

PENGARUH FREKUENSI STRES FISIK (*FORCED SWIMMING*) TERHADAP KADAR LEPTIN SERUM TIKUS BETINA

Risqy Amalia Sari*, Ariani Ratri Dewi**, Rahma Triliana**

*Mahasiswi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang,

**Staf Pengajar Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
risqyamalia20@gmail.com

ABSTRAK

Introduction: Physical activity is a planned, structured and repetitive exercise which affects serum leptin levels. During strenuous physical exercise, physical stress can occur leading to various health hazards. Frequency of physical exercise plays a role in determining when physical activity turns into a physical stress which affects serum leptin levels. However, which frequency affects serum leptin levels is unknown. Therefore, this study aims to determine the effect of various frequency of physical stress on serum leptin levels in female rats.

Methods: This study was conducted using control group post test only design with 5 groups (n = 6 each). Female rats age 11 weeks old were divided into KNPP (pretreatment group), control (KNP) and various physical stress given daily (KSHN), every two days (KDHN), and twice a week (KSKN). Physical stress was given by forced swimming for 5 minutes without adaptation and was conducted for 4 weeks. At 15 weeks of age, all rats were sacrificed and serum samples were collected. Leptin levels were measured using Rat-ELISA-Leptin Kit and results were analyzed using One Way Anova test followed by post test hoc LSD test and p is set at <0.05.

Results: There was no significant difference between pretreatment and negative control suggesting that leptin levels were unchanged in non-exercised groups. KNP (4.41 ± 0.65) was significantly different with KDHN (3.41 ± 0.41 , $p = 0.003$) and KSHN (3.5 ± 0.47 , $p = 0.007$). There is also a significant difference between KDHN and KSHN ($p = 0.018$) suggesting a lower level of leptin in the serum of exercised animals.

Conclusion: Various frequency of physical stress is able to decrease serum leptin levels in female rats subjected to forced swimming.

Keyword : Leptin, frequency of physical stress, female.

PENDAHULUAN

Aktivitas fisik merupakan latihan yang terencana, terstruktur dan berulang.¹ Aktivitas fisik memiliki hubungan dengan leptin, penelitian yang telah dilakukan di fakultas kedokteran di salah satu universitas di Turki menyatakan bahwa aktivitas fisik mampu memperbaiki reseptor leptin pada individu yang mengalami resistensi leptin. Namun latihan fisik dengan durasi yang panjang dan melampaui kemampuan fisik dapat menyebabkan terjadinya stress fisik dan tekanan psikologis.

Stres fisik berpengaruh terhadap kadar leptin dalam darah.² Stres fisik akan mengakibatkan sekresi kortisol yang diatur oleh *Adrenocorticotrophic hormone* (ACTH) setelah dirangsang oleh *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH).³ Hormon kortisol yang tinggi akan menyebabkan terjadinya lipolisis^{4,5} sehingga terjadi penurunan simpanan energi yang dapat menurunkan kadar leptin dalam darah.

Leptin merupakan protein dengan berat molekul 16 kDa, yang disintesis terutama oleh jaringan adiposa sebagai gen yang berperan dalam terjadinya obesitas.⁶ Fungsi utama leptin adalah sebagai sinyal kecukupan energi pada sistem saraf pusat sehingga dapat melakukan penyesuaian yang dibutuhkan untuk menyeimbangkan asupan energi dan pengeluaran.^{7,8} Resistensi leptin biasanya terjadi pada individu yang obesitas.⁴ Kadar leptin dipengaruhi berbagai faktor salahsatunya aktivitas fisik.²

Berdasarkan penelitian Nikmah pada tahun 2017, perbedaan hasil kadar leptin akibat stress fisik dapat terjadi karena perbedaan tingkat terjadinya paparan stress fisik.⁹ Namun penelitian yang menggabungkan pengukuran kadar leptin dengan berbagai frekuensi stress fisik belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu penelitian ini melakukan pemberian stress fisik dalam interval waktu setiap hari, seminggu 2 kali, dan seminggu 3 kali, untuk mengetahui hal tersebut. Interval waktu yang diberikan berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan pada tikus Wistar betina dengan pembatasan waktu makan.

METODE

Desain penelitian menggunakan *control group post test only* secara *in vivo*, menggunakan tikus Wistar betina normal untuk mengetahui pengaruh frekuensi stress fisik pada kadar leptin serum, secara eksperimental laboratorium. Penelitian ini dilaksanakan di *Animal House* Fakultas Kedokteran UMM dilanjutkan di *Animal House* Fakultas Kedokteran Unisma, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unisma dan Laboratorium Faal Universitas Brawijaya, pelaksanaan penelitian selama 5 bulan pada Bulan Januari 2018 sampai bulan Mei 2018.

Penelitian ini telah mendapat surat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan nomor 851-KEP-UB dan disetujui pada tanggal 2 Januari

2018.

Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan yaitu tikus Wistar (biakan lokal) yang berusia 5 minggu dalam kondisi sehat dan tidak sedang hamil dan berat badan 100-200 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok antara lain Kelompok Normal Pra Perlakuan (KNPP) diberikan diet normal selama 6 minggu (n=6), Kontrol Normal Perlakuan (KNP) diberi diet normal tanpa stress fisik (n=6), Kelompok Senin Kamis (KSKN) diberi diet normal dengan stress fisik setiap senin kamis (n=6), Kelompok Dua Hari (KDHN) diberi diet normal dengan stress fisik setiap dua hari (n=6), Kelompok Setiap Hari (KSHN) diberi diet normal dengan stress fisik setiap hari (n=6).

Pemberian Diet

Komposisi diet standar yakni konsentrat pakan ayam (PARS) 20g/ekor, tepung terigu Cakra Kembar 10g/ekor, dan air secukupnya. Diet standar diberikan pada seluruh kelompok tikus.

Perlakuan Stress Fisik

Tikus yang sudah berusia 11 minggu dipisahkan dalam *single cages* dan mulai diberikan stress fisik berupa berenang pada sore hari (pukul 16.00-19.00) selama 5 menit. Air yang digunakan untuk berenang adalah air hangat dengan suhu sekitar 30°C-32 °C. Setelah berenang selama 5 menit, tikus dikeringkan badannya dengan handuk dan *hairdryer* dengan jarak 20 cm. Perlakuan stress fisik dilakukan selama 4 minggu.

Pembedahan Hewan Coba

Pembedahan tikus dilakukan berusia 15 minggu. Tikus dianestesi dengan memasukkannya dalam wadah berisi kapas dan kloroform. Setelah tikus tidak bergerak langsung diletakkan di atas papan kayu telah dilapisi underped lalu dilakukan pemotongan pada toraks serta diambil darah secara intrakardial.

Pengambilan Sampel Darah

Pembiusan tikus dilakukan dengan kloroform. Setelah tikus tidak sadar, langsung dilakukan pengambilan darah intrakardial sebanyak 5 cc dengan membuka bagian toraks, kemudian darah dimasukkan ke dalam *vacutainer* tanpa EDTA kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Setelah itu serum diambil menggunakan mikropipet sebanyak 700 µl lalu dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf untuk dilakukan pemeriksaan kadar leptin.

Pemeriksaan Kadar Leptin

Pemeriksaan kadar leptin menggunakan ELISA. Standart dan sampel dimasukkan ke dalam sumur, lalu dilakukan inkubasi pada suhu ruangan, tutup sumur dengan plastik dan dalam posisi sejajar. Setelah diinkubasi, *well plate* dicuci dengan larutan

wash solution menggunakan alat ELISA washer. Enzim yang telah diencerkan dimasukkan ke masing-masing well kemudian ditutup dengan aluminium foil (dalam keadaan gelap) kemudian diinkubasi. Setelah itu dilakukan pencucian kembali.

Teknik Analisis Data

Analisis dan uji statistik yang digunakan untuk kadar leptin serum menggunakan uji *One Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui perbedaan

bermakna antar perlakuan yang dibandingkan dengan $p < 0,05$.

HASIL DAN ANALISIS DATA Karakteristik Populasi Penelitian

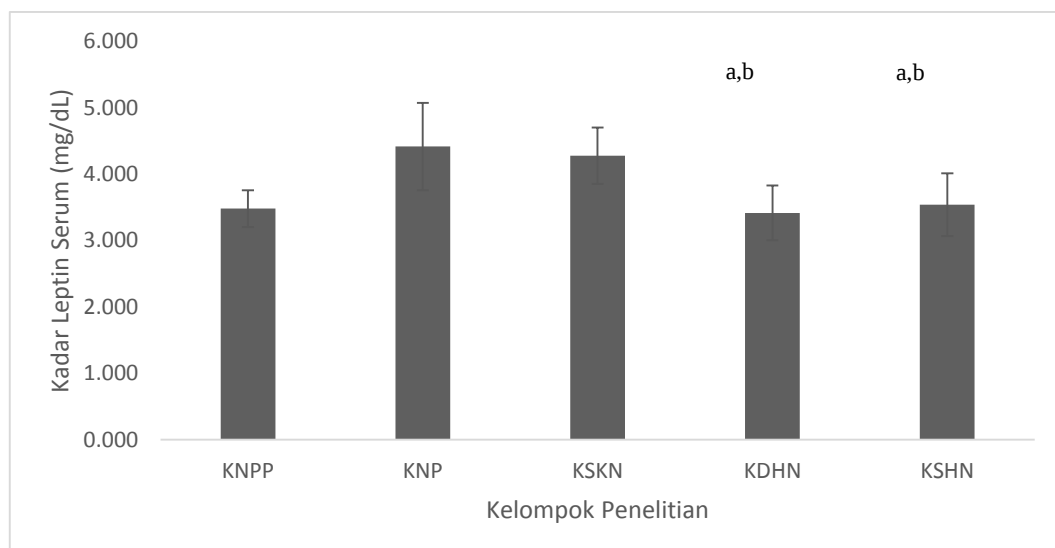
Penelitian dilaksanakan dalam dua tahapan yaitu tahap induksi dan tahap perlakuan. Data karakteristik sampel tikus pra perlakuan dapat dilihat Tabel 5.1. dan data karakteristik sampel tikus perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.1. Karakteristik Sampel Pra Perlakuan

NORMAL PRA PERLAKUAN (KNPP) (N=6)	
Perlakuan	Diet normal
Lama perlakuan	6
Usia awal	5
Usia akhir	11
BB awal	36.8 ± 7.9
BB minggu 1	46.1 ± 12.9
BB minggu 2	59 ± 21.4
BB minggu 3	70.5 ± 23
BB minggu 4	87.5 ± 19.8
BB minggu 5	104 ± 20.7
BB minggu 6	129 ± 21.3
BB akhir (gr)	145 ± 20.8
Δ BB (gr)	99.1 ± 20.1

Keterangan :

Tabel 1 menunjukkan data dalam mean $\pm$ standar deviasi (SD). BB : Berat Badan Tikus, Δ BB : BB Akhir dikurangi BB minggu 1



Gambar 5.1 Rata-rata Kadar Leptin Serum

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan rata-rata kadar leptin Serum tikus pada KNPP (3.48 ± 0.27), KNP (4.41 ± 0.65), KSKN (4.27 ± 0.42), KDHN (3.41 ± 0.41), dan KSHN (3.5 ± 0.47). Data diuji menggunakan *Independent Sample T-Test* untuk perbandingan KP dengan KNP dan KNPP. Sedangkan uji *One Way ANOVA* untuk perbandingan KNP dengan kelompok perlakuan (KSKN, KDHN, dan KSHN). (a) $p < 0.05$ dengan KNP, (b) $p < 0.05$ dengan KSKN.

Hasil Kadar Leptin Serum pada Tikus

Uji statistik *Independent Sample T-Test* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar leptin serum antara kelompok KNP dengan KNPP ($p=0.009$). Dapat dilihat pada gambar 1 bahwa rata-rata kadar leptin serum pada KNP lebih tinggi dibandingkan dengan KNPP.

Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KNP dengan kelompok KDHN ($p=0.003$) dan KSHN ($p=0.007$). Juga dapat dilihat pada gambar 1 bahwa kadar leptin serum tertinggi adalah kelompok KNP diikuti dengan KSKN, KSHN, dan KDHN.

Tabel 5.2. Karakteristik Sampel Tahapan Perlakuan

	KNP (n=6)	KSKN (n=6)	KDHN (n=6)	KSHN (n=6)
Perlakuan	Diet normal	Perlakuan stres fisik setiap senin dan kamis	Perlakuan stres fisik setiap dua hari	Perlakuan stres fisik setiap hari
Lama Perlakuan (minggu)	4	4	4	4
Usia Awal (minggu)	11	11	11	11
Usia Akhir (minggu)	15	15	15	15
Asupan M1 (gr)	24.6 ± 4.90	29.2 ± 4.67	31.2 ± 7.50	28.8 ± 6.90
Asupan M2 (gr)	25.9 ± 2.79	29.1 ± 5.96	27.4 ± 5.96	29.4 ± 6.02
Asupan M3 (gr)	24.6 ± 4.37	33.1 ± 6.56 ^a	27.8 ± 5.51	31.3 ± 4.57 ^a
Asupan M4 (gr)	24.4 ± 10.62	29.7 ± 4.78	27.9 ± 3.47	32.0 ± 9.07
Rerata Asupan (gr)	24.9 ± 0.67	30.3 ± 1.90	28.6 ± 1.79	30.4 ± 1.54
BB AWAL (gr)	148 ± 10.78	174 ± 19.20 ^a	176 ± 21.00 ^a	141.6 ± 28.14 ^{b,c}
BBPM 1 (gr)	156 ± 14.82	177 ± 17.21	184 ± 19.25 ^a	157.6 ± 24.74 ^c
BBPM 2 (gr)	165 ± 12.00	185 ± 17.39	173 ± 24.02	178.1 ± 22.34
BBPM 3 (gr)	169 ± 9.84	187 ± 17.24	205 ± 31.34	182.5 ± 25.39
BB AKHIR (gr)	166 ± 8.18	190 ± 15.23	214 ± 32.59	189.1 ± 28.77
Δ BB (gr)	17.5 ± 7.66	13.3 ± 8.52	29.8 ± 33.17	31.5 ± 24.4

Keterangan :

Data dalam mean ± standar deviasi (SD). Uji statistik menggunakan *Independent Sample T-Test*, *One Way Anova*. Asupan M1-M2 : Rerata asupan makanan minggu pertama sampai minggu ke-4, Asupan Total : Rerata asupan makanan selama perlakuan. BB : Berat badan tikus, BBPM1-4 : Berat badan minggu pertama sampai minggu ke-4, Δ BB : Selisih berat badan akhir dengan berat badan minggu pertama (peningkatan berat badan selama 4 minggu perlakuan). KNP : Kontrol Negatif Perlakuan, KSKN : Kelompok perlakuan Senin dan Kamis, KDHN : Kelompok perlakuan setiap Dua Hari, KSHN : Kelompok perlakuan Setiap Hari. (a) $p<0.05$ dengan KNP, (b) $p<0.05$ dengan KSKN, (c) $p<0.05$ dengan KDHN.

PEMBAHASAN

Karakteristik Populasi

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar karena mudah didapatkan, mudah dipelihara, tahan terhadap penyakit dan dapat beradaptasi dengan lingkungan baru sehingga tikus tidak mudah mati selama tahap penelitian. Selain itu, tikus Wistar memiliki berat badan yang besar sehingga mudah diamati dalam perubahan berat badannya. Tikus Wistar menghasilkan serum yang cukup banyak untuk pemeriksaan kadar leptin serum. Pertimbangan tersebut mendasari pemilihan tikus Wistar untuk penelitian ini.

Pemilihan jenis kelamin betina untuk meneliti kadar leptin pada hewan coba tikus Wistar karena literatur menyatakan bahwa faktor gender berpengaruh terhadap kadar leptin serum terutama pada gender perempuan. Deepthy *et al*, 2015 menyatakan bahwa estrogen mempengaruhi proses metabolisme pada perempuan. Individu berjenis kelamin perempuan memiliki jaringan adiposit yang lebih banyak dibanding laki-laki. Oleh karena itu, tikus Wistar yang lebih cocok untuk mengetahui kadar leptin serum adalah tikus Wistar betina.

Penelitian ini dimulai sejak tikus berusia 5 minggu. Pemilihan usia ini karena pada tikus usia 5

minggu hampir setara dengan usia 18 tahun pada manusia, dimana pada usia ini sistem organ reproduksi mulai berfungsi dengan baik dan menghasilkan kadar estrogen yang cukup. Usia tikus yang sudah cukup besar juga memudahkan dalam perawatan dan pemberian makan. Dari sudut kedokteran, diharapkan hasil penelitian ini dapat menunjukkan cara pencegahan gangguan metabolik sejak dini.

Masing-masing tikus dipelihara dalam kandang *single cage* kecuali kelompok pra perlakuan. Pemeliharaan dengan kandang *single cage* ini supaya variasi aktivitas fisik setiap tikus rendah, sehingga antar tikus dianggap memiliki aktivitas fisik yang hampir sama. Metode *single cage* ini juga mempermudah penghitungan sisa pakan dari masing-masing tikus setiap harinya. Kelompok tikus pra perlakuan tidak menggunakan metode *single cage* karena ukuran tikus yang tidak terlalu besar dan lama pemeliharaan/induksi selama 6 minggu.

Penelitian ini mengamati akibat perlakuan stres fisik (berenang) dengan frekuensi yang berbeda-beda pada tikus Wistar betina yang diberikan diet normal. Setiap kali berenang dilakukan selama 5 menit. Frekuensi masing-masing kelompok dibedakan menjadi seminggu dua kali (KSKN),

setiap dua hari (KDHN), dan setiap hari (KSHN). Kondisi simpanan lemak kurang setelah pembakaran lemak karena aktifitas memicu peningkatan asupan makan karena leptin yang menurun. Stres fisik berenang ini dilakukan selama 4 minggu agar tidak sampai mengalami kelaparan dan rhabdomyolisis yang mengakibatkan kematian. Selain itu kurun waktu 4 minggu ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yaitu pembatasan waktu makan selama 4 minggu yang mensimulasikan aktivitas puasa pada manusia.

Tikus ditimbang seminggu sekali untuk melihat adanya perubahan berat badan. Berat badan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain diet, banyaknya simpanan lemak, kondisi lingkungan, dan paparan penyakit. Penelitian ini menunjukkan bahwa induksi diet normal selama 6 minggu mampu meningkatkan berat badan tikus kelompok KNPP, namun peningkatan tersebut tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal perlakuan. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa pemberian diet normal tidak berpengaruh pada berat badan tikus selama 6 minggu pemberian diet.

Uji statistik menunjukkan bahwa berat badan kelompok normal berbeda signifikan dengan kelompok setiap dua hari pada minggu pertama perlakuan, demikian pula antara kelompok setiap dua hari dengan kelompok setiap hari. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perbedaan stress fisik terhadap berat badan.

Peningkatan berat badan tertinggi terjadi pada kelompok perlakuan setiap hari (KSHN), rerata asupan tertinggi juga teramati pada KSHN yaitu sebesar 30.4 gram. Urutan kelompok perlakuan dengan rerata asupan makan tertinggi yaitu setiap hari, seminggu dua kali, dua hari sekali dan kelompok normal perlakuan. Setiap kelompok mengalami peningkatan dan penurunan asupan makan setiap minggunya. Uji statistik menunjukkan perbedaan asupan makanan yang signifikan antara kelompok setiap hari dan seminggu dua kali terhadap kelompok normal perlakuan. Hal ini mengindikasikan bahwa stres fisik mendorong peningkatan asupan makan.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik terhadap Kadar Leptin Serum

Aktivitas fisik mempengaruhi produksi hormon leptin baik dalam kuantitas maupun kualitas. Uji statistik pada penelitian ini mendapatkan kadar leptin pada kelompok KNP signifikan lebih tinggi dibanding kadar leptin di kelompok KDHN dan KSHN. Perbedaan tersebut diduga karena kelompok KNP tanpa adanya paparan stres fisik memiliki simpanan energi yang lebih besar dibandingkan KDHN dan KSHN yang diberikan paparan stres fisik. Mengingat besarnya simpanan energi akan meningkatkan kadar hormon leptin, maka kadar leptin pada kelompok KNP menjadi lebih besar. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian Sugiharto pada tahun 2007 yang mendapatkan bahwa latihan fisik aerobik menurunkan kadar leptin

serum mahasiswi Universitas Negeri Semarang. KSKN yang diberikan paparan stres fisik dua kali selama seminggu juga memiliki kadar leptin yang signifikan lebih tinggi daripada kadar leptin kelompok KDHN dan KSHN. Hal ini mengindikasikan bahwa frekuensi stress fisik yang lebih sering akan menurunkan kadar leptin. Lebih lanjut, kadar leptin kelompok KSKN yang diberikan paparan stres fisik dua kali selama seminggu tersebut tidak berbeda signifikan dibandingkan kelompok normal perlakuan, hal ini menunjukkan bahwa frekuensi stress fisik 2 kali seminggu tidak mempengaruhi kadar leptin serum, berbeda dengan pemberian frekuensi stress fisik yang lebih sering (dua hari sekali dan setiap hari).

Asupan makan yang tinggi berdampak besar pada simpanan energi dalam tubuh. Simpanan energi yang besar akan meningkatkan kadar hormon leptin. Rerata asupan makan terbanyak pada penelitian ini terjadi pada kelompok setiap hari, diikuti oleh kelompok seminggu dua kali, dua hari sekali dan yang paling sedikit adalah kelompok normal perlakuan. Dengan berasumsi bahwa asupan yang besar akan meningkatkan simpanan energi dan dengan demikian juga hormon leptin, maka seharusnya kadar hormon leptin dari yang tertinggi hingga yang terendah mengikuti urutan tersebut. Namun penelitian ini mendapatkan bahwa kadar hormon leptin yang terbesar adalah pada kelompok normal perlakuan, diikuti oleh kelompok seminggu dua kali, kemudian kelompok setiap hari, dan paling sedikit pada kelompok dua hari sekali. Penemuan ini menunjukkan adanya faktor lain yang mempengaruhi kadar hormon leptin selain asupan makanan, yaitu frekuensi stress fisik.

Stres fisik akan mengakibatkan sekresi kortisol yang diatur oleh *Adrenocorticotrophic hormone* (ACTH) setelah dirangsang oleh *Corticotropin Releasing Hormone* (CRH). Hormon kortisol yang tinggi akan menyebabkan terjadinya lipolisis sehingga terjadi penurunan simpanan energi dan menurunkan kadar leptin dalam darah. Selain itu, latihan fisik berat meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Peningkatan kadar ROS akibat stress fisik tersebut, pada jaringan adiposa akan menurunkan produksi leptin.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara indeks massa tubuh (IMT) dengan kadar leptin (Subarjati, 2015). IMT antara lain dipengaruhi oleh asupan makanan dan frekuensi aktivitas fisik sehari-hari. Pada penelitian ini didapatkan peningkatan berat badan terbesar terjadi pada kelompok setiap hari, diikuti oleh kelompok dua hari sekali, dan paling sedikit pada kelompok seminggu dua kali yang memiliki peningkatan berat badan sama dengan kelompok normal perlakuan; sedangkan kadar hormon leptin yang terbesar adalah pada kelompok normal perlakuan, diikuti oleh kelompok seminggu dua kali, kemudian kelompok setiap hari, dan paling sedikit pada kelompok dua hari sekali. Dapat

diamati bahwa kelompok normal perlakuan memiliki peningkatan berat badan yang paling rendah namun memiliki kadar leptin paling tinggi, sedangkan kelompok setiap hari mengalami peningkatan berat badan paling besar (dua kali lipat dibandingkan kelompok normal perlakuan) dan memiliki kadar leptin yang signifikan lebih rendah dibanding kelompok normal perlakuan. Kondisi pada kelompok setiap hari tersebut membuktikan bahwa, selain IMT seperti yang didapatkan pada penelitian Subarjati 2015, frekuensi stress fisik juga berpengaruh pada kadar hormon leptin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada IOM dan FK yang telah mendanai penelitian dan kepada *peer reviewer* serta pihak-pihak yang telah membantu proses penyajian hasil penelitian ini yang tidak dapat kami sebutkan satu per satu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Halliwell, B. & Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142, 231-55
- [2] Guyton, A. C., Hall, J. E.,. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 12. Jakarta : EGC, 1022; 2011
- [3] Sherwood, L. 2014. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem*. Edisi 8. Jakarta: EGC.
- [4] Galland, Leo M.D & Jonathan Galland M.D. *Leptin: How to Make This Fat-Burning Hormon Work for You*. 2011 [Diperoleh 25 juli 2018], dari https://www.huffingtonpost.com/leo-galland-md/leptin-how-to-make-this-fat-burning_b_806529.html
- [5] Halliwell, B. & Whiteman, M. 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142, 231-55
- [6] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM, et al. Positional cloning of the mouse obesity gene and its human homologue. *Nature* ; 1994. p. 425–432
- [7] Friedman, JM. *Leptin at 14 y of age: an ongoing story*. *Am J Clin Nutr*; 2009. 89(suppl): 973S-979S
- [8] Enriori PJ et al. Diet-Induced Obesity Causes Severe but Reversible Leptin Resistance in Arcuate Melanocortin Neurons, *Cell Metabolism*: 2007. 5: 181–194
- [9] Nikmah, Ulya Alf. 2017. *Kadar Leptin sebagai Petanda Diabetes pada Individu dengan Diabetes dan Toleransi Glukosa Terganggu*. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 45(3): 145-152
- [10] Srinivasan, K. and Ramarao, P., 2007. Animal models in type 2 diabetes research : An overview. *Indian J Med Res*. 125 : 451-472.
- [11] Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. hlm. 37- 57.
- [12] Sengupta, P. 2013. The Laboratory Rat : Reating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6):624-30
- [13] Dephti, S. K., Narayan , G. A. R. Amd Maidu, J. N. 2015 'Research Article Correlation Between Estrogen And Tryglicerides Levels In Postmenopausal Women of Biochemistry, Narayana Medical Collage, Nellore of Plastic Surgery, Narayana Collage and Hospita, Nellore', 6, pp. 5089-5092
- [14] Kampinen, Andre L. The Sod Houses of Custer County, Nebraska. *Maters thesis, University of Georgia*, 2008 Athens, GA. Retrieved 2011-10-22.
- [15] Clement, K. And P. Ferre. 2003. Genetics and the pathophysiology of obesity. *Journal Pediatric Research*, 53(5): 721-725
- [16] Jensen, T. L., Kiersgaard, M. K., Sorensen, D. B., & Mikkelsen, L. F. 2003. Fasting of mice : a review *Laboratory Animals*, 47(4), 225-40. <https://doi.org/10.1177/0023677213501659>
- [17] Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. hlm. 37- 57.
- [18] Sengupta, P. 2013. The Laboratory Rat : Reating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 4(6):624-30
- [19] Dephti, S. K., Narayan , G. A. R. Amd Maidu, J. N. 2015 'Research Article Correlation Between Estrogen And Tryglicerides Levels In Postmenopausal Women of Biochemistry, Narayana Medical Collage, Nellore of Plastic Surgery, Narayana Collage and Hospita, Nellore', 6, pp. 5089-5092
- [20] Kampinen, Andre L. The Sod Houses of Custer County, Nebraska. *Maters thesis, University of Georgia*, 2008 Athens, GA. Retrieved 2011-10-22.
- [21] Clement, K. And P. Ferre. 2003. Genetics and the pathophysiology of obesity. *Journal Pediatric Research*, 53(5): 721-725
- [22] Jensen, T. L., Kiersgaard, M. K., Sorensen, D. B., & Mikkelsen, L. F. 2003. Fasting of mice : a review *Laboratory Animals*, 47(4), 225-40. <https://doi.org/10.1177/0023677213501659>
- [23] Bria Martins, Weliana H. 2018. *Pengaruh Konseling Aktivitas Fisik dan Pola Makan Terhadap Perubahan Imt Pada Penderita Diabetes Mellitus Di Puskesmas Dinoyo Kecamatan Lowokwaru Kota Malang*. *Nursing News*, 3, 191-203.
- [24] Nurcahyo, F. 2011. *Kaitan antara Obesitas dengan Aktivitas Fisik.. Medikora*, 7, 87-96.
- [25] Zuhroiyyah , S. F. 2017. *Hubungan Aktivitas Fisik dengan Kadar Kolesterol Total, Kolesterol LowDensity Lipoprotein, dan*

- Kolesterol High-Density Lipoprotein pada Masyarakat Jatinangor*, JSK, 2(3), 116-122.
- [26] Subarjati, A. 2015. *Hubungan Indeks Massa Tubuh Dengan Kadar Leptin Dan Adiponektin*, Journal of Nutrition College, 4(2), 428-434
- [27] Solomon, E.D., L.R. Berg dan D. W. Martin. (2008). *Biology*. 8th Edition. Thompson Brooks/Cole. Australia
- [29] Sugiharto., Eva Yunida & Tommy S. 2017. *Manajemen Pembinaan Merdeka Basketball Club (MBBC) Pontianak Kalimantan Barat Tahun 2016*. Journal of Physical Education and Sports, 6(2), 125-132