratio

### 3.3. Populasi dan sampel

#### 3.3.1. Populasi Target

Populasi target pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*).

#### 3.3.2. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau dalam penelitian ini adalah semua tikus putih jantan galur wistar yang ada di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

#### 3.3.3. Sampel

##### 3.3.3.1. Tikus Yang Memenuhi Kriteria Inklusi

1. Tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*)
2. Berusia 3 bulan
3. Berat badan tikus obesitas >250 gram
4. Berat badan tikus normal 180-250 gram
5. Sehat pada penampilan luar:
  - a. Gerak aktif
  - b. Tidak ada luka
  - c. Tidak ada cacat

d. Cukup makan dan minum

### 3.3.3.2. Kriteria *Drop Out*

1. Tikus mati selama jalannya penelitian

### 3.3.3.3. Besar Sampel

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini dengan menggunakan rumus besar sampel eksperimental dari Federer yaitu:

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

$$(2-1)(n-1) \geq 15$$

$$2n-2-n+1 \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Keterangan:

t : Banyaknya perlakuan

n : Banyaknya sampel setiap perlakuan

Jumlah sampel untuk setiap kelompok perlakuan minimal 16 ekor tikus jantan galur wistar. Jumlah sampel seluruhnya adalah 32 ekor tikus.

### 3.3.3.4. Cara Pengambilan Sampel

Pelaksanaan penelitian menggunakan hewan coba tikus yaitu 32 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dibagi menjadi 2 kelompok, yang masing-masing terdiri dari 16 tikus dengan kelompok obesitas dan normal. Metode yang digunakan adalah metode *simple random*

*sampling* yaitu dengan cara undian, setiap tikus yang sudah memenuhi kriteria inklusi diberi nomer secara urut, kemudian dilakukan undian. Penggunaan metode ini dimaksudkan agar setiap tikus tersebut mempunyai kesempatan sama untuk menjadi sampel dalam penelitian.

### 3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

#### 3.4.1. Instrumen Penelitian

1. Kandang tikus individual
2. Timbangan hewan percobaan OHAUS
3. *Standard dilutions* dan *well/microplate*
4. *Mikropipet* 1-10 ml
5. *Mikropipet* 10-100 ml
6. *Mikropipet* 100-1000 ml
7. Tabung *sentrifuse*
8. *ELISA Reader*
9. *EDTA vac-tube*
10. Inkubator
11. *Freezer*
12. *Chamber reagen*
13. Buangan
14. *Tubes / tabung eppendorf 1,5 ml*
15. Rak tip
16. Tissue

17. *Tip blue, yellow, white*

### 3.4.2. Bahan Penelitian

1. Tikus putih jantan galurwistar yang memenuhi kriteria inklusi
2. Pakan tikus standar dengan merek Comfeed PAR S dengan komposisi air 12 %, protein kasar 12-14 %, lemak kasar Min.4%, serat kasar Max. 7,5%, kalsium 0,9 - 1,2%, fosfor 0,6 - 0,8%
3. Pakan diet tinggi lemak diberikan pakan standar Comfeed PAR S 300 gr ditambah mentega 100 g, kuning telur 20 g dan lemak sapi 10 g serta diberikan air minum
4. IL-6 ELISA kit (BZ-08185310-EB)
5. Aquabidest
6. Serum

### 3.5. Cara Penelitian

#### 3.5.1. Persiapan Penelitian

Hewan percobaan dipelihara pada kandang berkelompok yang terdiri 5-6 tikus dalam satu kandang, dibersihkan setiap hari, temperatur suhu 28-32 °C dan ada sirkulasi udara serta cahaya yang cukup. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang sudah dikelompokkan secara acak menjadi 2 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 16 ekor. Kedua kelompok tikus normal diberikan pakan standar selama 1 minggu, sebelum diberikan pakan tinggi lemak pada hari ke satu

setelah aklimatisasi berat badan tikus ditimbang dan dilakukan seminggu sekali untuk mengetahui perkembangan berat badan tikus.

### 3.5.2. Pelaksanaan Penelitian 1

1. Menimbang berat badan tikus dengan timbangan OHAUS dan menempatkan tikus dalam kandang kelompok sesuai dengan kelompok serta menandainya
2. Memberikan perlakuan sesuai alur penelitian, yaitu dengan cara memberikan makanan pada setiap kandang :
  - a. Kelompok I : tikus normal yang sudah diaklimatisasi selama 1 minggu lalu diberi pakan standar selama 8 minggu. Pakan diberikan sebanyak 5 gram per tikus per hari, dibagi dengan 2 kali makan yaitu pagi dan sore hari. Pakan diberikan dengan cara disonde.
  - b. Kelompok II : tikus normal yang sudah diaklimatisasi selama 1 minggu lalu diberikan pakan tinggi lemak (TL) selama 8 minggu. Pakan diberikan sebanyak 6 gram per tikus, dibagi dengan 2 kali makan yaitu pagi dan sore hari. Pakan di berikan dengan cara disonde.
3. Setelah 8 minggu perlakuan dilakukan pengambilan sampel melalui darah tikus untuk diperiksa kadar IL-6 untuk dibandingkan pada tikus normal dengan tikus obesitas.

### 3.5.3. Pengambilan Darah

1. Mempersiapkan mikrohematokrit dan EDTA *vac-tube*.
2. Menusukkan mikrohematokrit pada sinus orbitalis.
3. Memutar mikrohematokrit perlahan-lahan sampai darah keluar.
4. Menampung darah yang keluar pada EDTA *vac-tube* yang sudah di beri label.
5. Melepaskan mikrohematokrit dan dibersihkan.

### 3.5.4. Pelaksanaan Penelitian 2

1. Menggunakan tikus dalam kandang sesuai dengan kelompok yang sudah diberi perlakuan pada pelaksanaan penelitian.
2. Memberi perlakuan sesuai alur penelitian, yaitu :
  - a. Kelompok I : tikus normal yang sudah di berikan pakan standar selama 8 lalu diberikan pakan tinggi lemak (TL) selama 4 minggu. Pakan diberikan sebanyak 6 gram per tikus, dibagi dengan 2 kali makan yaitu pagi dan sore hari. Pemberian makan dengan cara disonde.
  - b. Kelompok II : : tikus yang sudah mengalami obesitas karena di beri pakan tinggi lemak selama 8 minggu tetap di berikan tinggi lemak tanpa adanya perubahan, pemberian pakan selama 4 minggu.
3. Setelah 4 minggu perlakuan akan dilakukan pengambilan sampel melalui darah tikus untuk diperiksa kadar IL-6 untuk

membandingkan kadar IL-6 pada tikus normal menjadi obesitas dan tikus yang sudah obesitas.

### 3.5.5. Pengukuran Kadar Interleukin-6 (IL-6)

Perinsip kerja tes ELISA untuk menentukan tingkat IL-6 dengan menggunakan IL-6 ELISA kit catalog BZ-08185310-EB brand Bioenzy dan kuantifikasi menggunakan ELISA Reader.



### 3.6. Cara Kerja

Siapkan reagen, sampel dan larutan standart. Usahakan sudah berada dalam suhu ruang +/- 30 menit sebelum larutan dipakai.



Ambil plate dan strip yang berisi sumuran sesuai kebutuhan, untuk strip yang tidak dipakai bisa disimpan dalam pendingin dengan suhu 2-8°C.



Masukkan 50µl larutan standart ke dalam sumuran. catatan : tidak perlu menambahkan antibody, karena didalam larutan standart sudah mengandung antibody



Masukkan 40µl sampel kedalam sumuran dan tambahkan 10µl anti- IL 6 antibody ke dalam sumuran yang berisi sampel, setelah itu tambahkan 50µl streptavidin-HRP kedalam sumuran standart dan sampel (kecuali kontrol negatif), campur larutan dan tutup dengan sealer lalu inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1jam



Buka sealer dan cuci sumuran selama 5x dengan buffer cuci sebanyak 0,35 ml setiap sumuran sampai sumuran penuh, dan serap menggunakan tisu hingga kering.



Masukkan 50µl larutan substrat A dan 50µl larutan substrat B kedalam semua sumuran, tutup plate menggunakan sealer, lalu inkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°C dengan kondisi tertutup (gelap) selama 10 menit (hingga larutan berubah dari bening menjadi biru).



Keluarkan plate berisi sumuran tambahkan 50 µl larutan stop kedalam sumuran, larutan akan berubah dari warna biru menjadi kuning. selanjutnya masukkan plate ke dalam elisa reader untuk dibaca absorbansi warnanya dengan panjang gelombang baca 450 nm (hasil valid jika pembacaan dilakukan dibawah 10 menit)

**Gambar 3.1.** Cara kerja pengukuran kadar Interleukin-6

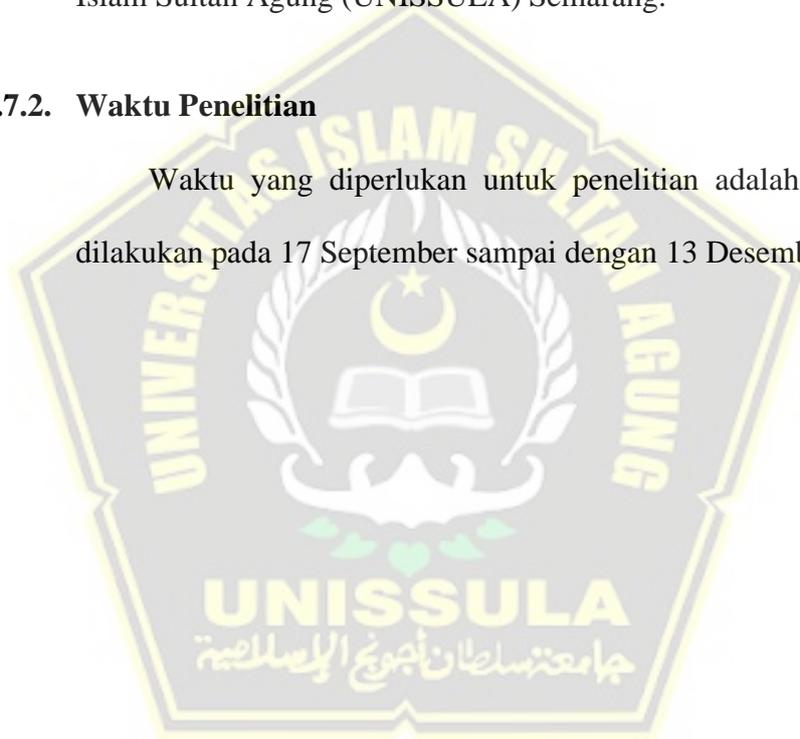
### **3.7. Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.7.1. Tempat Penelitian**

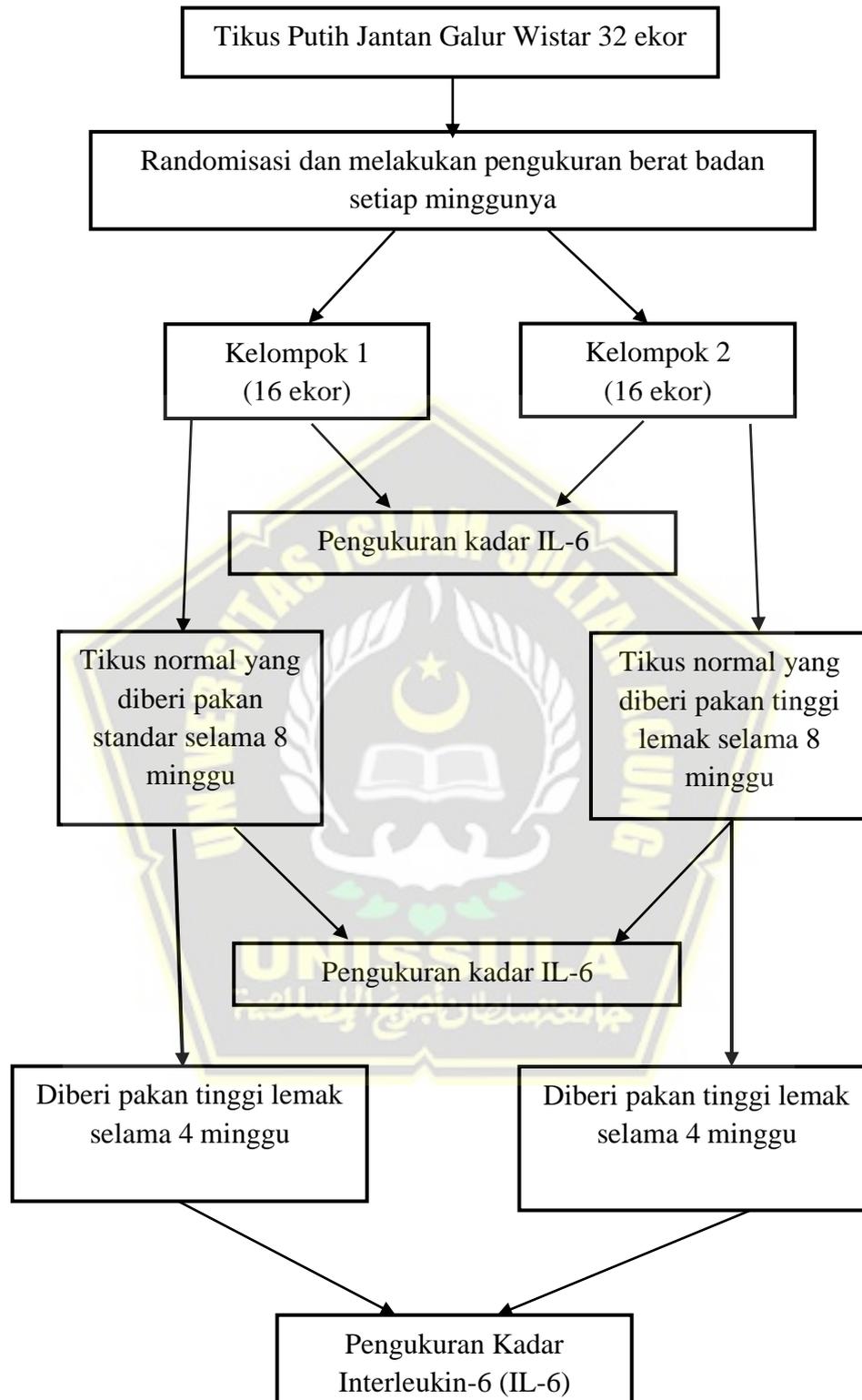
Pemeliharaan dan penelitian pada hewan coba yaitu tikus putih jantan galur wistar dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang. Darah diambil melalui darah sinus orbitalis dan pemeriksaan sampel dilakukan di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang.

#### **3.7.2. Waktu Penelitian**

Waktu yang diperlukan untuk penelitian adalah 12 minggu, dilakukan pada 17 September sampai dengan 13 Desember 2022.



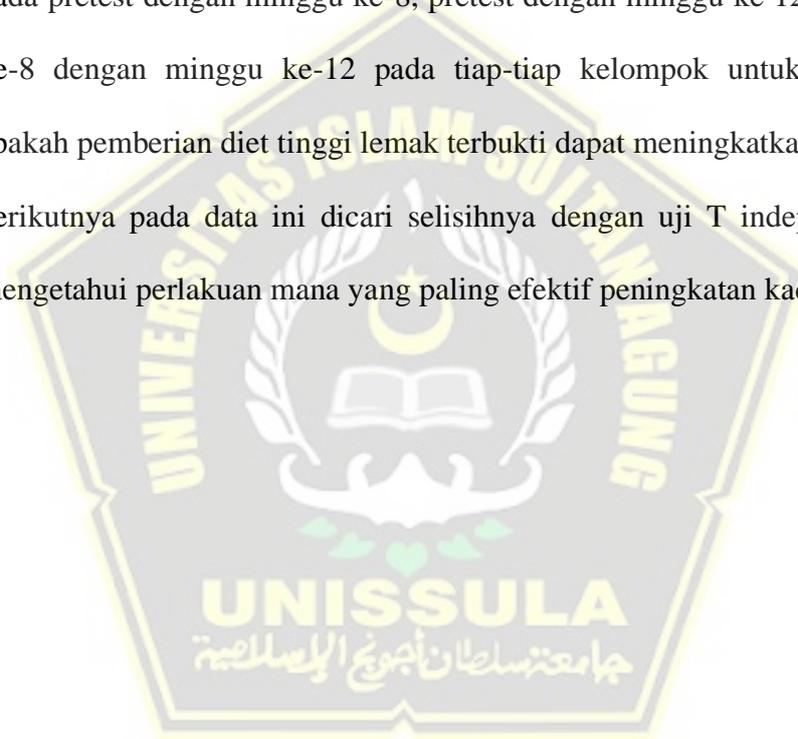
### 3.8. Alur Penelitian



**Gambar 3.2.** Alur Penelitian

### 3.9. Analisis Hasil

Data yang diperoleh adalah kadar IL-6. Setelah data terkumpul selanjutnya diolah dengan menggunakan SPSS. Normalitas data diuji menggunakan uji *Shaphiro-wilk* dan diuji homogenitas menggunakan uji *Levene Test*. Uji normalitas dan homogenitas didapatkan  $P > 0,05$ , jika signifikan hanya terjadi pada pretest-posttest dilakukan konfirmasi menggunakan uji beda data berat badan, kemudian dilakukan uji T dependen pada pretest dengan minggu ke-8, pretest dengan minggu ke 12 dan minggu ke-8 dengan minggu ke-12 pada tiap-tiap kelompok untuk mengetahui apakah pemberian diet tinggi lemak terbukti dapat meningkatkan kadar IL-6. berikutnya pada data ini dicari selisihnya dengan uji T independet untuk mengetahui perlakuan mana yang paling efektif peningkatan kadar IL-6.



## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Penelitian ini menyertakan 32 tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang dibagi menjadi 2 kelompok (kontrol dan perlakuan). Kelompok kontrol mewakili kondisi tikus normal, sedangkan kelompok perlakuan mewakili kondisi tikus obesitas. Penelitian dilakukan untuk mengetahui kadar IL-6 pada obesitas dibandingkan dengan kondisi normal. Kondisi obesitas dibuat dengan cara memberikan diet tinggi lemak (TL) pada kelompok perlakuan selama 8 minggu. Kadar IL-6 diukur tiga kali, awal sebelum penelitian (*pretest*) yaitu sesudah masa adaptasi, akhir minggu ke-8, dan akhir minggu ke-12 setelah tikus di kelompok kontrol maupun perlakuan diberi diet TL selama empat minggu. Namun pada periode 4 minggu terakhir penelitian terdapat masing-masing 4 ekor tikus yang mati baik di kelompok kontrol dan perlakuan, sehingga tinggal 12 data yang bisa dianalisis. Tikus mati diduga karena abnormalitas fungsi dan struktur dari beberapa organ akibat dari pemberian tinggi lemak.

Setiap minggu dilakukan penimbangan untuk mengetahui penambahan berat badan tikus yang akan mengarah ke obesitas. Hasil pengukuran berat badan tiap minggu sebagai terlihat pada tabel 4.1

**Tabel 4.1. Hasil pengukuran berat badan (gram) tikus tiap minggu**

Minggu	Nilai Minimal		Nilai Maksimal		SD	
	Perlakuan	Kontrol	perlakuan	Kontrol	Perlakuan	Kontrol
Minggu 0	180	180	210	210	10,64	8,73
Minggu 8	280	190	330	210	14,08	4,73
Minggu 12	250	230	360	280	31,71	16,21

Berat badan minimal pada tikus minggu ke- 0 pada kelompok kontrol dan perlakuan sebesar 180 gram dan 180 gram. Berat badan maksimal pada minggu ke- 0 pada kelompok kontrol dan perlakuan sebesar 210gram dan 210gram, lalu pada berat badan minimal pada tikus minggu ke- 8 pada kelompok kontrol dan perlakuan sebesar 190gram dan 280gram, dapat dilihat pada tabel lebih tinggi pada kelompok perlakuan daripada kelompok kontrol. Berat badan maksimal pada minggu ke- 8 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sebesar 210 gram dan 330 gram, hal ini dapat lihat bahwa pada kelompok perlakuan telah didapatkan lebih dari 250 gram. Berat badan minimal pada tikus minggu ke- 12 pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sebesar 230 gram dan 250 gram, sedangkan berat badan maksimalnya pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan sebesar 280 gram dan 360 gram.

Penelitian diukur berat badan tikus untuk mengonfirmasi efek pemberian diet TL pada obesitas dengan cara menganalisis perbedaan berat badan tikus dalam beberapa waktu pengukuran antara kelompok kontrol dan perlakuan. Analisis perbandingan berat badan dilakukan dengan uji t tidak berpasangan. Hasil uji perbandingan data berat badan ditunjukkan pada Tabel 4.2 berikut:

**Tabel 4.2. Hasil Uji T Tidak Berpasangan Perbedaan Berat Badan antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan dalam Beberapa Waktu Pengukuran**

Waktu pengukuran	Berat Badan Tikus (gr)		Selisih (IK95%)	Nilai p*
	Kontrol (n = 12) Rata-rata (SD)	Perlakuan (n = 12) Rata-rata (SD)		
Pretest	197,5 (8,66)	195,0 (10,87)	2,5 (-5,8 – 10,82)	0,540
Minggu 8	206,7 (8,88)	297,5 (11,38)	-67,5 (-79,2 – -55,77)	0,000
Minggu 12	254,2 (16,21)	296,7 (31,72)	-42,5 (-63,8 – -21,17)	0,000

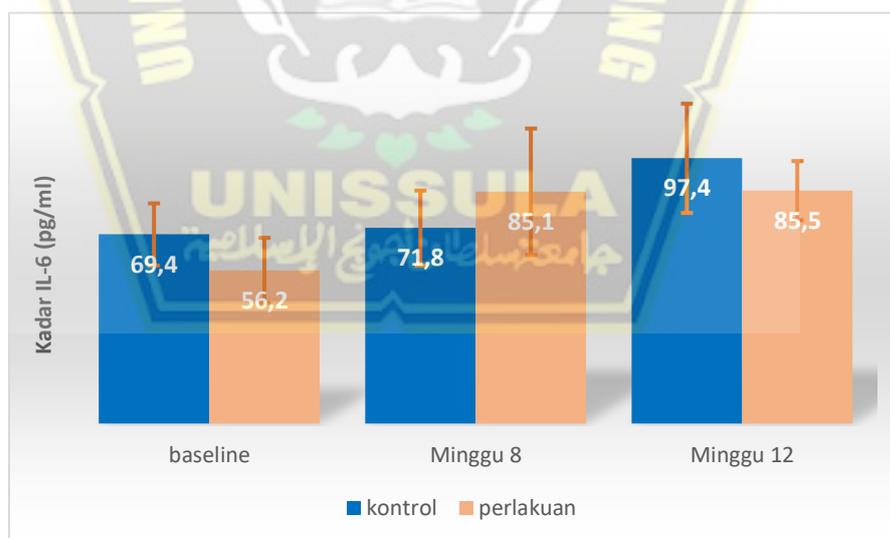
Pengukuran berat badan pretest, uji T tidak berpasangan menghasilkan nilai p sebesar 0,540 ( $p > 0,05$ ), yang artinya berat badan pretest di kelompok kontrol dan perlakuan relatif serupa. Sedangkan pada pengukuran berat badan minggu ke-8, uji t tidak berpasangan menghasilkan nilai p sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), yang artinya pemberian diet TL selama 8 minggu berpengaruh meningkatkan berat badan. Pemberian diet TL selama 8 minggu dengan demikian berhasil membuat tikus model obesitas. Pengukuran berat badan minggu ke-12, uji T tidak berpasangan juga menghasilkan nilai p sebesar 0,000 ( $p < 0,05$ ), berat badan tikus kelompok perlakuan lebih tinggi daripada tikus kelompok kontrol yang artinya lama pemberian diet TL berpengaruh terhadap peningkatan berat badan.

Hasil tersebut juga dikonfirmasi dengan nilai interval kepercayaan (IK95%) dari selisih rata-rata berat badan pretest melewati angka nol, sedangkan pada pengukuran berat badan minggu ke-8 dan minggu ke-12 tidak melewati angka nol, sehingga dinyatakan tidak terdapat perbedaan berat badan antarkelompok pada pengukuran pretest, namun terdapat perbedaan berat badan antarkelompok pada minggu ke-8 dan minggu ke-12.

Pengukuran pretest didapatkan perbedaan kadar IL-6 antara kontrol dan perlakuan, sama-sama di kondisi baseline tetapi outcome yang didapat tidak sebanding. Namun dari hasil pengukuran berat badan didapatkan kondisi baseline yang homogen, karena data berat badan adalah serupa.

Sebelum dilakukannya penelitian ini, tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan terlebih dahulu dilakukan pengambilan darah pada sinus orbitalis menggunakan mikrohematokrit tube lalu disimpan di freezer dengan suhu kulkas 2-10°C, setelah itu dilakukan pengukuran kadar IL-6 dengan ELISA. Darah kemudian diambil kembali pada minggu ke- 8 dan minggu ke- 12 kemudian dibandingkan dan didapatkan hasil sebagai berikut:

Gambaran kadar IL-6 pada tiap kelompok dan beberapa periode pengukuran dapat dilihat pada Gambar 4.1.



**Gambar 4.1.** Grafik Batang Rata-rata Kadar IL-6 Menurut Periode Pengukuran pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan

**Tabel 4.3. Rata-rata Kadar IL-6**

	Kelompok	N	Rata-rata	SD
Il-6 baseline	Kontrol	12	69,41	11,39
	Perlakuan	12	56,18	11,98
Il-6 minggu 8	Kontrol	12	71,79	13,73
	Perlakuan	12	85,07	23,21
Il-6 minggu 12	Kontrol	12	97,36	20,05
	Perlakuan	12	85,49	10,84

Tabel 4.3 menunjukkan bahwa kadar IL-6 pretest pada kelompok kontrol tampak lebih tinggi daripada di kelompok perlakuan, demikian juga pada kadar IL-6 setelah minggu ke-12, sedangkan setelah minggu ke-8 kadar IL-6 di kelompok kontrol tampak lebih rendah daripada kelompok perlakuan. Rata-rata kadar IL-6 jika di amati antar waktu pengukuran tampak bahwa baik pada kelompok kontrol maupun perlakuan cenderung meningkat.

Data kadar IL-6 dalam beberapa kali pengukuran antara kedua kelompok tersebut dilakukan uji normalitas sebaran data dengan uji *Shapiro Wilk* terlebih dahulu, untuk menentukan jenis uji mana yang akan digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kadar IL-6 antara kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil uji *Shapiro Wilk* ditunjukkan pada Tabel 4.4.

**Tabel 4.4. Hasil Analisis Normalitas Sebaran Data Kadar IL-6**

No	Kelompok	Kadar IL-6*		
		Pretest	Minggu 8	Minggu 12
1	Kontrol	0,451	0,739	0,420
2	Perlakuan	0,998	0,221	0,520
	<i>Levene test**</i>	0,943	0,349	0,268

\* = nilai p uji *shapiro wilk*, \*\* = nilai p uji *Levene*

Hasil analisis normalitas sebaran data kadar IL-6 pada tiap periode pengukuran antara kelompok kontrol dan normal semua normal, ditunjukkan dengan nilai p lebih besar dari 0,05. Varian data kadar IL-6

antar dua kelompok yang dianalisis dengan uji *Levene* pada tiap periode pengukuran juga homogen ( $p > 0,05$ ). Syarat untuk uji parametrik terpenuhi, sehingga pada penelitian ini untuk mengetahui perbedaan selisih IL-6 antar kelompok kontrol dan perlakuan pada tiap lama waktu perlakuan dilakukan uji T dua kelompok tidak berpasangan. Uji ini digunakan karena tujuan penelitian ini adalah mengetahui perbedaan kadar IL-6 antara kelompok normal dan kelompok kontrol pada tiap-tiap waktu perlakuan. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5. Perbedaan Rerata Kadar IL-6 Antara Kelompok Kontrol dan perlakuan pada Tiap Periode**

Waktu pengukuran	Kadar IL-6 (pg/ml)		Selisih (IK95%)	Nilai p*
	Kontrol (n = 12) Rata-rata (SD)	Perlakuan (n = 12) Rata-rata (SD)		
Pretest	69,4 ± 11,40	56,2 ± 11,99	13,2 (3,3 – 23,1)	0,011
Minggu 8	71,8 ± 13,73	85,1 ± 23,22	-13,3 (-29,4 – 2,9)	0,102
Minggu 12	97,4 ± 20,06	85,5 ± 10,85	11,9 (-1,8 – 25,5)	0,085

Tabel 4.5 didapatkan hasil bahwa kadar IL-6 pretes kelompok kontrol dan perlakuan berbeda signifikan dimana kadar IL-6 pretest lebih tinggi daripada kadar IL-6 kelompok perlakuan dengan selisih sebesar 13,2 pg/ml ( $p = 0,011$ ). Nilai IK95% dari selisih kadar IL-6 antara kelompok kontrol dan perlakuan pada tahap pretest ikut mempertegas bahwa perbedaan tersebut signifikan karena nilai IK95% tidak melewati angka 0. Sedangkan perbedaan kadar IL-6 akhir minggu ke-8 dan ke-12 antara kelompok kontrol dan perlakuan tidak signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal ini juga ditunjukkan dengan perolehan nilai IK95% yang melewati angka 0. Untuk mengetahui apakah

pemberian diet TL terbukti dapat mempengaruhi kadar IL-6 dilakukan pengujian antar waktu pengukuran pada tiap-tiap kelompok. Pengujian dilakukan dengan uji t berpasangan, yang dapat dilihat pada Tabel 4.6 berikut:

**Tabel 4.6. Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Pretest dan Minggu ke-8 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan**

No	Kelompok	Kadar IL-6 (Mean $\pm$ SD)		<i>p-value</i>
		Pretest	Minggu 8	
1	Kontrol	69,4 $\pm$ 11,39	71,8 $\pm$ 13,73	0,627
2	Perlakuan	56,2 $\pm$ 11,99	85,1 $\pm$ 23,22	0,003

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, kadar IL-6 pretest tidak berbeda signifikan dengan kadar IL-6 di akhir minggu ke-8 ( $p=0,627$ ), sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan dimana kadar IL-6 akhir minggu ke-8 secara signifikan lebih tinggi daripada kadar IL-6 pretest ( $p = 0,003$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian diet normal selama 8 minggu tidak berpengaruh pada kadar IL-6, tetapi pemberian diet TL selama 8 minggu berpengaruh pada kadar IL-6.

Berikutnya adalah menganalisis perbandingan kadar IL-6 pretest dan minggu ke-12 untuk mengetahui pengaruh pemberian diet TL selama 12 minggu pada kelompok perlakuan dan pemberian diet TL selama 4 minggu pada kelompok normal terhadap kadar IL-6. Hasil perbandingan ditunjukkan pada Tabel 4.7.

**Tabel 4.7. Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Pretest dan Minggu ke-12 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan**

No	Kelompok	Kadar IL-6 (Mean $\pm$ SD)		<i>p-value</i>
		Pretest	Minggu 12	
1	Kontrol	69,4 $\pm$ 11,39	97,4 $\pm$ 20,06	0,002
2	Perlakuan	56,2 $\pm$ 11,99	85,5 $\pm$ 10,85	0,000

Tabel 4.7 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol, kadar IL-6 pretest berbeda signifikan dengan kadar IL-6 di akhir minggu ke-12 ( $p=0,002$ ), pada kelompok perlakuan juga demikian terdapat perbedaan kadar IL-6 yang signifikan antara pretest dengan akhir minggu ke-12 ( $p = 0,000$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian diet TL selama 4 minggu pada kelompok kontrol ataupun selama 12 minggu pada kelompok perlakuan masing-masing berpengaruh terhadap kadar IL-6. Pengaruh yang ditunjukkan yaitu meningkatkan kadar IL-6.

Perbandingan berikutnya adalah kadar IL-6 minggu ke-8 dengan minggu ke-12 pada tiap kelompok, dengan hasil yang dapat dilihat pada Tabel 4.8.

**Tabel 4.8. Hasil Analisis Perbandingan Kadar IL-6 Minggu ke-8 dan ke-12 pada Kelompok Kontrol dan Perlakuan**

No	Kelompok	Kadar IL-6 (Mean $\pm$ SD)		<i>p-value</i>
		Minggu 8	Minggu 12	
1	Kontrol	71,8 $\pm$ 13,73	97,4 $\pm$ 20,06	0,010
2	Perlakuan	85,1 $\pm$ 23,22	85,5 $\pm$ 10,85	0,962

Perbandingan kadar IL-6 antara minggu ke-8 dengan minggu ke-12 pada kelompok kontrol menunjukkan perbedaan signifikan ( $p=0,010$ ), tetapi pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan perbedaan signifikan ( $p=0,962$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian diet TL selama 4 minggu TL pada tikus tidak obesitas berpengaruh pada kadar IL-6, tetapi pemberian diet TL selama 4 minggu pada tikus obesitas tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6.

Ketiga hasil uji *t* berpasangan yang sama-sama menunjukkan perbedaan signifikan pada tiap kelompok adalah perbandingan kadar IL-6

pretest dengan minggu ke-12, sehingga untuk mengetahui kelompok mana yang paling berpengaruh terhadap peningkatan kadar IL-6 dilakukan perbandingan selisih kadar IL-6 minggu ke-12 dengan pretest menggunakan uji t tidak berpasangan dengan hasil yang ditunjukkan pada tabel 4.9

**Tabel 4.9. Hasil Analisis Perbandingan Selisih Kadar IL-6 Minggu ke-12 dan Pretest antara Kelompok Kontrol dan Perlakuan**

No	Kelompok	n	Mean ± SD	Normality test*	Levene test*	Uji T tidak berpasangan
1	Kontrol	12	27,9 ± 24,28	0,971	0,143	0,878
2	Perlakuan	12	29,3 ± 18,25	0,087		

\* = p-value

Berdasarkan Tabel 4.9 dapat diketahui bahwa peningkatan kadar IL-6 di kelompok kontrol adalah sebesar  $27,9 \pm 24,28$  pg/ml, sedangkan pada kelompok perlakuan adalah sebesar  $29,3 \pm 18,25$  pg/ml. Berdasarkan hasil uji Shapiro Wilk didapatkan sebaran data normal ( $p > 0,05$ ) dan juga dari hasil uji levene diperoleh varian data homogen ( $p > 0,05$ ). Uji perbedaan dengan uji T tidak berpasangan didapatkan nilai p sebesar 0,878 sehingga dinyatakan bahwa pemberian diet normal selama 8 minggu ditambah dengan pemberian diet TL selama 4 minggu memiliki efek peningkatan kadar IL-6 yang serupa dengan pemberian diet TL selama 12 minggu.

#### 4.2. Pembahasan

Pengukuran berat badan pada tikus untuk menentukan obesitas dapat diperhitungkan dengan menggunakan Kriteria Lee :

$$\text{Indeks obesitas Lee} = \frac{\sqrt{\text{berat badan (gram)} \times 10}}{\text{panjang nasoanal (mm)}}$$

Tikus dapat dikatakan obesitas jika indeks  $> 0,3$ , dengan perhitungan indeks obesitas berat badan tikus dewasa dinyatakan sebagai obesitas adalah lebih dari 250 gram. Hasil pengukuran berat badan pada kelompok perlakuan di minggu ke- 8 telah mengalami obesitas, dapat dikatakan bahwa penelitian ini sebanding dengan penelitian sebelumnya (Chandra, 2012)

Penelitian yang dilakukan oleh Asni pada tahun 2021, didapatkan korelasi yang signifikan antara obesitas dengan IL-6, hal ini sama dengan hasil IL-6 meningkat pada kelompok perlakuan pada minggu ke-8. Peningkatan ini diduga IL-6 bertindak sebagai stimulator poten produksi oksigen reaktif serta nitrogen oleh makrofag (Tina *et al.*, 2021)

Kadar IL-6 di kelompok kontrol secara bermakna lebih tinggi daripada di kelompok perlakuan. Kadar IL-6 yang sudah tinggi di tahap *baseline* pada kelompok kontrol menyebabkan perbandingan kadar IL-6 antara kelompok kontrol dan perlakuan di periode pengukuran berikutnya menjadi tidak signifikan dan kurang dapat digeneralisir hasilnya. Perbedaan kadar IL-6 di tahap *baseline* pada kelompok kontrol dapat disebabkan kemungkinan tikus mengalami stres. IL-6 akan disekresikan oleh sitokin yang merupakan induktor paling potensial dari respon fase akut (Fitri, 2014). Selain dari adanya faktor stres diduga dapat terjadi dikarenakan *human error*. *Human error* disini dapat disebabkan karena kesalahan dalam mengeksekusi, berbagai jenis kesalahan dapat terjadi dalam pengoperasian peralatan, kesalahan dalam perbaikan peralatan dan kalibrasi (Correa and Montero, 2013). Guna mengonfirmasi fenomena tersebut dilanjutkan

dengan pengujian kadar IL-6 secara berpasangan pada masing-masing kelompok, serta perbandingan data berat badan untuk mengkonfirmasi apakah pemberian diet TL berhasil membuat model obesitas.

Berdasarkan hasil perbandingan berat badan pretest, kedua kelompok menunjukkan rata-rata berat badan yang sebanding ( $p > 0,05$ ). Setelah minggu ke-8 dan minggu ke-12 perbandingan berat badan tersebut signifikan. Kelompok perlakuan memiliki rerata berat badan lebih tinggi daripada di kelompok kontrol. Pemberian diet TL selama 8 minggu, dan tambahan pemberian diet TL selama 4 minggu terbukti dapat menghasilkan model tikus obesitas.

Tikus kelompok normal dan kontrol pada awal penelitian, memiliki rerata berat badan sekitar 197 gr, berikutnya setelah minggu 8 perlakuan tikus kontrol tetap menunjukkan berat badan normal ( $< 250$  gr), tetapi pada kelompok perlakuan berat badannya sudah melampaui berat badan normal karena mencapai 297,5 gr. Keberhasilan pemberian TL dalam membuat model obesitas juga diikuti dengan keberhasilannya dalam meningkatkan kadar IL-6. Hasil ini didukung dengan penelitian sebelumnya bahwa pemberian diet TL selama 8 minggu dapat menghasilkan kondisi obesitas, yang salah satunya ditandai dengan tingginya mediator inflamasi yaitu IL-6 (Moulia, Sulchan and Nissa, 2017).

Peran diet TL dalam meningkatkan kadar IL-6 terjadi melalui mekanisme peningkatan jumlah sel adiposit dan peningkatan jaringan adiposa oleh diet tinggi lemak (Lee, Shin and Choue, 2010; Setiawan and

Indra, 2014). Sel adiposit adalah salah satu penghasil IL-6. Sepertiga jumlah IL-6 dalam sirkulasi darah diproduksi oleh sel adiposit (Setiawan and Indra, 2014), sementara itu jaringan adiposa adalah sumber adipokin dan sitokin-sitokin proinflamasi (Lee, Shin and Choue, 2010). Peningkatan indeks glikemik akan menstimuli peningkatan sekresi insulin (insulinemik). Respon glikemik serta insulinemik yang tinggi mengakibatkan tingginya nafsu makan serta metabolisme energi sehingga berdampak pada peningkatan berat badan dan lemak tubuh termasuk lemak visceral yang dapat meningkatkan produksi IL-6 (Pereira, Costa and Alfenas, 2015).

Peningkatan kadar IL-6 akibat pemberian TL terbukti dimediasi oleh kondisi obesitas. Jaringan adiposa putih dan retikulum endoplasma dalam adiposit melebar akibat stres mekanik. Adiposit mengalami kerusakan atau mati yang berikutnya menarik banyak polarisasi makrofag M1 yang memiliki struktur mirip seperti mahkota untuk mengelilinginya. Makrofag-makrofag tersebut melepaskan sitokin-sitokin inflamasi diantaranya IL-6, serta melepaskan inflamasi tingkat rendah lokal dan sistemik. Jaringan adiposa putih juga merekrut sel-sel imun (sel B dan sel T). Infiltrasi sel B menghambat sel-sel Treg yang selanjutnya juga berakibat pada inflamasi sistemik yang disertai dengan tingginya kadar IL-6 juga TNF- $\alpha$  (Kern *et al.*, 2019).

Pemberian TL selama 4 minggu pada kelompok kontrol menghasilkan peningkatan kadar IL-6 yang signifikan, namun tidak pada kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa peralihan dari pemberian diet

normal menjadi diet TL juga dapat meningkatkan IL-6. Hal tersebut terjadi karena diet TL mempengaruhi perubahan (disbiosis) mikrobiota usus dan mengganggu barrier usus (Wan *et al.*, 2019). Disbiosis mikrobiota usus berhubungan dengan penyimpangan respon imun yang seringkali diikuti dengan produksi sitokin inflamasi yang abnormal. Disbiosis mikrobiota usus terjadi akibat peningkatan lipopolisakarida (LPS) oleh pemberian diet TL. Kondisi obesitas telah menyebabkan barrier usus seperti epitel usus dan permukaan mukosa tidak dapat meminimalkan pergerakan LPS dari usus ke sirkulasi sistemik. Permeabilitas usus menjadi tidak teratur dan terjadi kebocoran, dan memberikan kesempatan bagi makrofag untuk berinfiltrasi dan berikut menghasilkan serta mengaktifasi sitokin inflamasi seperti IL-6 untuk menginisiasi inflamasi lokal. LPS juga mengikat reseptor TLR4 pada sistem imun sel dan mengaktifasi kaskade proinflamasi baik secara lokal di usus atau ke organ lain (Bander *et al.*, 2020).

Pemberian diet TL selama 4 minggu pada tikus yang sudah mengalami obesitas, tidak meningkatkan kadar IL-6. Hasil ini juga dikonfirmasi dengan rata-rata berat badan yang relatif sama antara berat badan badan minggu ke-8 dengan minggu ke-12. Terdapat kemungkinan bahwa tikus sudah jenuh dengan jenis pakan yang diberikan, sehingga obesitas tidak terus berlangsung atau kemungkinan tikus memiliki aktivitas fisik yang aktif sehingga peningkatan berat badan dapat dihambat. Menurut penelitian sebelumnya disebutkan bahwa kenaikan berat badan tikus akan

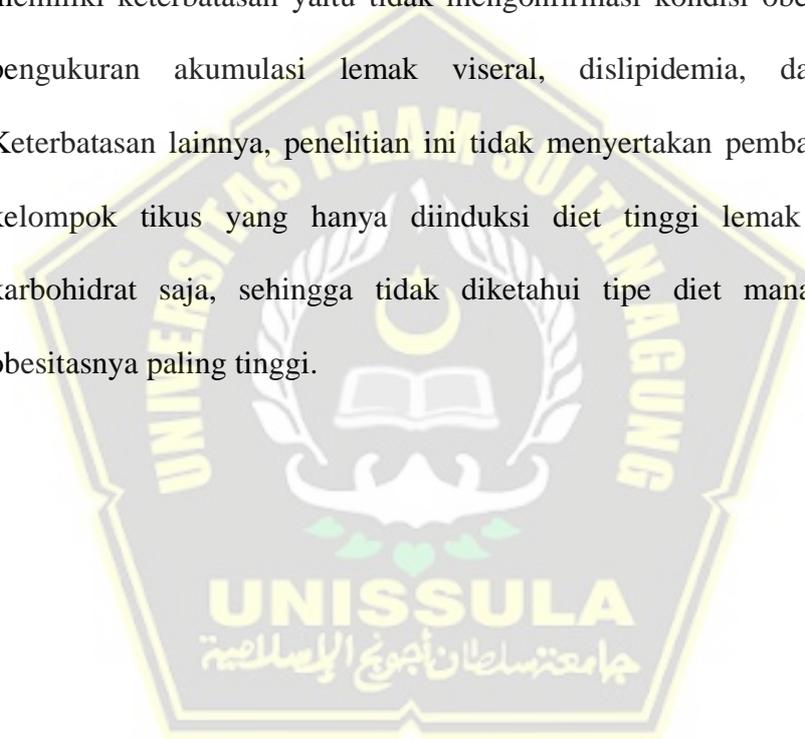
terus berlanjut ketika tetap diberikan pakan tinggi lemak, namun akan melambat ketika tikus melakukan aktivitas fisik (Zein et al., 2017).

Kemungkinan lain dari tidak terdapatnya perbedaan kadar IL-6 pada minggu ke-12 antara kelompok kontrol dan perlakuan adalah karena peningkatan inflamasi yang terjadi sudah berubah menjadi resistensi insulin pada sel lemak, sehingga menurunkan penghambatan lipolisis yang dimediasi oleh insulin dan meningkatkan pelepasan asam lemak bebas ke aliran darah. Asam lemak bebas berikutnya ditampung dan disimpan oleh organ lain yang berikutnya akan menginduksi metabolisme serta kelainan yang dapat memperburuk resistensi insulin perifer (Rodríguez-Correa *et al.*, 2020). Kondisi tersebut didukung dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian diet TL selama 12 minggu berdampak pada abnormalitas fisiologis dan struktur dari beberapa organ seperti hati, jantung, pankreas, ginjal, jaringan adiposa, paru-paru, empedu dan usus halus. Dampak tersebut terjadi karena pada tingkatan biokimia, metabolisme karbohidrat dan lemak meningkatkan kadar fruktosa, glukosa dan lipid yang bersirkulasi dalam darah dan masuk ke dalam jaringan sehingga mengganggu jalur metabolik (Hazarika *et al.*, 2016). Abnormalitas fungsi dan struktur dari beberapa organ akibat pemberian TL ini diduga yang menjadi sebab mengapa terdapat beberapa tikus yang mati selama pelaksanaan penelitian.

Hasil penelitian ini juga didukung dengan penelitian Birulina *et al.* (2021) bahwa tikus Wistar usia 6 minggu yang diberi diet TL kaya dengan lemak babi (17%), fruktosa (17%) dan minuman larutan fruktosa 20%

selama 12 minggu tidak hanya berdampak pada obesitas tapi juga pada sindrom metabolik yang selain terlihat dari peningkatan rasio jaringan adiposa dan berat badan, juga dari peningkatan tekanan darah, hiperglikemia, gangguan toleransi glukosa dan resistensi insulin (Birulina *et al.*, 2021).

Penelitian ini telah berhasil membuktikan hipotesis yang diajukan bahwa terdapat pengaruh obesitas terhadap kadar IL-6, namun penelitian ini memiliki keterbatasan yaitu tidak mengonfirmasi kondisi obesitas melalui pengukuran akumulasi lemak visceral, dislipidemia, dan lain-lain. Keterbatasan lainnya, penelitian ini tidak menyertakan pembandingan antara kelompok tikus yang hanya diinduksi diet tinggi lemak atau tinggi karbohidrat saja, sehingga tidak diketahui tipe diet mana yang efek obesitasnya paling tinggi.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

- 5.1.1. Obesitas berpengaruh terhadap kadar IL-6 pada hewan coba tikus putih jantan galur wistar.
- 5.1.2. Kadar IL-6 pada hewan coba tikus putih jantan galur wistar kondisi berat badan normal pada pengukuran pretest, akhir minggu ke-8 dan akhir minggu ke-12 masing-masing adalah 69,4 pg/ml; 71,8 pg/ml; dan 97,4 pg/ml.
- 5.1.3. Kadar IL-6 pada hewan coba tikus putih jantan galur wistar kondisi obesitas pada pengukuran pretest, akhir minggu ke-8 dan akhir minggu ke-12 masing-masing adalah 56,2 pg/ml; 85,1 pg/ml; dan 85,5 pg/ml.
- 5.1.4. Terdapat perbedaan selisih kadar IL-6 pada tikus putih jantan galur wistar kondisi berat badan normal lalu menjadi obesitas di minggu ke-12 lebih tinggi yaitu 97,4 pg/ml dibandingkan dengan hewan coba tikus putih jantan galur wistar yang telah mengalami obesitas lama yaitu 85,5 pg/ml.

#### 5.2. Saran

Sesuai dengan keterbatasan penelitian ini maka pada penelitian mendatang disarankan untuk:

- 5.2.1. Meneliti pengaruh pemberian diet TL terhadap peningkatan berat tubuh, akumulasi lemak viseral, dislipidemia, dan lain-lain.
- 5.2.2. Meneliti perbedaan pengaruh pemberian diet tinggi lemak, dan diet TL terhadap kadar IL-6.



## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Shukaili, A. *et al.* (2013) 'Analysis of Inflammatory Mediators in Type 2 Diabetes Patients', *International Journal of Endocrinology*, pp. 1–8. doi: 10.1155/2013/976810.
- Bander, Z. Al *et al.* (2020) 'The gut microbiota and inflammation: An overview', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(20), pp. 1–22. doi: 10.3390/ijerph17207618.
- Birulina, J. G. *et al.* (2021) 'High-fat, high-carbohydrate diet-induced experimental model of metabolic syndrome in rats', *Bulletin of Siberian Medicine*, 19(4), pp. 14–20. doi: 10.20538/1682-0363-2020-4-14-20.
- Cahyaningrum (2015) 'Leptin sebagai indikator obesitas, Sandubaya Mataram', *Jurnal Kesehatan Prima*, I(1), pp. 1364–1371.
- Chamarthi, B. *et al.* (2011) 'Inflammation and hypertension: The interplay of interleukin-6, dietary sodium, and the renin-angiotensin system in humans', *American Journal of Hypertension*, 24(10), pp. 1143–1148. doi: 10.1038/ajh.2011.113.
- Chandra, A. B. (2012) 'Alpha Lipoic Acid Tablets', (c), pp. 2011–2012.
- Coleman, J. F. (2010) *Robbins and Cotran's Pathologic Basis of Disease, 8th Edition*, *American Journal of Surgical Pathology*. doi: 10.1097/pas.0b013e3181bc5f0f.
- Correa, G. and Montero, A. V. (2013) 'Human Error', (2008), pp. 1–10.
- D Isaacson, J L Mueller, J. C. N. and S. S. (2006) 'Dietary and genetic obesity promote liver inflammation and tumorigenesis by enhancing IL-6 and TNF expression', *Bone*, 23(1), pp. 1–7. doi: 10.1016/j.cell.2009.12.052.Dietary.
- Djuardi, I. *et al.* (2020) 'Karya akhir', 1.
- Fitri, E. (2014) 'Respon Stres Pada Pasien Kritis', *Jurnal Keperawatan Sriwijaya*, 1(1), pp. 86–93.
- Frelut, M. L. and De Filippo, G. (2015) 'The Need For Drug Treatment Of Child And Adolescent Obesity', *The ECOG's eBook on Child and Adolescent Obesity*.
- Hariyanto A (2015) 'Jurnal Ilmu Keolahragaan ARENA', *Jurnal Ilmu Keolahragaan*, 7(1), pp. 1–169.

- Hazarika, A. *et al.* (2016) 'Pathophysiology of metabolic syndrome: The onset of natural recovery on withdrawal of a high-carbohydrate, high-fat diet', *Nutrition*, 32(10), pp. 1081–91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.03.005>.
- Kemenkes RI (2018) 'Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018', *Kementrian Kesehatan RI*, 53(9), pp. 1689–1699.
- 'Kementrian Kesehatan Republik Indonesia' (no date).
- Kern, L. *et al.* (2019) 'Obesity-induced TNF $\alpha$  and IL-6 signaling: The missing link between obesity and inflammation- driven liver and colorectal cancers', *Cancers*, 11(1), pp. 1–21. doi: 10.3390/cancers11010024.
- Kesehatan, K. (2020) '( RAK ) TAHUN 2020-2024'.
- Lee, I. S., Shin, G. and Choue, R. (2010) 'Shifts in diet from high fat to high carbohydrate improved levels of adipokines and pro-inflammatory cytokines in mice fed a high-fat diet', *Endocrine Journal*, 57(1), pp. 39–50. doi: 10.1507/endocrj.K09E-046.
- Lipid, P., Anak, P. and Isi, D. (2010) 'PENGARUH INTERVENSI DIET DAN OLAHRAGA TERHADAP INDEKS MASSA TUBUH, KESEGERAN JASMANI, hsCRP DAN PROFIL LIPID PADA ANAK OBESITAS THE EFFECTS OF DIET AND EXERCISE ON BODY MASS INDEX, PHYSICAL FITNESS, hsCRP AND LIPID PROFILE IN OBESE CHILDREN'.
- Mamun, M. A. Al *et al.* (2019) 'High carbohydrate high fat diet induced hepatic steatosis and dyslipidemia were ameliorated by psidium guajava leaf powder supplementation in rats', *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019. doi: 10.1155/2019/1897237.
- Moulia, M., Sulchan, M. and Nissa, C. (2017) 'Kadar pro inflamator High Sensitive C-Reactive Protein (HSCRp) pada remaja stunted obese di SMA Kota Semarang', *Journal of Nutrition College*, 6(2), p. 119. doi: 10.14710/jnc.v6i2.16901.
- Nesti, D. R. (2015) 'Morfologi, Morfometri dan Distribusi Sel Imunoreaktif Insulin dan Glukagon Pada Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas', *Repository Universitas Gajah Mada*, pp. 1–77. Available at: <https://repository.ugm.ac.id/135000/>.
- Nissa, C. and Madjid, I. J. (2016) 'Potensi glukomanan pada tepung porang sebagai agen anti-obesitas pada tikus dengan induksi diet tinggi lemak', *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 13(1), p. 1. doi: 10.22146/ijcn.22751.
- Pascasarjana, P. and Udayana, U. (2016) 'Interleukin – 6'.

- 'Peningkatan Kolesterol pada Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Akibat Diet Tinggi Lemak Jenuh.pdf' (no date).
- Pereira, E. V., Costa, J. de A. and Alfenas, R. de C. G. (2015) 'Effect of glycemic index on obesity control', *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 59(3), pp. 245–251. doi: 10.1590/2359-3997000000045.
- Rahmawati, A. (2014) 'Mekanisme Terjadinya Inflamasi Dan Stres Oksidatif Pada Obesitas', *el-Hayah*, 5(1), p. 1. doi: 10.18860/elha.v5i1.3034.
- Rini, S. (2012) 'Pengaruh pemberian diet tinggi lemak terhadap kadar trigliserida pada tikus', *Skripsi*, 66, p. 4. Available at: [https://www.fairportlibrary.org/images/files/RenovationProject/Concept\\_cost\\_estimate\\_accepted\\_031914.pdf](https://www.fairportlibrary.org/images/files/RenovationProject/Concept_cost_estimate_accepted_031914.pdf).
- Rocha, V. Z. and Folco, E. J. (2011) 'Inflammatory Concepts of Obesity', *International Journal of Inflammation*, 2011, pp. 1–14. doi: 10.4061/2011/529061.
- Rodríguez-Correa, E. *et al.* (2020) 'Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice?', *Nutrition and Diabetes*, 10(1). doi: 10.1038/s41387-020-0127-4.
- Setiawan, D. and Indra, M. R. (2014) 'Pengaruh Leptin terhadap Kadar Interleukin 6 Serum Tikus yang Diberi Pakan Tinggi Lemak', *Mutiara Medika*, 14(1), pp. 85–92.
- Soewoto, H. and Molekuler, B. (2009) 'Hormon-hormon yang berperan pada proses metabolisme'.
- Solang, A. D. *et al.* (2016) 'Perbedaan Kadar IL-6 dan C-Reactive Protein pada Anak Pascabedah Perut dengan Bedah Saraf', *Sari Pediatri*, 16(3), p. 157. doi: 10.14238/sp16.3.2014.157-60.
- Susantiningsih, T. (2015) 'Obesitas dan Stres Oksidatif Obesity and Oxidative Stress', *Jurnal Kesehatan Unila*, 5(9).
- Susantiningsih, T. and Mustofa, S. (2018) 'Ekspresi IL-6 dan TNF-  $\alpha$  Pada Obesitas IL-6 and TNF-  $\alpha$  Expression in Obesity', *JK Unila*, 2(2), pp. 174–180.
- Tina, A. R. *et al.* (2021) 'Analisis Hubungan Berbagai Indeks Obesitas dengan Interleukin-6 pada Subjek Obesitas dan Non Obesitas Sentral Kadar Association Between Obesity Indices and Interleukin-6 Levels in Subjects with Central and Non-Central Obesity', 3(2), pp. 104–113.
- Wan, Y. *et al.* (2019) 'Effects of dietary fat on gut microbiota and faecal metabolites, and their relationship with cardiometabolic risk factors: a 6-

month randomised controlled-feeding trial', *Gut*, 68(8), pp. 1417–1429.  
doi: 10.1136/gutjnl-2018-317609.

Wiryawan, K. G. (2006) 'Kajian Penambahan Ragi Tape pada Pakan terhadap Konsumsi, Pertambahan Bobot Badan, Rasio Konversi Pakan, dan Mortalitas Tikus (*Rattus norvegicus*)', *Media Peternakan*, 29(3), pp. 155–161.

