

PENGARUH DIET KETOGENIK MODIFIKASI ATKINS TERHADAP

KADAR VITAMIN D

(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley

Model Obesitas)

Skripsi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Muhammad Fairuz

30102000119

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2024

SKRIPSI

**PENGARUH DIET KETOGENIK MODIFIKASI ATKINS
TERHADAP KADAR VITAMIN D
Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur
Sprague Dawley Model Obesitas**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh :


Muhammad Fairuz

30102000119

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 15 Januari 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I


dr. Nurina Tyagita, M.Biomed

Anggota Tim Penguji


dr. Bagas Widiyanto, M.Biomed

Pembimbing II


Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si


dr. Atik Rahmawati, Sp.M

Semarang, 7 Februari 2024

Fakultas Kedokteran
Universitas Islam Sultan Agung
Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Muhammad Fairuz

NIM : 30102000119

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul :

PENGARUH DIET KETOGENIK MODIFIKASI ATKINS TERHADAP KADAR VITAMIN D

**(Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague Dawley Model
Obesitas)**

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

Semarang, 21 Oktober 2023

Yang menyatakan,



Muhammad Fairuz

PRAKATA

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbilalamin, puji syukur atas kehadiran Allah SWT yang selalu memberikan nikmat serta anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Pengaruh Diet Ketogenik Modifikasi Atkins Terhadap Kadar Vitamin D (Studi Eksperimental pada Tikus Putih Jantan Galur Srague Dawley Model Obesitas)”. Penelitian ini merupakan penelitian payungan dosen yang mendapatkan hibah pendanaan dari FK UNISSULA Tahun 2023.

Skripsi ini disusun sebagai persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang. terselesaikannya penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk melakukan penelitian ini.
2. dr. Nurina Tyagita, M. Biomed selaku dosen pembimbing pertama dan Ibu Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing kedua yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, wawasan, arahan, dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
3. dr. Bagas Widiyanto, M. Biomed selaku dosen penguji pertama dan dr. Atik Rahmawati, Sp.M selaku dosen penguji kedua yang telah

meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan bimbingan serta arahan dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak Yuli selaku staf laboratorium Pangan dan Gizi yang telah membantu dalam perlakuan hewan coba hingga skripsi ini dapat selesai.
5. Keluarga saya tercinta, Bapak dr. H. Dwi Musyafak, Ibu Dr. Hj Aida Nahar, S.E., M.Si., adek Zayla Syamas yang telah memberikan kasih sayang, doa, fasilitas, dan dukungan yang tiada henti selama penyusunan skripsi ini.
6. Sahabat kelompok bimbingan Anggarani, Nisrina Syifa, Zaura, Elfrida, dan Deva yang selalu mendukung dan bersama sama melakukan penelitian dan menyusun skripsi ini.
7. Sahabat kuliah Jong Genuk (Waudy, Ar-Rahma, Aisah, Nadila, Shoffa, Nadylla, Almadito, dan Fadli) dan Shinta Dwi Apriliana yang telah memberikan support dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Sahabat saya TXC (Arda, Aji, Haidar, Agung, Bram, Bintang, Rafidan) yang telah membantu mengembalikan semangat saya dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Sahabat Asisten Laboratorium Biologi (Gibran, Bram, Silvy, Jahe, Jihan, Apink, Rani) yang telah memberikan support dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Bapak/Ibu karyawan FK Unissula yang sudah membantu dalam proses administrasi dan pengambilan data.

Semoga Allah SWT berkenan membalas semua kebaikan serta bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini masih sangat terbatas dan jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan.

Sebagai akhir kata dari penulis, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, 17 Desember 2023

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	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 Vitamin D.....	6
2.1.1 Definisi Vitamin D.....	6
2.1.2 Metabolisme Vitamin D.....	9
2.1.3 Kadar Normal Vitamin D.....	11
2.1.4 Cara Pengukuran Vitamin D.....	11
2.1.5 Vitamin D dan Obesitas.....	11
2.2 Diet Ketogenik Modifikasi Atkins.....	12
2.3 Obesitas.....	15
2.3.1 Definisi.....	15
2.3.2. Pengukuran Obesitas.....	15
2.3.3. Patogenesis Obesitas.....	16
2.3.4. Patofisiologi Obesitas.....	18

2.3.5. Induksi Obesitas pada Hewan Coba	19
2.4. Tikus Putih Jantan Galur Spragus-Dawley	20
2.4.1. Jenis Kelamin	20
2.4.2. Usia	20
2.4.3. Indeks Lee.....	21
2.4.4 Konversi Hari Manusia dengan Tikus	21
2.5 Pengaruh Diet Ketogenik Modifikasi Atkins terhadap Kadar Vitamin D ..	22
2.6 Kerangka Teori.....	24
2.7 Kerangka Konsep	25
2.8 Hipotesis.....	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	26
3.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	27
3.2.1 Variabel Penelitian	27
3.2.2 Definisi Operasional	27
3.3 Subjek Uji	28
3.4 Instrumen dan Bahan	29
3.4.1 Instrumen Penelitian	29
3.4.2 Bahan Penelitian	30
3.5 Cara Penelitian	30
3.5.1 Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa	30
3.5.2 Diet Ketogenik Klasik	31
3.5.3 Diet Ketogenik Modifikasi Atkins	31
3.5.4 Prosedur Penelitian	32
3.5.5 Pemberian Perlakuan	33
3.5.6 Cara Pengambilan Darah	34
3.5.7 Cara Pemeriksaan Kadar Vitamin D	35
3.5.8 Cara Pengorbanan Hewan Coba	36
3.6 Alur Penelitian	37
3.7 Tempat dan Waktu Penelitian	38
3.7.1 Tempat Penelitian	38
3.7.2 Waktu Penelitian.....	38
3.8 Analisa Hasil	38
BAB IV	40

4.1 Hasil Penelitian	40
4.2 Pembahasan.....	45
BAB V.....	51
5.1 Kesimpulan	51
5.2 Saran.....	51
LAMPIRAN.....	58



DAFTAR SINGKATAN

DKK	: Diet Ketogenik Klasik
DKMA	: Diet Ketogenik Modifikasi Atkins
ELISA	: <i>Enzyme Immunosorbent Assay</i>
HDL	: <i>High-density lipoprotein</i>
IL	: Interleukin
IMT	: Indeks Massa Tubuh
LDL	: <i>Low-density lipoprotein</i>
PTH	: Hormon Paratiroid
UV B	: Ultraviolet B
VDR	: Reseptor Vitamin D
WHO	: <i>World Health Organization</i>
7-DHC	: 7-dehydrocholesterol



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pilihan Makanan Sumber Lemak Tak Jenuh pada Diet Ketogenik Modifikasi Atkins	14
Tabel 2.2 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Modifikasi Klasik untuk Tikus Berbobot 200 gram dalam 1 Hari	14
Tabel 2.3 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Atkins untuk Tikus Berbobot 200 gram dalam 1 Hari	15
Tabel 2.4 Klasifikasi IMT pada Orang Eropa Dewasa	16
Tabel 2.5 Klasifikasi <i>Overweight</i> & Obesitas berdasarkan BMI, Waist Circumference di Asia	16
Tabel 3.1 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Klasik untuk Tikus Berbobot 200 gram	31
Tabel 3.3 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Modifikasi Atkins	32
Tabel 4.1 Rerata Indeks Lee Seluruh Kelompok Setelah dilakukan Induksi	40
Tabel 4.2 Hasil Uji Statistik Rerata Kadar Vitamin D	44
Tabel 4.3 Hasil Uji Mann Whitney terhadap Kadar Vitamin D pada Keempat Kelompok	45



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Vitamin D.....	6
Gambar 2.2 Metabolisme Vitamin D.....	10
Gambar 2.3 Perbedaan Makronutrien Masing-masing Variasi Diet Ketogenik ...	13
Gambar 2.4 Kerangka Teori.....	24
Gambar 2.5 Kerangka Konsep.....	25
Gambar 3.1 Skema Penelitian	26
Gambar 4.1 Diagram Batang Perbedaan Rerata Indeks Lee Setelah Induksi Obesitas Dan Setelah Perlakuan.....	42
Gambar 4.2 Diagram Batang Rerata Kadar Vitamin D Pada Semua Kelompok..	43



INTISARI

Obesitas merupakan penyakit kompleks dengan tingkat prevalensi kasus yang terus meningkat. Orang obesitas memiliki vitamin D yang rendah. Diet ketogenik menjadi salah satu modalitas terapi obesitas. Diet ketogenik modifikasi Atkins (DKMA) memiliki komposisi lemak yang lebih rendah dibandingkan diet ketogenik klasik (DKK) sehingga berpotensi lebih signifikan dalam menurunkan berat badan. Penurunan berat badan yang lebih signifikan diharapkan dapat meningkatkan vitamin D yang lebih signifikan. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh DKMA terhadap kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley model obesitas.

Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post test only control group design* menggunakan tikus putih jantan galur Sprague Dawley dibagi 4 kelompok secara acak. Kelompok kontrol diberi pakan standar selama 50 hari. Kelompok obesitas, DKK, dan DKMA diberi pakan standar selama 7 hari, diet tinggi lemak dan fruktosa selama 14 hari, dan diet sesuai kelompok 28 hari. Sampel serum darah diambil pada hari ke-52 untuk pengukuran kadar vitamin D dengan menggunakan metode ELISA. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji non parametrik uji *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann-Whitney U* ($p < 0,05$).

Hasil rerata kadar vitamin D yaitu $131,20 \pm 4,05$ nmol/L (kontrol), $27,81 \pm 0,86$ nmol/L (obesitas), $94,36 \pm 1,49$ nmol/L (DKK), $120,85 \pm 2,40$ nmol/L (Atkins). Data rerata kadar vitamin D menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada keempat kelompok melalui uji *Kruskal Waillis* ($P < 0,05$) dan perbedaan yang bermakna antar kelompok melalui uji *post hoc Mann-Whitney U* ($P < 0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa DKMA berpengaruh terhadap kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley model obesitas.

Kata Kunci: Obesitas, Diet ketogenik klasik, Diet ketogenik modifikasi Atkins, kadar vitamin D

BAB I

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Vitamin D adalah hormon yang diperoleh dari makanan dan mampu diproduksi di kulit. Vitamin D berfungsi untuk meningkatkan produksi insulin, fungsi limfosit T dan B yang diaktifkan, mencegah penyakit radang usus, dan mempengaruhi kontraktilitas miokard (Maurya dan Aggarwal, 2017). Sebuah penelitian menyebutkan bahwa seseorang yang mengalami kekurangan vitamin D berhubungan erat dengan penderita obesitas (Jennifer, 2022). Penderita obesitas terjadi kegagalan dalam mengkonversi 7-dehydrocholesterol menjadi cholecalciferol di jaringan kulit. Tumpukan jaringan lemak yang merangsang sekresi dari faktor proinflamasi (leptin, IL-6, IL-8) akan menyebabkan peradangan jaringan lemak dan penurunan kadar vitamin D (Putu *et al.*, 2018). Obesitas dan kekurangan vitamin D dapat ditangani melalui pengaturan diet yang baik. Diet yang bisa digunakan antara lain adalah diet ketogenik modifikasi Atkins. Komposisi diet ketogenik modifikasi Atkins (DKMA) adalah tinggi lemak, cukup protein, dan rendah karbohidrat (Thompson *et al.*, 2017). Sejauh ini masih terbatas penelitian yang membahas mengenai pengaruh diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap kadar vitamin D.

Obesitas merupakan penyakit kronis yang dianggap sebagai epidemi global. Prevalensi obesitas lebih tinggi pada wanita daripada pria, dan

bertambah seiring pertambahan usia (Boutari dan Mantzoros, 2022). Berdasarkan penelitian sebelumnya prevalensi obesitas di Indonesia mencapai 21,8% dan prevalensi Provinsi Jawa Tengah sebesar 20,4% (Kemenkes RI, 2019). Obesitas dan kekurangan vitamin D mempunyai hubungan timbal balik. Penderita obesitas mempunyai kadar vitamin D yang lebih rendah dari populasi normal yaitu 26,14 ng/ml (Oktavia, 2019). Berdasarkan data prevalensi obesitas dan kekurangan vitamin D, diharapkan hasil penelitian ini dapat berkontribusi untuk menurunkan kasus obesitas dengan kekurangan vitamin D.

Diet ketogenik modifikasi Atkins adalah satu dari empat jenis diet ketogenik. Variasi diet ketogenik adalah diet ketogenik klasik (DKK), diet ketogenik modifikasi Atkins (DKMA), *medium chain triglyceride ketogenic diet* (MCT), dan *low glycemic index treatment diet* (Caprio *et al.*, 2019). Komposisi diet ketogenik klasik adalah 90% lemak, 6% protein, dan 4% karbohidrat, sedangkan komposisi DKMA adalah 65% lemak, 30% protein, dan 5% karbohidrat (Gano *et al.*, 2016). Diet ketogenik modifikasi Atkins merupakan modifikasi dari diet ketogenik klasik dengan komposisi diet lebih bervariasi sehingga pasien dapat mengonsumsi lebih banyak jenis makanan (Ayasmita R *et al.*, 2022). Diet ketogenik modifikasi Atkins dipergunakan bagi pasien yang melakukan rawat jalan sedangkan diet ketogenik klasik dipergunakan bagi pasien rawat inap saja (Irawan, 2018). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa diet ketogenik dapat meningkatkan kadar vitamin D dan dapat mengatasi obesitas (Detopoulou *et al.*, 2022). Penelitian

lain menyebutkan seseorang yang mengadopsi pola DKK untuk mengatasi obesitas mengalami peningkatan vitamin D yang beredar dalam aliran darah (Colica *et al.*, 2017). Sebuah penelitian telah membandingkan antara diet ketogenik klasik dan diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap pasien epilepsi. Diet ketogenik klasik yang diberikan pada pasien epilepsi usia lebih dari 2 tahun memberikan pengurangan frekwensi kejang yang lebih baik daripada diet ketogenik modifikasi Atkins. Sebaliknya, DKMA yang diberikan pada pasien epilepsi usia 1-2 tahun memberikan pengurangan frekuensi kejang yang lebih baik daripada DKK. DKMA memiliki tolerabilitas yang lebih baik, dan sedikit efek samping yang serius (Kim *et al.*, 2016). Penelitian lain telah melakukan uji pengaruh DKMA terhadap metabolisme tulang dan kalsium. Hasil penelitian tersebut yaitu terjadi penurunan casitriol dan peningkatan calsiol (Molteberg *et al.*, 2022). Keterbatasan penelitian mengenai pengaruh DKMA terhadap kadar vitamin D dalam darah individu obesitas, serta untuk memvalidasi penelitian sebelumnya membuat topik ini perlu diteliti.

Diet ketogenik modifikasi Atkins memiliki komposisi lemak yang lebih rendah dibandingkan dengan diet ketogenik klasik. Lemak merupakan bahan baku *cholecalciferol* di dalam kulit yang akan dikonversi menjadi vitamin D (Keane *et al.*, 2018). Asupan lemak yang berbeda akan memengaruhi kadar *cholecalciferol* yang berbeda sehingga akan memengaruhi kadar vitamin D. Asam lemak dapat memaksimalkan penyerapan *cholecalciferol* didalam usus (Goncalves *et al.*, 2013). Asam empedu yang meningkat setelah konsumsi lemak dapat mengaktifkan vitamin D reseptor (VDR) (Zhou dan Hylemon,

2014). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa *cholecalciferol* memiliki peran langsung dalam menekan hormon paratiroid (PTH), yang memicu akumulasi lemak di jaringan adiposa melalui peningkatan kalsium intraseluler (Shapses *et al.*, 2013). Berdasar latar belakang di atas, penelitian untuk mengetahui pengaruh DKMA terhadap kadar vitamin D yang beredar di sirkulasi darah individu obesitas perlu dilakukan.

Rumusan Masalah

Apakah diet ketogenik modifikasi Atkins berpengaruh terhadap kadar Vitamin D pada tikus jantan galur Sprague-Dawley model obesitas?

Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap kadar Vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley yang hanya diberi pakan standar dan aquades.

1.3.2.2 Mengetahui rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas tanpa diet ketogenik.

1.3.2.3 Mengetahui rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas yang diberi pakan diet ketogenik klasik.

1.3.2.4 Mengetahui rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas yang diberi pakan diet ketogenik modifikasi Atkins.

1.3.2.5 Menganalisis perbedaan rerata kadar vitamin D antar kelompok.

Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai bahan acuan bagi penelitian selanjutnya mengenai pengaruh diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap kadar Vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat digunakan sebagai sumber informasi bagi masyarakat mengenai diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap kadar vitamin D.

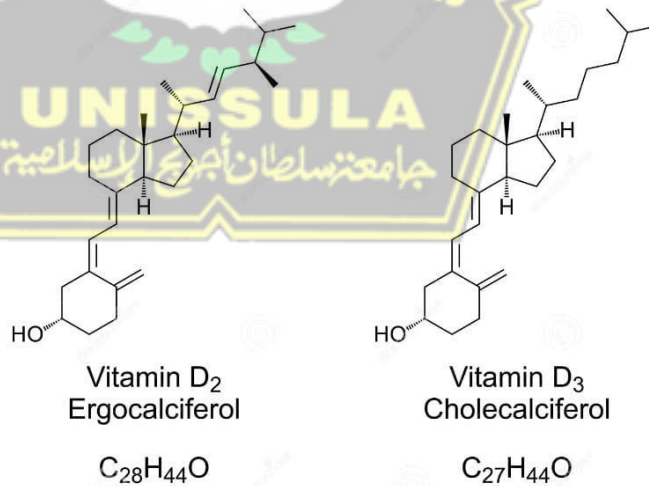
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Vitamin D

2.1.1 Definisi vitamin D

Vitamin D adalah vitamin larut lemak yang sering diketahui dengan *calciferol*. Vitamin D terdiri dari 2 bentuk, yaitu vitamin D3 (*cholecalciferol*) yang dapat didapatkan dari sinar radiasi ultraviolet B (UV B) terhadap kulit dibawah sinar matahari, dari makanan, serta D2 (*ergocalciferol*) yang didapat dari sumber makanan nabati dan suplemen oral. Struktur kimia vitamin D dituliskan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Struktur Vitamin D (Daniel, 2014)

Vitamin D dapat diperoleh dari makanan (25-hidroksikolekalsiferol dan 1,25-dihidroksikolekalsiferol) dan

mampu diproduksi di kulit (7-dehydrocholecalciferol) (Saponaro, Saba dan Zucchi, 2020). Kadar vitamin D dapat dipengaruhi oleh beberapa hal, meliputi:

a. Usia

Usia tua mempunyai kadar vitamin D yang lebih rendah dibandingkan dengan usia muda. Penurunan kadar vitamin D pada usia tua disebabkan karena organ-organ yang berperan serta dalam pengolahan vitamin dalam tubuh seperti hati, ginjal, dan usus mengalami penurunan fungsi. Hati akan mengalami penurunan fungsi dalam menghidroksilasi vitamin D menjadi 25 hidroksivitamin D. Ginjal akan mengalami kegagalan dalam mengubah 25 hidroksivitamin D menjadi 1,25 hidroksivitamin D. Usus akan mengalami penurunan fungsi absorpsi vitamin D (Jean *et al.*, 2017).

b. Jenis kelamin

Penelitian di China mengatakan bahwa kekurangan vitamin D cenderung terjadi pada musim dingin, Perempuan lebih cenderung mengalami kekurangan vitamin D dibandingkan pria (Yan *et al.*, 2019). Vitamin D larut dalam lemak dan jaringan adiposa subkutan dapat menyimpannya dalam jumlah besar. Sifat vitamin D yang larut dalam lemak, mengakibatkan

kadar vitamin D yang bersirkulasi dalam darah lebih sedikit dibandingkan yang disimpan dalam jaringan lemak. Lemak subkutan yang lebih besar pada wanita daripada pria yang menyebabkan lebih sedikit molekul vitamin D yang memasuki sirkulasi darah pada wanita dibandingkan dengan pria (Yan *et al.*, 2019). Penelitian lain juga mengatakan bahwa konsentrasi estradiol tubuh berhubungan negatif dengan status vitamin D, sedangkan kadar testosteron dilaporkan berkorelasi secara positif dengan konsentrasi vitamin D (Chin *et al.*, 2015).

c. Gaya hidup

Vitamin D dapat diperoleh dari sintesis di kulit dan makanan. Gaya hidup berperan penting untuk produksi vitamin D yang diperoleh dari sintesis di kulit. Sintesis vitamin D di kulit memerlukan sinar UV B untuk mengubah 7-dehydrocholecalciferol menjadi *pre-vitamin D3*. Gaya hidup sengaja menghindari sinar matahari atau menggunakan *sunscreen* akan menekan sintesis vitamin D di kulit (Faurschou *et al.*, 2012).

d. PTH

PTH dan vitamin D adalah dua pengatur utama dalam memelihara homeostasis kalsium dan fosfat serta

pengembangan dan pemeliharaan tulang. PTH dan vitamin D membentuk siklus umpan balik dalam menjadi peran simulator utama sintesis vitamin D di ginjal. Sebuah penelitian menerangkan jika vitamin D turun maka respon tubuh akan membentuk PTH lebih banyak (Jalal *et al.*, 2016). Penelitian lain menyebutkan tidak semua individu yang mengalami kekurangan vitamin D terjadi kenaikan PTH (Mayra *et al.*, 2020).

2.1.2 Metabolisme Vitamin D

Vitamin D didapatkan dari makanan, suplemen, dan diproduksi di kulit dari 7-dehydrocholesterol (7-DHC) setelah mendapatkan konversi oleh sinar matahari berupa ultraviolet B (UVB). Vitamin D dari makanan dapat berada dalam bentuk kolekalsiferol (vitamin D3) atau ergokalsiferol (vitamin D2). Vitamin D yang berasal dari kulit dihasilkan dalam bentuk kolekalsiferol (vitamin D3) (Saponaro *et al.*, 2020).

Vitamin D3 disintesis di kulit dari 7-DHC melewati proses nonenzimatik. Vitamin D3 diproses melalui pemecahan oleh radiasi sinar ultraviolet (spektrum 280-320 UVB) dari matahari membentuk pre-vitamin D3 (*pre-cholecalciferol*). Pre-vitamin D3 akan dikonversi menjadi vitamin D3 melalui isomerisasi. Vitamin D3 berikatan dengan protein dan dibawa ke hati (Saponaro *et al.*, 2020).

Vitamin D akan dihidroksilasi menjadi 25 hidroksivitamin D (25(OH)D) di hati dan sebagai metabolit utama yang bersirkulasi di darah. 25(OH)D merupakan bentuk inaktif yang harus diaktivasi menjadi 1,25 dihidroksivitamin D (1,25(OH)₂D). 25(OH)D berubah menjadi 1,25(OH)₂D dibantu oleh enzim 1 α -hidroksilase. Katabolisme dan metabolit vitamin D terjadi melalui berbagai enzim sitokrom P450 yang menghasilkan sejumlah katabolit 24-hidroksilase (gen: CYP24). 1,25(OH)₂D menuju ke usus untuk berinteraksi dengan VDR untuk meningkatkan penyerapan kalsium usus dan menuju ke tulang untuk meningkatkan proses remodeling tulang (Keane *et al.*, 2018; Saponaro *et al.*, 2020). Penjelasan metabolisme di atas dijelaskan dalam Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Metabolisme Vitamin D (Kumar, 2018)

2.1.3 Kadar Normal Vitamin D

Kadar nilai normal vitamin D pada orang dewasa sebagai berikut: 0-20 ng/ml atau <50nmol/L (*deficiency*), 21-29 ng/ml atau 50-75 nmol/L (*suboptimal*), 30-50 ng/ml atau 75-125 nmol/L (*optimal*) (Pludowski, 2023).

2.1.4 Cara Pengukuran Vitamin D

Pengukuran kadar vitamin D serum menggunakan metode *enzyme immunsorbent assay* (ELISA). Metode ELISA menggunakan pengukuran fotometrik intensitas warna pada panjang gelombang 450 nm, dan panjang referensi antara 620 nm dan 650 nm dalam waktu 30 menit. Satuan kadar vitamin D yaitu ng/mL (Makris *et al.*, 2020).

2.1.5 Vitamin D dan Obesitas

Kadar vitamin D yang rendah berhubungan dengan obesitas. Seorang mengalami obesitas akan mengalami kegagalan konversi pre vitamin D menjadi vitamin D di jaringan kulitnya. Jaringan lemak yang berlebih dapat menyerap vitamin yang larut dalam lemak sehingga kadar 25 hidroksivitamin D₃ menjadi rendah akibat kegagalan konversi tersebut. Penelitian juga menyebutkan bahwa vitamin D akan memengaruhi sekresi insulin, sensitifitas jaringan terhadap insulin, dan peradangan sistemik. Jaringan adiposa yang meningkat dapat menyebabkan hipertrofi

adiposa, deposit lemak ektopik, dan hipoksia yang menyebabkan gangguan sekresi adipokin. Hipertrofi adiposa akan mensekresi faktor proinflamasi (leptin, IL-6, IL-8) yang menyebabkan penurunan vitamin D. Kekurangan vitamin D akan menyebabkan penurunan sensitivitas insulin, aktivasi lipogenesis, dan peningkatan massa lemak (Putu *et al.*, 2018 ; Zakharova *et al.*, 2019).

2.2 Diet Ketogenik Modifikasi Atkins

Diet ketogenik adalah diet dengan komposisi tinggi lemak, cukup protein dan rendah karbohidrat yang akan mengakibatkan keadaan ketosis bagi tubuh. Keton merupakan sumber energi yang berasal dari lemak. Ketosis diakibatkan karena tingginya kadar keton dalam darah (Irawan, 2018).

Diet ketogenik awalnya digunakan sebagai terapi epilepsi pada anak, seiring berjalannya waktu diet ketogenik terbukti mempunyai efek pengobatan dalam berbagai penyakit seperti DM, dyslipidemia, dan alzheimer. Diet ketogenik sebagai salah satu diet untuk menurunkan berat badan dengan metode yang relatif baru dan efektif dalam menurunkan berat badan (Tan *et al.*, 2019).

Macam diet ketogenik adalah diet ketogenik klasik (DKK), diet ketogenik modifikasi Atkins (DKMA), *medium chain triglyceride ketogenic diet* (MCT), dan *low glycemic index treatment diet* (Caprio *et al.*, 2019). Perbedaan dari keempat macam diet ketogenik diatas dijelaskan didalam Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Perbedaan makronutrien masing-masing variasi diet ketogenik (Masino, 2017)

Perbandingan komposisi makronutrien pada diet ketogenik modifikasi Atkins adalah lemak 65%, protein 30%, dan karbohidrat sebesar 5% (Masino, 2017). Diet ketogenik modifikasi Atkins menggunakan pengganti karbohidrat dengan asupan lemak tak jenuh dan protein yang bersumber dari bahan nabati (Diana dan Raditya Atmaka, 2020). Sumber lemak tak jenuh dapat digunakan dalam daftar diet ketogenik modifikasi Atkins Tabel 2.1

Tabel 2.1 Pilihan Makanan Sumber Lemak Tak Jenuh pada Diet Ketogenik Modifikasi Atkins (*United State Department of Agriculture, 2023*)

Nama	Kandungan Lemak (Gram)	Kalori (kkal)
	(dalam 100 gram)	
Minyak zaitun	100	900
Alpukat	14,7	160
Minyak alpukat	100	884
Margarin tanpa garam	80,7	717
Minyak kedelai	100	884

Komposisi pakan untuk tikus Sprague Dawley yang dapat dikonsumsi sesuai dengan komposisi diet ketogenik klasik dan Atkins dapat merujuk pada *Atkins Nutrition Inc* dan *United State Department of Agriculture* sesuai dengan tabel Tabel 2.2 dan Tabel 2.3

Tabel 2.2 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Modifikasi Klasik untuk Tikus Berbobot 200 gram dalam 1 Hari (*United State Department of Agriculture, 2023*)

Nama	Berat (gram)	Kandungan (gram)			Kalori (kkal)	Kalori (%)
		Protein	Lemak	Karbohidrat		
Minyak Zaitun	3,6	0	3,6	0	32,4	90
Bubuk kasein	0,54	0,54	0	0	2,16	8
Fruktosa Cair	0,36	0	0	0	1,44	2
Total	4,5	0,54	3,6	3,6	36	100

Tabel 2.3 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Atkins untuk Tikus Berbobot 200 gram dalam 1 Hari (*United State Department of Agriculture, 2023*)

Makanan	Berat (gram)	Kandungan (gram)			Kalori	
		Protein	Lemak	Karbohidrat	(kcal)	(%)
Minyak Zaitun	2,6	0	2,6	0	23,4	65
Bubuk kasein	2,7	2,7	0	0	10,8	30
Fruktosa Cair	0,45	0	0	0,45	1,8	5
Total	5,75	2,7	2,6	0,45	36	100

2.3 Obesitas

2.3.1 Definisi

Ketidakeimbangan antara energi yang masuk dan keluar dalam waktu lama mengakibatkan obesitas. Penumpukan lemak berlebihan dalam tubuh merupakan suatu kondisi obesitas (Sofa, 2018).

2.3.2. Pengukuran Obesitas

Obesitas merupakan bertambahnya berat badan melebihi rentan normal index massa tubuh (IMT). IMT merupakan pemeriksaan antropometri untuk menilai massa tubuh yang terdiri dari otot, tulang, dan lemak. Data IMT dapat diklasifikasikan menurut WHO dan Asia- Pasifik. Cara penentuan IMT adalah dengan mengukur berat badan dan tinggi badan kemudian dimasukkan kedalam persamaan sebagai berikut:

$$IMT = \frac{\text{Berat Badan (Kg)}}{\text{Tinggi Badan (m}^2\text{)}}$$

Klasifikasi obesitas berdasarkan IMT dapat dikategorikan sebagai berikut:

Tabel 2.4 Klasifikasi IMT pada orang Eropa Dewasa (*WHO Western Pacific Region, 2000*)

Klasifikasi	BMI (kg/m ²)
<i>Underweight</i>	< 18.5
<i>Normal range</i>	18.5 – 24.9
<i>Overweight</i>	> 25
<i>Pre-obese</i>	25.0 - 29.9
<i>Obese class I</i>	30.0 - 34.9
<i>Obese class II</i>	35.0 - 39.9
<i>Obese class III</i>	> 40

Tabel 2.5 Klasifikasi Overweight & obesitas berdasarkan BMI, waist circumference di Asia (*WHO Western Pacific Region, 2000*)

Klasifikasi	BMI (kg/m ²)	Risiko komorbiditas Lingkar pinggang	
		< 90 cm (pria) < 80 cm (wanita)	≥ 90 cm (pria) ≥ 80 cm (wanita)
<i>Underweight</i>	< 18.5	<i>Low (but increased risk of other clinical problems)</i>	<i>Average</i>
<i>Normal range</i>	18.5 – 22.9	<i>Average</i>	<i>Increased</i>
<i>Overweight:</i>	≥ 23		
- <i>At risk</i>	23 – 24.9	<i>Increased</i>	<i>Moderate</i>
- <i>Obese I</i>	25 – 29.9	<i>Moderate</i>	<i>Severe</i>
- <i>Obese II</i>	≥ 30	<i>Severe</i>	<i>Very severe</i>

2.3.3. Patogenesis Obesitas

Ketidakseimbangan antara energi yang masuk dan keluar dalam waktu lama mengakibatkan obesitas. Makanan yang tinggi kadar kalori, rendah serat, dan gizi merupakan penyebab terjadinya obesitas. Penelitian mengatakan makanan dari jenis makanan olahan serba instan dan makanan cepat saji lain merupakan

penyebab terjadinya obesitas (Wansyaputri *et al.*, 2021). Pola aktivitas merupakan penyebab terjadinya obesitas selain pola makan. Orang yang kurang beraktivitas fisik lebih mudah terkena obesitas. Obesitas pada orang yang kurang aktivitas fisik maupun olahraga disebabkan oleh jumlah kalori yang dikeluarkan lebih sedikit dibandingkan kalori *in take* sehingga dapat mengakibatkan jaringan *adipose* berlebihan dalam tubuh (Wansyaputri *et al.*, 2021).

Obesitas terjadi karena adanya kelebihan energi yang disimpan dalam bentuk jaringan lemak. Pengaturan keseimbangan energi diperankan oleh hipotalamus melalui 3 proses fisiologis, yaitu pengendalian rasa lapar dan kenyang, mempengaruhi laju pengeluaran energi, dan regulasi sekresi hormon. Asupan makanan yang berlebih akan meningkatkan kadar leptin dalam darah. Leptin kemudian akan merangsang nukleus hipotalamus medial agar menurunkan produksi Neuropeptide-Y, sehingga terjadi penurunan nafsu makan. Penderita obesitas mengalami gangguan pada nukleus hipotalamus medial sehingga terjadi gangguan dalam pengaturan keseimbangan energi. Peningkatan rasa lapar akibat gangguan jalur sinyal makan menyebabkan terjadinya obesitas (Oussada *et al.*, 2019).

Insulin merupakan hormon yang disekresikan oleh pancreas untuk mengatur homeostasis glukosa. Resistensi insulin

menyebabkan sel dan jaringan tidak mendapatkan glukosa sehingga terjadi hiperglikemi dan peningkatan sinyal lapar. Gangguan pada sinyal lapar ini menyebabkan hilangnya sinyal kenyang dan peningkatan keinginan untuk makan sehingga berkontribusi besar dalam terjadinya obesitas (Oussada *et al.*, 2019).

2.3.4. Patofisiologi Obesitas

Obesitas dapat meningkatkan risiko berbagai keluhan dan penyakit. Beberapa gangguan kesehatan yang dapat terjadi pada penderita obesitas sebagai berikut:

a. Diabetes Mellitus tipe 2

Resistensi insulin merupakan kondisi insulin tidak mampu mengontrol gula darah meskipun jumlah insulin memadai. Kondisi ini banyak dijumpai pada penderita obesitas dan kurang aktivitas fisik maupun olahraga (Nasution *et al.*, 2018).

b. Aterosklerosis

Penderita obesitas terjadi penumpukan lemak dalam darah. Gejala awal dari aterosklerosis adalah *fatty streak* yang berupa kumpulan lipid dan makrofag pada tunika intima arteri. Proliferasi makrofag dan perkembangan plak *fibrosus* diakibatkan oleh kumpulan lipid yang terjadi secara terus-menerus. Nekrosis, perdarahan atau *rupture* plak dapat terjadi karena plak yang berkembang selama beberapa tahun.

Perkembangan plak akan mengakibatkan penyempitan lumen yang progresif dan dapat terjadinya oklusi pada pembuluh darah distal akibat ambolisasi plak (Mauliza, 2018).

c. Dyslipidemia

Abnormalitas profil lemak dengan peningkatan konsentrasi kolesterol total, trigliserida, dan LDL (*Low-density lipoprotein*) serta menurunkan konsentrasi HDL (*high-density lipoprotein*) merupakan konsekuensi jangka pendek dan jangka panjang penderita obesitas (Mauliza, 2018).

2.3.5. Induksi Obesitas pada Hewan Coba

Induksi obesitas pada hewan coba dilakukan menggunakan diet tinggi lemak dengan komposisi lemak berkisar antara 41%-60% (Kimura *et al.*, 2018). Induksi obesitas menggunakan lemak jenuh karena dapat menimbulkan timbunan lemak yang lebih banyak akibat dari sintesis trigliserid dan meningkatkan sitokin pro-inflamasi (Dias, 2021). Penelitian Kaviani (2020) menyebutkan bahwa, pemberian induksi obesitas terhadap tikus putih jantan galur Sprague-Dawley menggunakan komposisi 60% lemak, 20% karbohidrat, dan 20% protein selama 6 minggu dapat menghasilkan kenaikan berat badan yang signifikan dan obesitas.

Waktu intervensi diet induksi obesitas bermacam-macam mulai dari 8 hari – 27 minggu (Kimura *et al.*, 2018). Terdapat beberapa penelitian yang menggunakan durasi pemberian induksi

obesitas yang berbeda. Peneliti menyebutkan diet induksi obesitas yang diberikan dalam waktu 3 minggu dapat menghasilkan tikus obesitas dengan lebih baik (Blancas-Velazquez *et al.*, 2017). Penelitian oleh Hira (2018) menyebutkan bahwa, diet induksi obesitas yang dilakukan pada tikus galur Sprague Dawley selama 14 hari dapat menghasilkan tikus yang obesitas.

2.4. Tikus Putih Jantan Galur Spragus-Dawley

2.4.1. Jenis Kelamin

Tikus yang kita gunakan dalam penelitian adalah tikus jantan galur Srague-Dawley. Tikus jantan muda mengalami peningkatan berat badan lebih tinggi dibandingkan tikus betina muda ketika diberi induksi obesitas. Sebaliknya, tikus betina dewasa mengalami peningkatan berat badan lebih tinggi dibandingkan tikus jantan dewasa. Tikus betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang tidak dapat dikendalikan sehingga dikhawatirkan akan mempengaruhi hasil penelitian (Salinero *et al.*, 2018).

2.4.2. Usia

Usia berpengaruh dalam perkembangan obesitas. Gambaran terbaik obesitas pada manusia adalah diet induksi obesitas yang

dilakukan pada tikus pascasapih atau tikus berusia 6-8 minggu (Dias, 2021).

2.4.3. Indeks Lee

Indeks Lee merupakan metode pengukuran indeks massa tubuh untuk menentukan tingkat obesitas pada tikus dengan tinggi lemak dan fruktosa (Malafaia *et al.*, 2013).

Perhitungan dapat dilakukan dengan rumus:

$$\{ \text{Berat badan (g)}^{1/3} / \text{panjang } \textit{naso-anal} \text{ (cm)} \times 10^3 \}$$

Hasil perhitungan Indeks Lee $>0,300$ disebut obesitas

(Ardiansyah *et al.*, 2018)

2.4.4 Konversi Hari Manusia dengan Tikus

Tikus laboratorium hidup sekitar 2 hingga 3,5 tahun (rata-rata 3 tahun), sedangkan harapan hidup di seluruh dunia adalah 80 tahun, dengan variasi di negara-negara sesuai dengan kondisi sosial ekonomi mereka. Oleh karena itu, mengambil masa hidup mereka bersama-sama, dapat dihitung sebagai berikut:

$$(80 \times 365) \div (3 \times 365) = 26,7 \text{ hari manusia} = 1 \text{ hari tikus}; \text{ dan}$$

$$365 \div 26,7 = 13,8 \text{ hari tikus} \approx 1 \text{ tahun manusia.}$$

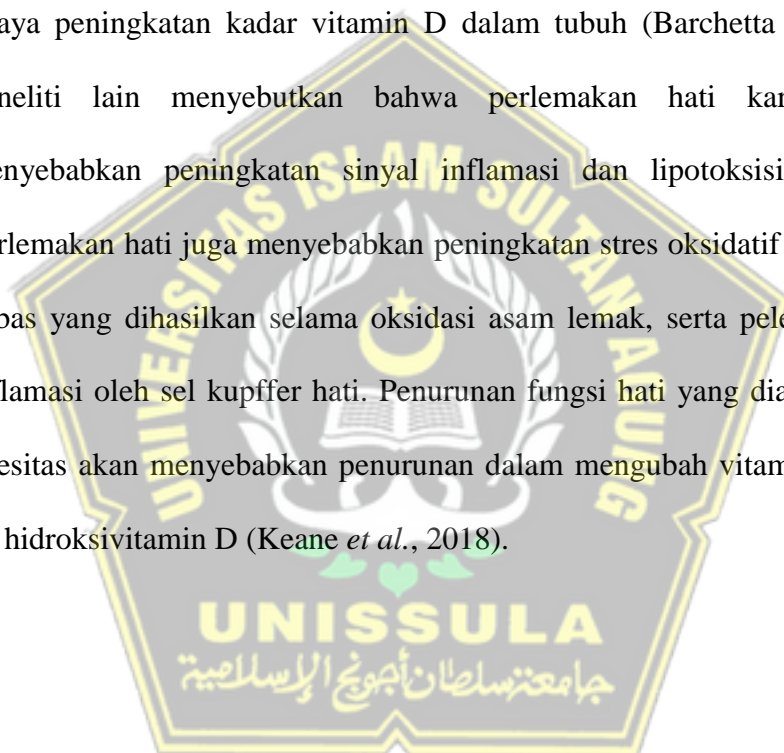
Dengan demikian, satu tahun manusia hampir sama dengan dua minggu tikus (13,8 hari tikus) saat dihubungkan dengan masa hidupnya (Sengupta, 2013).

2.5 Pengaruh Diet Ketogenik Modifikasi Atkins terhadap Kadar Vitamin D

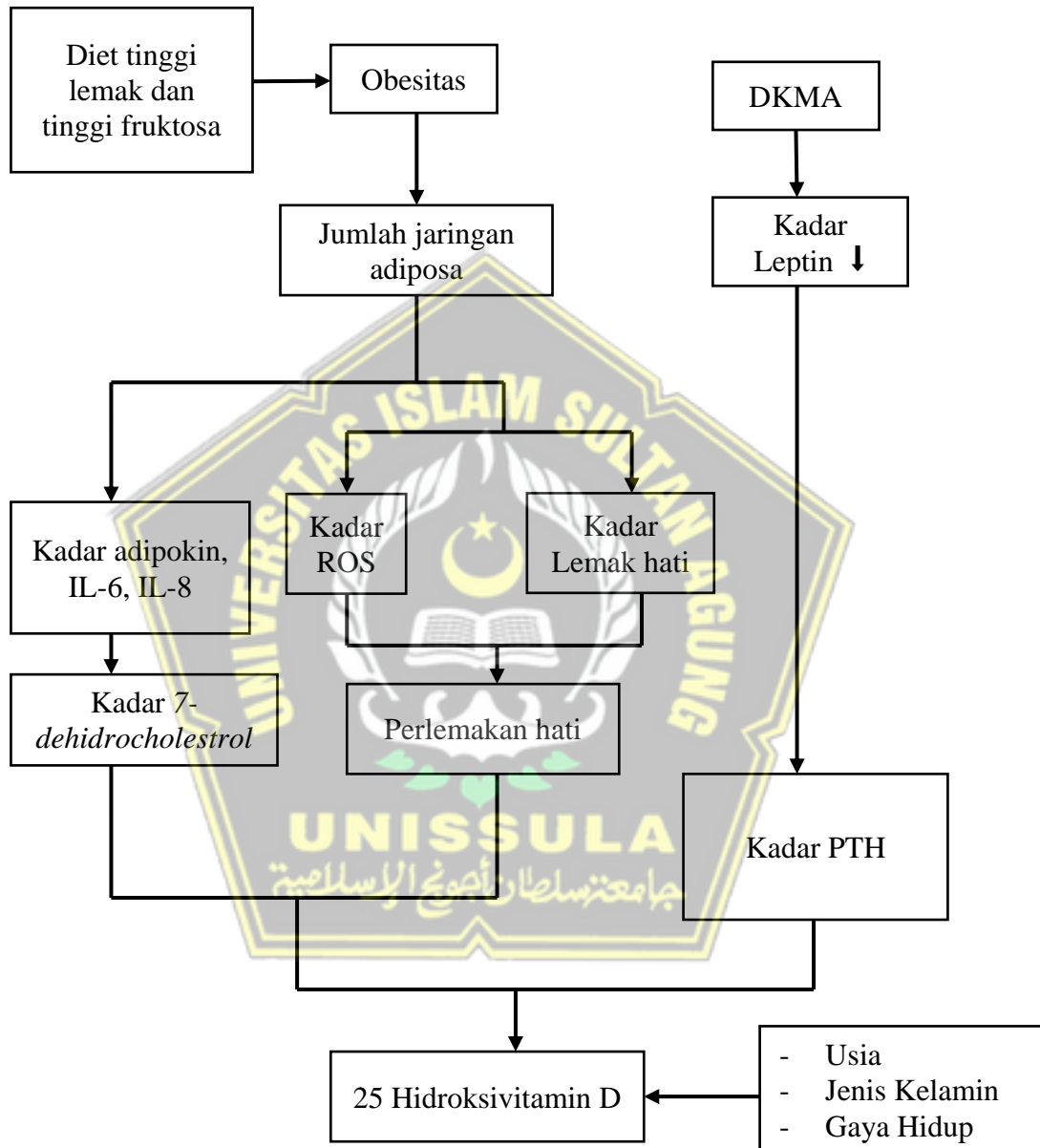
Diet ketogenik modifikasi Atkins memiliki komposisi lemak sebesar 65%, protein 30%, dan karbohidrat 5%. Sebuah penelitian mengungkapkan bahwa orang yang mengonsumsi makanan mengandung tinggi lemak dilaporkan memiliki absorpsi vitamin D lebih tinggi dibandingkan dengan orang yang mengonsumsi makanan bebas lemak (Dawson-Hughes *et al.*, 2015). Metabolisme vitamin D dimulai dari hidroksilasi oleh hati menjadi 25(OH)D serta diubah kembali oleh ginjal menjadi 1,25 hidroksivitamin D kemudian berikatan oleh vitamin D reseptor (VDR) dan mengaktifkan metabolisme kalsium (Kumar, 2018). Asam empedu yang meningkat setelah konsumsi lemak dapat mengaktifkan vitamin D reseptor (VDR), sehingga konsumsi lemak yang tinggi dapat meningkatkan produksi vitamin D (Zhou dan Hylemon, 2014).

Obesitas akan mengalami penumpukan jaringan adiposa yang berlebih. Hipertrofi adiposa pada obesitas akan mensekresi faktor proinflamasi (leptin, IL-6, IL-8) yang menyebabkan penurunan kadar vitamin D dalam sirkulasi (Zakharova *et al.*, 2019). Obesitas juga mengalami kegagalan konversi 7-DHC menjadi pre vitamin D karena penumpukan lemak di jaringan kulit yang terlalu tebal. Penurunan vitamin D pada obesitas juga dapat dipengaruhi karena banyaknya vitamin D yang terserap ke jaringan lemak mengakibatkan vitamin D yang bersirkulasi di dalam darah menjadi berkurang (Putu *et al.*, 2018).

Hati memiliki kontribusi yang penting dalam metabolisme vitamin D. Hati berfungsi untuk pengubahan vitamin D menjadi 25 hidroksivitamin D dan menjadi metabolit utama yang bersirkulasi dalam darah (Kumar, 2018). Penurunan vitamin D berhubungan dengan fungsi hati. Penelitian yang dilakukan oleh Barchetta mengatakan bahwa disfungsi metabolik yang diakibatkan karena perlemakan hati dan obesitas dapat ditangani dengan upaya peningkatan kadar vitamin D dalam tubuh (Barchetta *et al.*, 2020). Peneliti lain menyebutkan bahwa perlemakan hati karena obesitas menyebabkan peningkatan sinyal inflamasi dan lipotoksisitas hepatosit. Perlemakan hati juga menyebabkan peningkatan stres oksidatif akibat radikal bebas yang dihasilkan selama oksidasi asam lemak, serta pelepasan sitokin inflamasi oleh sel kupffer hati. Penurunan fungsi hati yang diakibatkan oleh obesitas akan menyebabkan penurunan dalam mengubah vitamin D menjadi 25 hidroksivitamin D (Keane *et al.*, 2018).

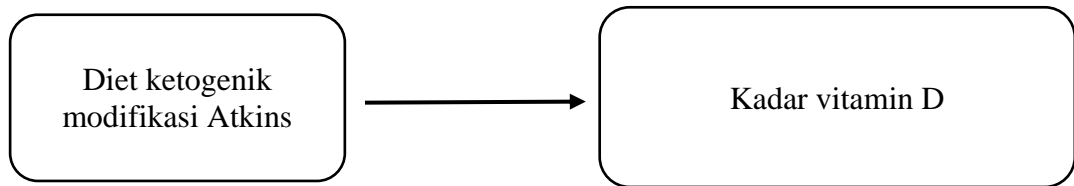


2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

2.8 Hipotesis

Diet ketogenik modifikasi Atkins berpengaruh terhadap kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas.

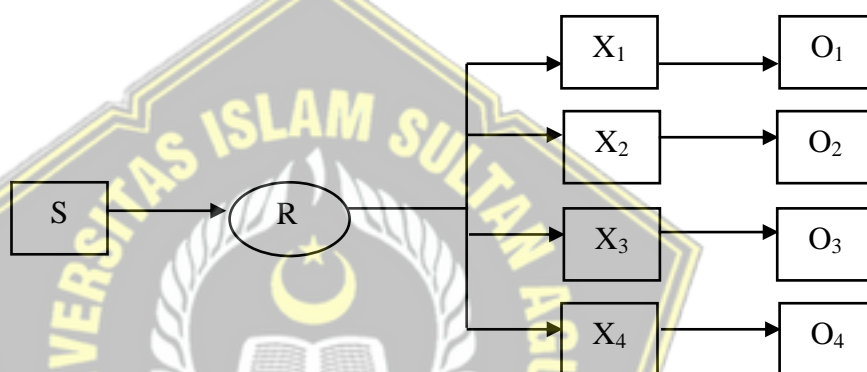


BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dipilih yaitu eksperimental dengan rancangan penelitian “*post test only control group design*” terhadap hewan coba tikus putih jantan galur Sprague-Dawley.



Gambar 3.1 Skema Penelitian

Keterangan:

S = Sampel berupa tikus putih jantan galur Sprague-Dawley sebanyak 24 ekor .

R = Randomisasi.

X₁ = Kelompok kontrol terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley.

X₂ = Kelompok obesitas terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley.

X₃ = Kelompok obesitas + diet ketogenik klasik terdiri atas 6 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley.

- X₄ = Kelompok obesitas + diet ketogenik modifikasi Atkins terdiri atas 6 tikus putih jantan galur Sprague-Dawley.
- O₁ = Observasi kelompok kontrol. Tikus hanya diberi pakan standar dan aquades.
- O₂ = Observasi kelompok obesitas. Tikus diberi pakan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa.
- O₃ = Observasi kelompok diet ketogenik klasik. Tikus diberi pakan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa serta diberi pakan diet ketogenik klasik.
- O₄ = Observasi kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins. Tikus diberi pakan tinggi lemak dan tinggi fruktosa serta diberi pakan diet ketogenik modifikasi Atkins.

3.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

3.2.1 Variabel Penelitian

3.2.1.1 Variabel Bebas

Diet ketogenik modifikasi Atkins

3.2.1.2 Variabel Tergantung

Kadar vitamin D

3.2.2 Definisi Operasional

3.2.2.1. Diet Ketogenik Modifikasi Atkins

Diet ketogenik modifikasi Atkins terdiri dari komposisi 60% lemak, 35% protein, dan 5% karbohidrat diberikan kepada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley

selama 30 hari secara per oral menggunakan sonde setiap pagi dan sore hari.

Skala : Nominal

3.2.2.2. Kadar Vitamin D

Vitamin D dinilai dengan pengukuran kadar serum 25(OH)D yang didapatkan dari darah tikus jantan galur Sprague-Dawley. Darah diambil dari vena oftalmica pada hari ke 52.

Skala: rasio

3.3 Subjek Uji

Jumlah uji yang digunakan dalam penelitian yaitu tikus jantan putih galur Sprague Dawley. Sampel yang digunakan dibagi menjadi empat kelompok dan besarnya didapat dari rumus Federer sebagai berikut.

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

$$(4-1) (n-1) \geq 15$$

$$3 (n-1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Dengan demikian, jumlah minimal hewan uji coba tiap kelompok adalah 6 ekor. Jumlah sampel yang diambil secara random adalah 24 ekor tikus.

1. Kriteria inklusi sebagai berikut:

- a. Tikus jantan yang sehat, gerak aktif, dan berumur 2-3 bulan
- b. Berat badan tikus 190-250 gram
- c. Tidak ada kelainan anatomis

2. Kriteria eksklusi sebagai berikut:

- a. Tikus yang tidak memenuhi kriteria obesitas setelah induksi diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa

3. Kriteria drop out sebagai berikut:

- a. Tikus mati atau sakit selama penelitian berlangsung

3.4 Instrumen dan Bahan

3.4.1 Instrumen Penelitian

1. Kandang tikus lengkap dengan tempat makan dan minumannya
2. Timbangan tikus
3. Sonde oral
4. Mikropipet + tip
5. Alat-alat gelas (gelas beker, gelas ukur, batang pengaduk, tabung reaksi, pipet tetes)
6. Mikrohematokrit tube
7. Sentrifuge
8. Spektrofotometer UV-VIS
9. Tabung untuk menampung darah
10. Sarung tangan
11. Sumur uji

12. Sputit

3.4.2 Bahan Penelitian

1. Tikus putih jantan galur Sprague-Dawley
2. Pakan standar (AIN – 93M)
3. Akuades
4. Fruktosa cair
5. *Wash buffer*
6. *Enzyme conjugate* vitamin D
7. *Stop solution*
8. Substrat vitamin D
9. Asam kolat
10. Bubuk Kolesterol
11. Minyak zaitun

3.5 Cara Penelitian

3.5.1 Diet Tinggi Lemak dan Tinggi Fruktosa

Diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa diberikan secara per oral menggunakan sonde untuk seluruh tikus pada kelompok obesitas, DKK, dan DKMA. Diet tinggi lemak diberikan menggunakan kolesterol 2% sebanyak 0,3 gram dan asam folat 0,2% sebanyak 0,03 gram. Diet tinggi fruktosa diberikan menggunakan fruktosa cair sebanyak 6 mL.

3.5.2 Diet Ketogenik Klasik

Diet ketogenik klasik diberikan secara per oral dengan sonde untuk tikus pada kelompok DKK dengan komposisi lemak 90%, protein 8%, dan karbohidrat 2%. Kalori yang diperlukan oleh manusia dewasa (70 kg) adalah 2000 kkal/hari. Konversi dosis untuk tikus berbobot 200 gram adalah 0,018 sehingga jumlah kalori yang dikonsumsi oleh tikus 200 gram adalah 36 kkal/hari. Pakan dan komposisi makronutrien yang digunakan dalam penelitian ini tertera dalam Tabel 3.1

Tabel 3.1 Komposisi pakan dan kandungan makronutrien diet ketogenik klasik untuk tikus berbobot 200 gram (*United State Department of Agriculture, 2023*)

Nama	Berat (gram)	Kandungan (gram)			Kalori	
		Protein	Lemak	Karbohidrat	(kkal)	(%)
Minyak Zaitun	3,6	0	3,6	0	32,4	90
Bubuk kasein	0,54	0,54	0	0	2,16	8
Fruktosa Cair	0,36	0	0	0	1,44	2
Total	4,5	0,54	3,6	3,6	36	100

3.5.3 Diet Ketogenik Modifikasi Atkins

Diet ketogenik modifikasi Atkins diberikan secara per oral dengan sonde untuk tikus pada kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins dengan komposisi lemak 65%, protein 30%, dan karbohidrat 5%. Kalori yang diperlukan oleh dewasa (70 kg) adalah 2000 kkal/hari. Konversi dosis untuk tikus berbobot 200 gram adalah 0,018 sehingga jumlah kalori yang dikonsumsi oleh tikus 200 gram

adalah 36 kkal/hari. Pakan dan komposisi makronutrien yang digunakan dalam penelitian ini tertera dalam Tabel 3.2

Tabel 3.3 Komposisi Pakan dan Kandungan Makronutrien Diet Ketogenik Modifikasi Atkins (*United State Department of Agriculture, 2023*)

Makanan	Berat (gram)	Kandungan (gram)			Kalori	
		Protein	Lemak	Karbohidrat	(kkal)	(%)
Minyak Zaitun	2,6	0	2,6	0	23,4	65
Bubuk kasein	2,7	2,7	0	0	10,8	30
Fruktosa Cair	0,45	0	0	0,45	1,8	5
Total	5,75	2,7	2,6	0,45	36	100

3.5.4 Prosedur Penelitian

Penelitian dilakukan pada 24 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang telah disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus akan diberikan pakan standar AIN-93M-MX serta akuades supaya tidak mengalami stress. Pemberian pakan standar dilakukan secara per oral dengan sonde selama 7 hari pertama pada pagi dan sore hari. Pada hari ke-8 tikus dibagi menjadi 2 kelompok secara acak yaitu kelompok kontrol yang terdiri dari 6 ekor dan kelompok induksi obesitas 18 ekor. Kelompok kontrol melanjutkan pakan standar AIN-93M-MX pada hari ke-8 hingga hari ke-51. Kelompok induksi obesitas diberikan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa pada hari ke-8 hingga hari ke-21 kemudian dilakukan perhitungan dengan Indeks Lee pada hari ke-21. Pada hari ke-22

tikus dari kelompok induksi obesitas dibagi menjadi 3 kelompok secara acak yaitu kelompok obesitas, kelompok diet ketogenik klasik, dan kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins dengan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor. Tikus diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing pada hari ke-22 hingga hari ke-51 dan dilakukan pengukuran kadar vitamin D pada hari ke-52.

3.5.5 Pemberian Perlakuan

Tikus pada setiap kelompok dilakukan adaptasi selama 7 hari kemudian dibagi menjadi:

3.5.3.1 Kelompok Kontrol

Tikus putih jantan galur Sprague Dawley diberi pakan standar (AIN 93) dan akuades hingga hari ke-49 setelah dilakukan aklimatisasi selama 7 hari.

3.5.3.2 Kelompok Obesitas

Tikus putih jantan galur Sprague Dawley diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa pada hari ke-8 hingga hari ke-49 setelah aklimatisasi selama 7 hari.

3.5.3.3 Kelompok Obesitas dengan Diet Ketogenik Klasik

Tikus putih jantan galur Sprague-Dawley diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa pada hari ke-8 hingga hari ke-21 setelah aklimatisasi selama 7 hari, kemudian dilanjutkan diet ketogenik klasik dengan

komposisi lemak 90%, protein 8%, dan karbohidrat 2% pada hari ke-22 hingga hari ke-49

3.5.3.4 Kelompok Obesitas dengan Diet Ketogenik Modifikasi Atkins

Tikus putih jantan galur Sprague Dawley diberikan diet tinggi lemak dan fruktosa pada hari ke-8 hingga hari ke-21 setelah aklimatisasi selama 7 hari, kemudian dilanjutkan diet ketogenik modifikasi Atkins dengan komposisi lemak 65%, protein 30%, dan karbohidrat 5% pada hari ke-22 hingga ke-51.

3.5.6 Cara Pengambilan Darah

Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-52 dilakukan dengan cara menusukkan mikrohematokrit tube pada vena oftalmika di sudut bola mata tikus. Pengambilan darah dari vena oftalmika dikarenakan jumlah darah yang berada di vena tersebut berlimpah (Parasuraman *et al.*, 2010). Darah yang mengalir ditampung hingga terkumpul 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan. Tabung reaksi berisi darah tanpa antikoagulan dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Tabung yang sudah disentrifugasi akan menghasilkan supernatan (serum) berwarna kuning jernih berada di atas *pallets* (gumpalan darah). Serum yang didapat akan digunakan sebagai bahan pengukuran vitamin D.

3.5.7 Cara Pemeriksaan Kadar Vitamin D

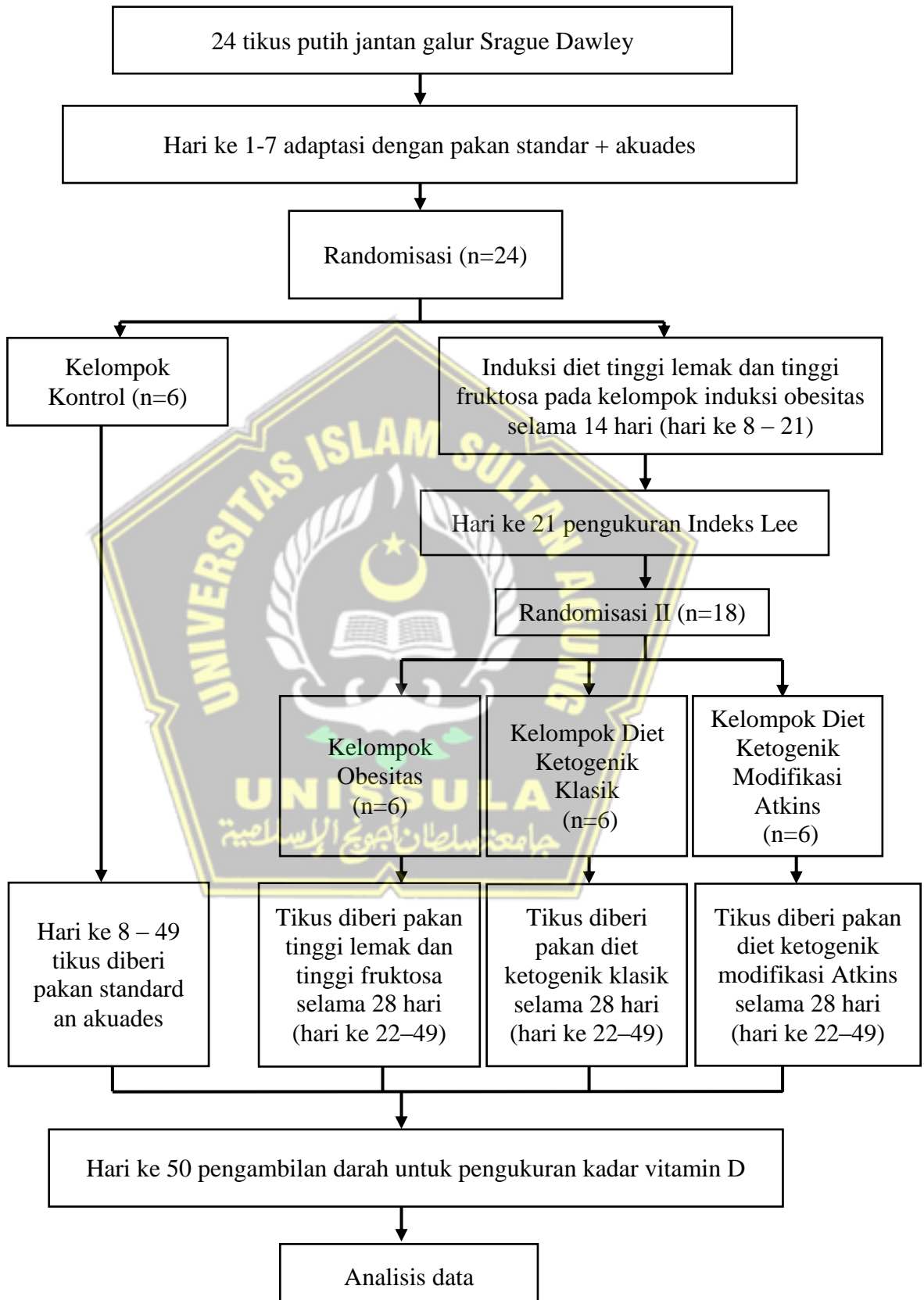
Pengukuran kadar vitamin D menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Serum sebanyak 200 μl yang telah didapat dari hasil sentrifugasi dan diencerkan oleh biotin atau buffer dimasukkan kedalam masing-masing sumur uji. Serum yang telah diencerkan lalu diinkubasi pada suhu $18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam. Aspirasi atau buang sempel dari sumur uji yang telah dilakukan inkubasi setelah 2 jam dan ditambahkan 300 μl *wash buffer* dan diulangi 3 kali. Preparat yang telah dicuci dengan *wash buffer* ditambahkan 100 μl *enzyme conjugate* ke dalam masing-masing sumur uji dan diinkubasi suhu $18^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Preparat yang telah diinkubasi selanjutnya dicuci dengan *wash buffer* 300 μl sebanyak 3 kali. Preparat yang telah dicuci menggunakan *wash buffer* diberikan 100 μl larutan pewarna atau substrat ke dalam masing-masing sumur dan inkubasi selama 15 menit pada suhu kamar. Preparat yang telah diwarnai diberikan 100 μl *stop solution* pada setiap sumur uji. Pemberian *stop solution* menyebabkan perubahan warna biru menjadi kuning. Preparat yang telah diberikan *stop solution* dilakukan pembacaan menggunakan alat fotometrik intensitas warna pada panjang gelombang 450 nm dan gelombang referensi antara 620 nm – 650 nm.

3.5.8 Cara Pengorbanan Hewan Coba

Tikus putih jantan galur Sprague-Dawley dieutanasi setelah dilakukan penelitian dengan cara menyuntikkan ketamin dosis letal (80 mg/kgBB) secara intraperitoneal.



3.6 Alur Penelitian



3.7 Tempat dan Waktu Penelitian

3.7.1 Tempat Penelitian

Laboratorium PSPG (Pusat Studi Pangan dan Gizi)
Universitas Gadjahmada Yogyakarta.

3.7.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli-September 2023.

3.8 Analisa Hasil

Skala data variabel Indeks Lee adalah rasio dan skala data variabel DKMA adalah nominal, setelah dilakukan induksi obesitas dilakukan uji pada kelompok perlakuan. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Uji Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Hasil uji didapatkan hasil data normal ($p > 0,05$) dan varian tidak homogen ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji menggunakan *Anova* untuk mengetahui perbandingan seluruh kelompok. Hasil uji *Anova* didapatkan hasil tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Setelah dilakukan perlakuan selama 30 hari dilakukan uji pada Indeks Lee. Uji normalitas menggunakan *Shapiro Wilk* dan homogenitas menggunakan *Uji Levene Test*. Hasil Uji didapatkan hasil terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan varian homogen ($p > 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji untuk membandingkan dua kelompok berpasangan yaitu Indeks Lee sebelum dilakukan perlakuan dan Indeks Lee setelah dilakukan perlakuan. Uji perbandingan menggunakan uji T-test Berpasangan. Hasil uji

menunjukkan hasil berbeda signifikan ($p < 0,05$) pada seluruh kelompok berpasangan.

Skala data variabel kadar vitamin D adalah rasio dan skala data variabel diet ketogenik modifikasi Atkins adalah nominal, terdapat empat kelompok tidak berpasangan, dan hipotesis merupakan hipotesis komparatif. Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan *Uji Shapiro-Wilk* dengan jumlah sampel $p < 30$ dan uji homogenitas data dilakukan dengan menggunakan *Levene's Test*. Hasil uji didapatkan data tidak normal ($p < 0,05$) dan varian tidak homogen ($p < 0,05$). Data yang diolah telah dilakukan transformasi menggunakan \log_{10} dan tetap didapatkan hasil uji tidak normal. Data selanjutnya diolah menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ maka keputusan yang diambil adalah menerima H_1 dan menolak H_0 . Hasil tersebut menunjukkan paling tidak terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar vitamin D berbeda secara signifikan. Data selanjutnya dilakukan uji *Mann-Whitney U* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji statistik *Mann-Whitney U* didapatkan nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa kadar vitamin D antar kelompok berbeda signifikan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi obesitas telah dilakukan terhadap 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok uji. Penelitian dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi (PSPG) Universitas Gadjah Mada pada tanggal 11 Agustus sampai 30 September 2023. Seluruh tikus tidak ada yang mengalami *drop out* sehingga dapat dianalisis hingga akhir.

Seluruh tikus dalam penelitian ini kecuali kelompok kontrol telah diinduksi obesitas selama 14 hari pada hari ke-7 sampai hari ke-21. Validasi indeks Lee dilakukan setelah masa induksi selama 14 hari. Indeks Lee didapatkan dengan rumus $\{\text{Berat badan (g)}^{1/3} / \text{panjang naso-anal (cm)} \times 10^3\}$ dan dinyatakan obesitas jika didapatkan hasil lebih dari 300. Pengukuran indeks Lee setelah dilakukan induksi obesitas ditampilkan pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rerata Indeks Lee Seluruh Kelompok Setelah dilakukan Induksi

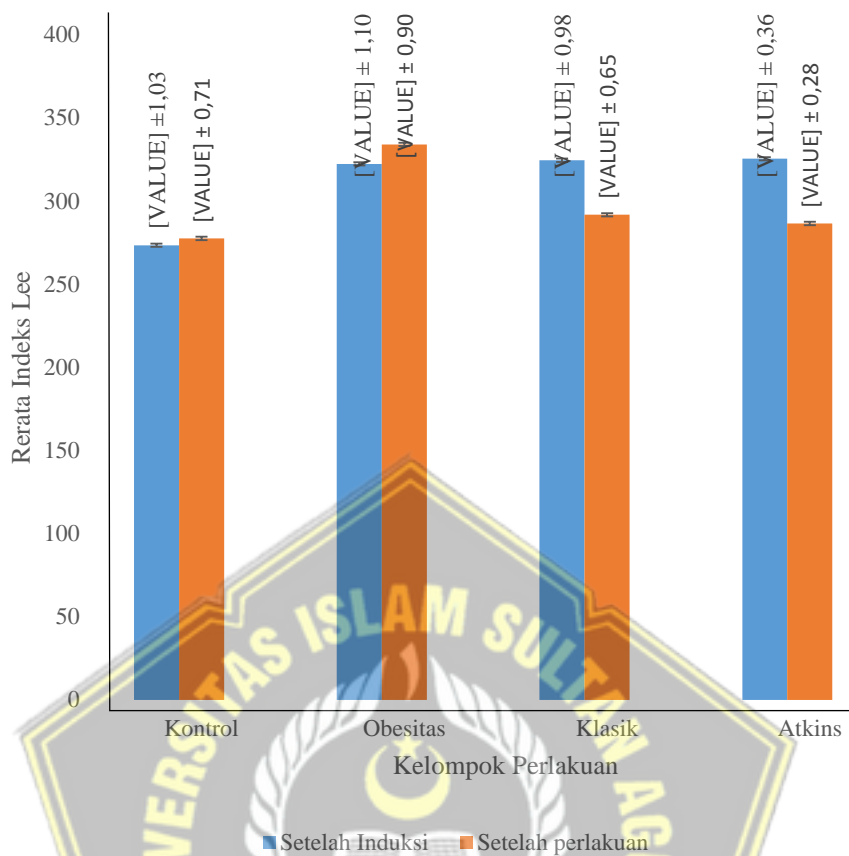
Kelompok	Rerata Ukuran Indeks Lee	Shapiro-Wilk	Levene Statistic	Anova
Kontrol	273,46±1,03	-	-	-
Obesitas	322,41±1,10	0,354	0,010	0,068***
DKK	324,58±0,98	0,553		
DKMA	325,49±0,36	0,894		

*** Tidak berbeda signifikan $P > 0,05$ (Kelompok yang dilakukan pengujian yaitu kelompok obesitas, DKK, dan DKMA)

Berdasarkan data pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang tidak diinduksi obesitas memiliki nilai indeks Lee yang jauh lebih kecil bila dibandingkan dengan kelompok obesitas, kelompok DKK, dan kelompok DKMA yang telah diinduksi obesitas dengan HFHF.

Hasil uji *Shapiro-Wilk* data rerata indeks Lee pada kelompok obesitas, DKK, dan DKMA diperoleh $p > 0,05$ yang berarti data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas *Levene statistic* diperoleh $p < 0,05$ yang berarti data memiliki varian data yang tidak homogen. Hasil uji *One Way Anova* $p=0,068$ ($p > 0,05$) yang berarti bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok terhadap rerata nilai indeks Lee setelah diinduksi obesitas. Hasil ini menunjukkan bahwa ketiga kelompok yang sudah diinduksi obesitas *comparable* dan selanjutnya bisa dilakukan pemberian perlakuan sesuai kelompok.

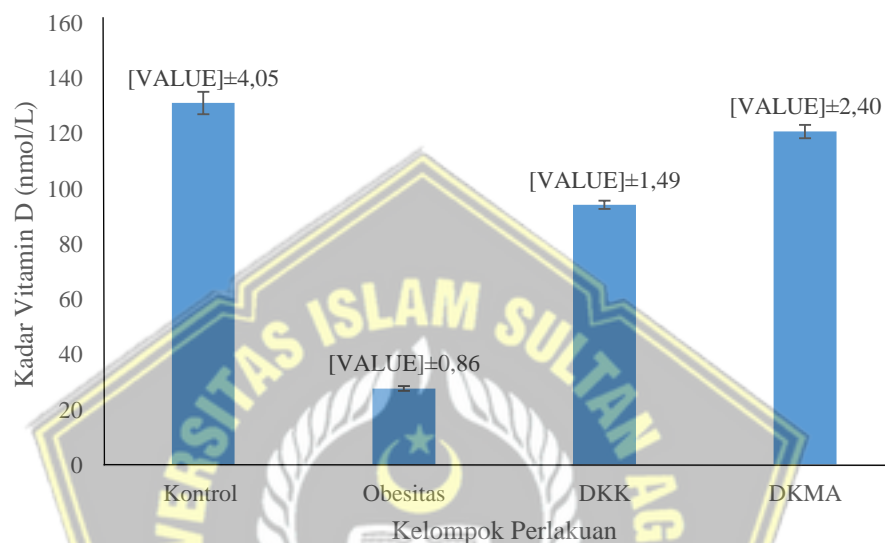
Tikus pada kelompok obesitas, kelompok DKK, dan kelompok DKMA dilakukan perlakuan sesuai kelompok selama 30 hari. Perubahan indeks Lee setelah dilakukan perlakuan ditampilkan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Diagram batang perbedaan rerata indeks Lee setelah induksi obesitas dan setelah perlakuan

Kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins merupakan kelompok yang memiliki indeks Lee yang paling mendekati kelompok kontrol setelah dilakukan perlakuan. Hasil uji T-berpasangan antara rerata indeks Lee setelah induksi dan rerata indeks Lee setelah perlakuan didapatkan $p= 0,002$ (Hasil uji T-test berpasangan terdapat pada Lampiran 6) yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rerata indeks Lee setelah induksi obesitas dan rerata indeks Lee setelah perlakuan.

Kadar serum vitamin D diperiksa menggunakan ELISA pada panjang gelombang 450 nm di hari ke-52. Rerata kadar vitamin D (nmol/L) pada semua kelompok tercantum pada Gambar 4.2



Gambar 4.2 Diagram batang rerata kadar vitamin D pada semua kelompok

Berdasarkan data pada Gambar 4.2 didapatkan rerata kadar vitamin D pada kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins ($120,85 \pm 2,40$ nmol/L) lebih tinggi dibandingkan rerata kelompok obesitas ($27,81 \pm 0,86$ nmol/L) dan kelompok diet ketogenik modifikasi klasik ($94,36 \pm 1,49$ nmol/L), namun tetap lebih rendah dibandingkan rerata kelompok kontrol ($131,2 \pm 4,05$ nmol/L). Rerata kadar vitamin D pada kelompok diet ketogenik klasik ($94,36 \pm 1,49$ nmol/L) lebih tinggi dibandingkan kelompok obesitas ($27,81 \pm 0,86$ nmol/L) tetapi masih lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ($131,2 \pm 4,05$ nmol/L) dan kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins ($120,85 \pm 2,40$ nmol/L). Hasil uji *Shapiro wilk* dan *Levene test* rerata

pada kadar vitamin D didapatkan $p < 0,05$, sehingga rerata kadar vitamin D tidak normal dan tidak homogen. Rerata data pada vitamin D telah dilakukan transformasi log (10), namun data tetap tidak normal, sehingga uji hipotesis dialihkan ke non-parametrik menggunakan *Kruskal Wallis* dengan hasil seperti pada Tabel 4.2

Tabel 4.2 Hasil Uji Statistik Rerata Kadar Vitamin D

Kelompok	Rerata kadar Vitamin D (nmol/L)	<i>Shapiro-Wilk</i>	<i>Levene Statistic</i>	<i>Kruskal Wallis</i>
Kontrol	131,20±4,05	-	-	-
Obesitas	27,81±0,86	0,037		
DKK	94,36±1,49	0,318	0,040	0,000*
Atkins	120,85±2,40	0,181		

* $P < 0,05$ dinyatakan berbeda signifikan

Hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan nilai $p = 0,00$ ($p < 0,05$) maka keputusan yang diambil adalah menerima H_1 dan menolak H_0 . Hasil tersebut menunjukkan paling tidak terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar vitamin D berbeda secara signifikan. Berdasarkan data di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian diet ketogenik modifikasi Atkins berpengaruh secara signifikan terhadap peningkatan kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diinduksi obesitas dengan HFHF. Perbedaan antar kelompok dilakukan menggunakan *Mann Whitney* seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji Mann Whitney terhadap Kadar Vitamin D pada Keempat Kelompok

Kelompok	Kontrol	Obesitas	DKK	DKMA
Kontrol	-	0,000*	0,000*	0,000*
Obesitas	0,000*	-	0,000*	0,000*
DKK	0,000*	0,000*	-	0,000*
DKMA	0,000*	0,000*	0,000*	-

* $P < 0,05$ dinyatakan berbeda signifikan

Hasil uji *Mann Whitney* didapatkan nilai $p < 0,05$ yang berarti bahwa adanya perbedaan yang bermakna antara rerata kadar vitamin D pada kelompok kontrol dan obesitas ($p=0,000$); kontrol dan klasik ($p=0,000$); kontrol dan Atkins ($p=0,000$); obesitas dan klasik ($p=0,000$); obesitas dan Atkins ($p=0,000$); klasik dan Atkins ($p=0,000$). Berdasarkan data di atas dapat disimpulkan bahwa kadar serum vitamin D antar kelompok berbeda signifikan.

4.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi obesitas dengan pemberian induksi HFHF berhasil. Hal tersebut dibuktikan dengan nilai indeks Lee pada tikus kelompok yang diinduksi obesitas > 300 . Rerata indeks Lee tikus putih galur Sprague Dawley pada kelompok yang diinduksi HFHF lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol ($273,46 \pm 2,54$ gram). Peningkatan ukuran indeks Lee tikus jantan putih galur Sprague Dawley membuktikan bahwa penginduksian HFHF selama 14 hari berhasil membuat tikus dalam kondisi obesitas. Hal ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang

menyatakan bahwa intervensi diet induksi obesitas dapat dilakukan selama 8 hari – 27 minggu (Kimura *et al.*, 2018). Induksi obesitas menggunakan lemak jenuh karena dapat menimbulkan timbunan lemak yang lebih banyak akibat dari sintesis trigliserid dan meningkatkan sitokin pro-inflamasi (Dias, 2021). Induksi obesitas menggunakan fruktosa menjadikan tikus lebih cepat dalam peningkatan berat badan. Diet tinggi fruktosa akan menyebabkan aktivasi enzim *lipogenic* yang akan meningkatkan lipogenesis. Peningkatan lipogenesis akan berdampak pada peningkatan kadar kolesterol darah dan akumulasi lemak di hepar (Kolderup dan Svihus, 2015). Metabolisme yang dijabarkan di atas menjadikan induksi obesitas menggunakan *high fat high fructose* berhasil.

Rerata indeks Lee setelah perlakuan pada kelompok obesitas menunjukkan nilai yang paling tinggi yaitu $334,10 \pm 0,90$, sedangkan rerata indeks Lee pada kelompok kontrol merupakan nilai yang paling rendah yaitu $277,59 \pm 0,71$. Rerata indeks Lee pada kelompok DKMA ($286,54 \pm 0,28$) lebih rendah dibandingkan pada kelompok DKK ($291,79 \pm 0,65$). Pemberian perlakuan menunjukkan penurunan indeks Lee pada kelompok DKMA lebih signifikan dibandingkan dengan kelompok DKK. Kalori yang diberikan antara kelompok DKMA dan DKK merupakan kalori yang seimbang yaitu 36 kkal/hari, namun terdapat perbedaan komposisi pakan antara dua kelompok tersebut. Komposisi pakan antara DKMA dan DKK terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah protein yang diberikan. DKMA menggunakan komposisi protein 30% sedangkan DKK menggunakan komposisi protein

6%. Tubuh akan mengalami kenaikan efek termal jika mengonsumsi protein sehingga DKMA memiliki penurunan berat badan yang lebih signifikan jika dibandingkan dengan DKK karena DKMA mengalami pembakaran protein dalam tubuh lebih besar daripada DKK. DKMA dan DKK terdapat perbedaan komposisi karbohidrat dan lemak. Kelompok DKMA memiliki komposisi karbohidrat 5% dan lemak 65% sedangkan kelompok DKK memiliki komposisi karbohidrat 4% dan lemak 90%. Retriksi karbohidrat dan lemak lebih kecil yang digunakan pada DKMA dapat menurunkan berat badan pada obesitas. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang menyatakan diet menggunakan perubahan komposisi makronutrien dengan jumlah kalori yang sama berhasil menurunkan berat badan disertai dengan penurunan masa lemak dalam 8 minggu (Goss, 2014).

Kadar vitamin D pada kelompok kontrol ($131,20 \pm 4,05$ nmol/L) merupakan kadar yang paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Kadar vitamin D pada kelompok kontrol merupakan kondisi optimal vitamin D dalam serum karena tidak terjadi perubahan metabolisme penyerapan kadar vitamin D berlebih oleh lemak intraperitoneal dan tidak terjadi gangguan fungsi hati dan ginjal yang berpengaruh dalam metabolisme vitamin D. Hal ini sejalan dengan penelitian yang mengatakan kadar optimal vitamin D dalam serum adalah 30-50 ng/mL (75-125 nmol/L) (Płodowski, 2023).

Kadar vitamin D pada kelompok obesitas lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok kontrol, DKK, dan DKMA. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Putu (2018) dan Zakharova

(2019). Induksi HFHF menyebabkan obesitas dan peningkatan jaringan adiposa. Jaringan adiposa yang meningkat dapat menyebabkan hipertrofi adiposa, deposit lemak ektopik, dan hipoksia yang menyebabkan sekresi adipokin. Hipertrofi adiposa akan mensekresi faktor proinflamasi (leptin, IL-6, IL-8) yang menyebabkan penurunan kadar vitamin D (Putu *et al.*, 2018 ; Zakharova *et al.*, 2019).

Kadar vitamin D pada kelompok obesitas sebesar $(27,81 \pm 0,86$ nmol/L). Kelompok obesitas merupakan kelompok yang memiliki kadar vitamin D paling rendah. Volume darah penderita obesitas lebih tinggi sehingga konsentrasi 25 hidroksivitamin D menjadi lebih rendah. 25 hidroksivitamin D didistribusikan ke dalam serum, otot, lemak, dan hati yang meningkat pada penderita obesitas (Walsh *et al.*, 2017). Metabolisme vitamin D pada obesitas dan IMT normal terdapat perbedaan. Obesitas mengalami peningkatan jaringan adipose yang mengakibatkan terjadinya penyerapan vitamin D. Teori tersebut sejalan dengan penelitian yang mengatakan kelompok obesitas mengalami penurunan sitokrom P450 yang mengkode enzim 25 hidroksilase dan 1α -hidroksilase yang bertugas mengkonversi 25 hidroksivitamin D menjadi $1,25$ hidroksivitamin D di jaringan adipose dibandingkan IMT normal (Wamberg *et al.*, 2013).

Kadar vitamin D pada kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins sebesar $120,85 \pm 2,40$ nmol/L. Kelompok DKMA merupakan kelompok yang paling mendekati kadar vitamin D kelompok normal. Kelompok DKMA memiliki kadar vitamin D yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan DKK

($94,36 \pm 1,49$ nmol/L). Penurunan berat badan yang lebih signifikan pada DKMA menjadikan peningkatan kadar vitamin D lebih baik dibandingkan DKK. Kelompok DKMA dan DKK memiliki perbedaan komposisi lemak pada komposisi makanan. Lemak merupakan bahan baku *cholecalciferol* di dalam kulit yang akan dikonversi menjadi vitamin D (Keane *et al.*, 2018). Asupan komposisi lemak yang lebih tinggi pada DKK seharusnya terjadi pembentukan *cholecalciferol* yang lebih banyak namun DKMA lebih baik dalam menangani obesitas. Penderita obesitas mengalami kegagalan konversi vitamin D sehingga DKMA memiliki kadar vitamin D yang lebih tinggi (Putu *et al.*, 2018).

Kadar vitamin D pada kelompok diet ketogenik modifikasi Atkins yang lebih tinggi juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Penelitian sebelumnya menyatakan asupan DKMA berpengaruh terhadap fungsi ginjal. Penurunan fungsi ginjal akan mengakibatkan penurunan enzim 1α -hidroksilase sehingga terjadi penghambatan aktivasi 25 hidroksivitamin D menjadi 1,25 hidroksivitamin D (Molteberg *et al.*, 2022). Sebuah penelitian menyebutkan jika pemberian diet ketogenik dapat mengakibatkan penurunan kadar leptin (Fraser *et al.*, 2000). Leptin dan sekresi paratiroid hormon terdapat hubungan dalam metabolisme vitamin D. Penurunan kadar leptin pada pasien DKMA mempengaruhi kelenjar paratiroid dan mengakibatkan penurunan kadar PTH (Molteberg *et al.*, 2022). Penurunan kadar PTH juga mengurangi konversi 25 hidroksivitamin D menjadi 1,25 hidroksivitamin D yang pada akhirnya mengakibatkan penurunan 1,25 hidroksivitamin D dan

peningkatan 25 hidrosivitamin D. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang menyatakan pemberian DKMA akan terjadi peningkatan calsiol dan penurunan calsitriol (Molteberg *et al.*, 2022). Kadar 1,25 hidroksivitamin D perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

Penelitian pengaruh diet ketogenik modifikasi Atkins terhadap vitamin D masih terdapat keterbatasan. Penelitian ini perlu melakukan analisis lebih lanjut mengenai jumlah lemak intraperitoneal, kadar PTH dan 1,25 hidroksivitamin D.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

5.1.1 Pemberian diet ketogenik modifikasi Atkins berpengaruh terhadap kadar Vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley model obesitas.

5.1.2 Rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diberi pakan standar dan aquades adalah $131,20 \pm 4,05$ nmol/L.

5.1.3 Rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley model obesitas tanpa diet ketogenik adalah $27,81 \pm 0,86$ nmol/L.

5.1.4 Rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diberi pakan diet ketogenik klasik adalah $94,36 \pm 1,49$ nmol/L.

5.1.5 Rerata kadar vitamin D pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang diberi pakan diet ketogenik modifikasi Atkins adalah $120,85 \pm 2,40$ nmol/L.

5.1.6 Rerata kadar vitamin D antar kelompok berbeda signifikan ($p < 0,05$).

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran terkait dengan keterbatasan penelitian ini adalah:

- 5.2.1 Perlu diteliti mengenai kadar PTH yang berada pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley.
- 5.2.2 Perlu diteliti mengenai jumlah lemak intraperitoneal pada tikus putih jantan galur Sprague-Dawley model obesitas.
- 5.2.3 Perlu diteliti mengenai kadar 1,25 hidroksivitamin D yang berada pada tikus putih jantan galur Sprague Dawley model obesitas.



DAFTAR PUSTAKA

- Agriculture, U. S. D. of (2023) *Food Data Central*. Available at: <https://fdc.nal.usda.gov/index.html> (Accessed: 23 March 2023).
- Ardiansyah, S. A., Hidayat, S.- and Simbolon, N. S. (2018) 'Uji Aktivitas Antiobesitas Dari Ekstrak Etanol Daun Malaka (*Phyllanthus Emblica* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar', *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 7(1), pp. 18–29. doi: 10.58327/jstfi.v7i1.71.
- Ayasasmita R, F. S. *et al.* (2022) 'Pengaruh Diet Ketogenik terhadap Ketebalan dan Elastisitas Arteri Karotis pada Pasien Epilepsi: A Systematic Review', *Amerta Nutrition*, 6(1), p. 112. doi: 10.20473/amnt.v6i1.2022.112-121.
- Barchetta, I., Cimini, F. A. and Cavallo, M. G. (2020) 'Fatty Liver Disease (MAFLD): An Update'. *Nutrient* vol. 12,11 3302. 28 Oct 2020, doi: 10.1016/j.appet.2017.07.002
- Blancas-Velazquez, A., la Fleur, S. E. and Mendoza, J. (2017) 'Effects of a free-choice high-fat high-sugar diet on brain PER2 and BMAL1 protein expression in mice', *Appetite*, 117, pp. 263–269. doi: 10.1016/j.appet.2017.07.002.
- Boutari, C. and Mantzoros, C. S. (2022) 'A 2022 update on the epidemiology of obesity and a call to action: as its twin COVID-19 pandemic appears to be receding, the obesity and dysmetabolism pandemic continues to rage on', *Metabolism: Clinical and Experimental*. doi: 10.1016/j.metabol.2022.155217.
- Caprio, M. *et al.* (2019) 'Very-low-calorie ketogenic diet (VLCKD) in the management of metabolic diseases: systematic review and consensus statement from the Italian Society of Endocrinology (SIE)', *Journal of Endocrinological Investigation*, 42(11), pp. 1365–1386. doi: 10.1007/s40618-019-01061-2.
- Chin, K. Y., Ima-Nirwana, S. and Wan Ngah, W. Z. (2015) 'Vitamin D is significantly associated with total testosterone and sex hormone-binding globulin in Malaysian men', *Aging Male*, 18(3), pp. 175–179. doi: 10.3109/13685538.2015.1034686.
- Colica, C. *et al.* (2017) 'Efficacy and safety of very-low-calorie ketogenic diet: A double blind randomized crossover study', *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 21(9), pp. 2274–2289.
- Daniel D. Bikle (2014) 'Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications', *Bone*, 23(1), pp. 1–7. doi:

10.1016/j.chembiol.2013.12.016.Vitamin.

Dawson-Hughes, B. *et al.* (2015) 'Dietary fat increases vitamin d-3 absorption', *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(2), pp. 225–230. doi: 10.1016/j.jand.2014.09.014.

Detopoulou, P. *et al.* (2022) 'Ketogenic Diet and Vitamin D Metabolism: A Review of Evidence', *Metabolites*, 12(12), p. 1288. doi: 10.3390/metabo12121288.

Diana, R. and Raditya Atmaka, D. (2020) 'Ketogenic Diet for Weight Loss and Its Implication on Health: a Literature Study', *Media Gizi Indonesia*, 15(3), p. 184. doi: 10.20473/mgi.v15i3.184-193.

de Moura e Dias, M., dos Reis, S.A., da Conceicao, L.L. *et al.*, 2021' Diet-Induced obesity in animal models' *Diabetol Metab Syndr* 13, 32 (2021). <https://doi.org/10.1186/s13098-021-00647-2>

Faurschou, A. *et al.* (2012) 'The relation between sunscreen layer thickness and vitamin D production after ultraviolet B exposure: A randomized clinical trial', *British Journal of Dermatology*, 167(2), pp. 391–395. doi: 10.1111/j.1365-2133.2012.11004.x.

Gano, L. B., Patel, M. and Rho, J. M. (2016) 'Ketogenic Diets for Neurological Disorders', *Homeostatic Control of Brain Function*, pp. 248–270. doi: 10.1093/med/9780199322299.003.0015.

Goncalves, A. *et al.* (2013) 'Fatty acids affect micellar properties and modulate vitamin D uptake and basolateral efflux in Caco-2 cells', *Journal of Nutritional Biochemistry*, 24(10), pp. 1751–1757. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.03.004.

Holick, M. F. *et al.* (2011) 'Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline', *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 96(7), pp. 1911–1930. doi: 10.1210/jc.2011-0385.

Irawan, R. (2018) *Diet Ketogenik pada Anak Penderita Epilepsi dan Sindroma Epilepsi*. Airlangga University Press.

Jean, G., Souberbielle, J. C. and Chazot, C. (2017) 'Vitamin D in chronic kidney disease and dialysis patients', *Nutrients*, 9(4), pp. 1–15. doi: 10.3390/nu9040328.

Jennifer (2022) 'Hubungan Defisiensi Vitamin D Terhadap Obesitas Pada Dewasa', *Bone Abstracts*, (2022), pp. 2284–2291. doi: 10.1530/boneabs.1.es2.3.

- Keane, J. T. *et al.* (2018) 'Vitamin D and the liver—correlation or cause?', *Nutrients*, 10(4), pp. 1–19. doi: 10.3390/nu10040496.
- Kemenkes RI (2019) '*pengelolaan Obesitas Kemenkes*'.
- Kim, J. A. *et al.* (2016) 'Efficacy of the classic ketogenic and the modified Atkins diets in refractory childhood epilepsy', *Epilepsia*, 57(1), pp. 51–58. doi: 10.1111/epi.13256.
- Kimura, Y. *et al.* (2018) 'Development of a new diet-induced obesity (DIO) model using wistar lean rats', *Experimental Animals*, 67(2), pp. 155–161. doi: 10.1538/expanim.17-0079.
- Kolderup, A. and Svihus, B. (2015) 'Fructose Metabolism and Relation to Atherosclerosis, Type 2 Diabetes, and Obesity', *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2015. doi: 10.1155/2015/823081.
- Kumar, V., Abbas, A. and Aster, J.C. eds, (2018). *Robbins basic Pathology* e-book. Elsevier Health Sciences
- Makris, K., Sempos, C. and Cavalier, E. (2020) 'The measurement of vitamin D metabolites part II—the measurement of the various vitamin D metabolites', *Hormones*, 19(2), pp. 97–107. doi: 10.1007/s42000-020-00188-9.
- Malafaia, A. B. *et al.* (2013) 'Obesity induction with high fat sucrose in rats.', *Arquivos brasileiros de cirurgia digestiva: ABCD = Brazilian archives of digestive surgery*, 26 Suppl 1(Suplemento 1), pp. 17–21.
- Masino, S. A. (2017) *Ketogenic Diet And Metabolic Therapies. Expanded Roles in Health and Disease*. New York: Oxford University Press.
- Mauliza, M. (2018) 'Obesitas Dan Pengaruhnya Terhadap Kardiovaskular', *AVERROUS: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Malikussaleh*, 4(2), p. 89. doi: 10.29103/averrous.v4i2.1040.
- Maurya, V. K. and Aggarwal, M. (2017) 'Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview', *Journal of Food Science and Technology*, 54(12), pp. 3753–3765. doi: 10.1007/s13197-017-2840-0.
- Molteberg, E. *et al.* (2022) 'Substantial early changes in bone and calcium metabolism among adult pharmaco-resistant epilepsy patients on a modified Atkins diet', *Epilepsia*, 63(4), pp. 880–891. doi: 10.1111/epi.17169.
- Nasution, Siagian, A. and Lubis, R. (2018) 'Hubungan Obesitas Terhadap Kejadian Diabetes Melitus Tipe 2 Pada Wanita Usia Subur Di Wilayah Kerja Puskesmas Pintupadang', *Jurnal Muara Sains, Teknologi,*

Kesehatan, dan Ilmu Kesehatan, 2(1), pp. 240–246.

- Oktavia, S. N. (2019) ‘Hubungan Kadar Vitamin D Dalam Darah Dengan Kejadian Obesitas Pada Siswa Sma Pembangunan Padang’, *Jurnal Akademika Baiturrahim Jambi*, 8(1), p. 1. doi: 10.36565/jab.v8i1.97.
- Parasuraman, S., Raveendran, R. and Kesavan, R. (2010) ‘Blood sample collection in small laboratory animals’, *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 1(2), pp. 87–93. doi: 10.4103/0976-500X.72350.
- Pludowski, P. (2023) ‘Guidelines for Preventing and Treating of Vitamin D Deficiency: an Ukrainian approach A.D. 2023’, *Pain, Joints, Spine*, 13(2), pp. 58–59. doi: 10.22141/pjs.13.2.2023.367.
- Putu, L. *et al.* (2018) ‘Defisiensi vitamin d pada obesitas’, *Sport and Fitness Journal* 6 (1), pp.1-5. doi: 10.24843/spj.2018.v06.i01.p01
- Salinero, A. E., Anderson, B. M. and Zuloaga, K. L. (2018) ‘Sex differences in the metabolic effects of diet-induced obesity vary by age of onset’, *International Journal of Obesity*, 42(5), pp. 1088–1091. doi: 10.1038/s41366-018-0023-3.
- Saponaro, F., Saba, A. and Zucchi, R. (2020) ‘An update on vitamin d metabolism’, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(18), pp. 1–19. doi: 10.3390/ijms21186573.
- Sengupta, P. (2013) ‘The laboratory rat: Relating its age with human’s’, *International Journal of Preventive Medicine*, 4(6), pp. 624–630.
- Shapses, S. A. *et al.* (2013) ‘Vitamin D supplementation and calcium absorption during caloric restriction: A randomized double-blind trial1-3’, *American Journal of Clinical Nutrition*, 97(3), pp. 637–645. doi: 10.3945/ajcn.112.044909.
- Sofa, I. M. (2018) ‘Kejadian Obesitas, Obesitas Sentral, dan Kelebihan Lemak Viseral pada Lansia Wanita’, *Amerta Nutrition*, 2(3), p. 228. doi: 10.20473/amnt.v2i3.2018.228-236.
- Tan, E. I. A., Irfannuddin, I. and Murti, K. (2019) ‘Pengaruh Diet Ketogenik Terhadap Proliferasi Dan Ketahanan Sel Pada Jaringan Pankreas’, *Jambi Medical Journal ‘Jurnal Kedokteran dan Kesehatan’*, 7(1), pp. 102–116. doi: 10.22437/jmj.v7i1.7127.
- Thompson, L. *et al.* (2017) ‘Use of the ketogenic diet in the neonatal intensive care unit—Safety and tolerability’, *Epilepsia*, 58(2), pp. e36–e39. doi: 10.1111/epi.13650.
- Walsh, J. S., Bowles, S. and Evans, A. L. (2017) ‘Vitamin D in obesity’, *Current*

Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity, 24(6), pp. 389–394. doi: 10.1097/MED.0000000000000371.

- Wamberg, L. *et al.* (2013) ‘Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue - The effect of obesity and diet-induced weight loss’, *International Journal of Obesity*, 37(5), pp. 651–657. doi: 10.1038/ijo.2012.112.
- Wansyaputri, R. R., Ekawaty, F. and Nurlinawati, N. (2021) ‘Hubungan Pola Makan Dan Aktivitas Fisik Terhadap Kejadian Obesitas Pada Anak Usia Sekolah Dasar di SDN 49/IV Kota Jambi’, *Jurnal Ilmiah Ners Indonesia*, 1(2), pp. 103–112. doi: 10.22437/jini.v1i2.15442.
- WHO Western Pacific Region (2000) ‘The Asia Pacific perspective: Redefining obesity and its treatment. Regional Office for the Western Pacific of the World Health Organization. World Health Organization, International Association for the Study of Obesity and International Obesity Task Forc’, pp. 8–45.
- Yan, X. *et al.* (2019) ‘Gender differences in Vitamin D status in China’, *Medical Science Monitor*, 25, pp. 7094–7099. doi: 10.12659/MSM.916326.
- Zakharova, I. *et al.* (2019) ‘Vitamin D insufficiency in overweight and obese children and adolescents’, *Frontiers in Endocrinology*, 10(MAR). doi: 10.3389/fendo.2019.00103.
- Zhou, H. and Hylemon, P. B. (2014) ‘Bile acids are nutrient signaling hormones’, *Steroids*, 86(May), pp. 62–68. doi: 10.1016/j.steroids.2014.04.016.

