

PENGARUH FREKUENSI STRES FISIK TERHADAP KADAR LEPTIN SERUM TIKUS WISTAR (*Rattus norvegicus*) BETINA DENGAN DIET ATHEROGENIK

Illiyyin Indartatih*, Arief Heru Wicaksono*, Rahma Triliana*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

E mail: vivind.illyvin@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Leptin adalah protein hormon yang diproduksi oleh jaringan adiposa berperan penting dalam regulasi metabolisme energi dan asupan makan. Diet atherogenik terbukti dapat menyebabkan hiperlipidemia, obesitas dan peningkatan cadangan lemak tubuh. Beberapa penelitian mengatakan latihan fisik mampu meningkatkan kadar leptin serum, dan memperbaiki sensitivitas leptin. Namun penelitian lain menyampaikan bahwa latihan fisik berlebihan dapat menginduksi resistensi leptin dan mengubah kontrol pusat keseimbangan energi di sistem saraf pusat. Oleh sebab itu penelitian untuk mengevaluasi mekanisme berbagai frekuensi stres fisik pada kadar leptin serum masih belum diketahui.

Metode: Tikus wistar betina dibagi menjadi 6 kelompok (KN, KP, KPP, KSK, KDH, dan KSH). KN diberi diet standar sedangkan KP diberi diet atherogenik selama 10 minggu. Kelompok perlakuan diberikan stress fisik berenang selama 5 menit dengan frekuensi perlakuan dua kali seminggu (KSK), dua hari sekali (KDH) dan setiap hari (KSH) selama 4 minggu setelah konsumsi diet atherogenik 6 minggu. Kelompok pra perlakuan (KPP) diberi diet atherogenik selama 6 minggu untuk mengetahui kadar dasarnya. Di akhir perlakuan, tikus dikorbankan, dilakukan pengambilan serum dan kadar leptin serum diukur menggunakan ELISA untuk kemudian diuji statistik *One Way ANOVA* dengan nilai p adalah 0.05.

Hasil : Diet atherogenik tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar leptin serum ($p > 0.05$). Berbagai frekuensi stres fisik menunjukkan nilai signifikan antara KSK (4.91 ± 0.60) dibanding KDH (3.95 ± 0.20). Uji korelasi *pearson* menunjukkan ada korelasi negatif lemah antara kadar leptin serum dan berat badan akhir perlakuan, namun tidak ada korelasi antara kadar leptin serum dengan asupan.

Kesimpulan: Frekuensi stres fisik seminggu dua kali dianggap paling efektif dalam meningkatkan kadar leptin serum dan memodifikasi berat badan pada tikus betina dengan diet atherogenik.

Kata Kunci: Diet atherogenik, frekuensi stres fisik, Leptin serum

THE ROLE OF INTERVALS OF PHYSICAL STRESS ON THE LEVELS OF SERUM LEPTIN IN FEMALE WISTAR (*Rattus norvegicus*) RATS FED WITH ATHEROGENIC DIET

Illiyin Indartatih*, Arief Heru Wicaksono*, Rahma Triliana*

*Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

E mail: yivind.illiyin@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Leptin is a protein hormone produced by adipose tissue which plays important role in the regulation of energy metabolism and food intake. Atherogenic diets have been shown to cause hyperlipidemia, obesity and increased body fat reserves. Some studies suggested physical exercise were able to increase levels of serum leptin and improved leptin sensitivity. However other studies has also suggested that excessive physical exercise induced leptin resistance and changed the central control of energy balance in the central nervous system. Therefore, studies to evaluate the role of frequency of physical stress in levels of serum leptin is unknown.

Methods: Female wistar rats were divided into 6 groups (KN, KP, KPP, KSK, KDH and KSH). KN were given standard diet, while KP were given atherogenic diet for 10 weeks. Treatment groups were subjected to 5 minutes of forced swimming at intervals of twice weekly (KSK), once every two days (KDH) and daily (KSH) for 4 weeks after 6 weeks of atherogenic diet every. A pre-treatment group (KPP) were given atherogenic diet for 6 weeks as pretreatment baseline levels. At the end of treatment, rats were sacrificed, serum were collected and leptin levels were examined using ELISA. All results were analyzed using One Way ANOVA and p is set at 0.05.

Result: Atherogenic diet did not significantly affect levels of serum leptin ($p > 0.05$). Various frequency of physical stress shows significant difference between KSK (4.91 ± 0.60) vs KDH (3.95 ± 0.20). Correlation analyses showed weak negative correlation between levels of leptin serum and end of treatment body weight. However, no correlation were found between levels of leptin serum and dietary intake.

Conclusion: Twice weekly physical stress is considered as the most effective intervals to increased levels of serum leptin and modifying body weight in female rats fed with atherogenic diet.

Keywords: Atherogenic diet, frequency of physical stress, Serum Leptin

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia adalah gangguan kesehatan yang dicirikan oleh peningkatan seluruh atau sebagian dari profil lipid dalam darah¹. Kadar lipid dalam darah meningkatkan risiko berbagai penyakit, seperti penyakit jantung koroner (PJK), stroke, sindrom metabolik, obesitas dan sebagainya². Menurut *America Heart Association* (AHA), *the Centres for Disease Control and Prevention* (CDC) dan *the National Institutes of Health* (NIH), penyakit kardiovaskuler adalah penyebab utama kematian di dunia^{3,4,5}. AHA menyebutkan bahwa hampir setiap satu dari tiga orang yang meninggal disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler³. Di Indonesia pada tahun 2012, penyakit jantung koroner menduduki peringkat pertama yang menyumbang angka kematian⁶. Angka kematian akibat kejadian penyakit kardiovaskuler semakin meningkat sebesar 37% penduduk (*WHO-NCD Country Profil*, 2014)⁷.

Salah satu penyebab hiperlipidemia adalah asupan lemak berlebih terutama kolesterol, seperti diet atherogenik⁹. Menurut Adekunle (2013), pemberian diet atherogenik dapat meningkatkan kadar lipoprotein dan kadar trigliserida di jaringan ekstrahepatik, termasuk jaringan adiposa^{10,11}. Akibatnya, kandungan lemak dalam tubuh meningkat dan mempengaruhi sekresi hormon leptin¹².

Leptin adalah suatu polipeptida dengan berat molekul 16 kD yang disekresi oleh jaringan adiposa dan dilepaskan dalam sirkulasi⁵¹. Ikatan leptin akan mengaktifkan janus kinase 2 (JAK 2) dan kaskade *signal transducers and activator of transcription* (STAT3). Kemudian STATs yang terdimerisasi akan mentranlokasi ke dalam nukleus dan meningkatkan transkripsi gen yang berperan dalam penekanan nafsu makan sehingga menurunkan berat badan (Zhou, 2013). Leptin meregulasi pengeluaran energi, metabolisme glukosa, menekan nafsu makan dan berhubungan dengan berat badan. Semakin tinggi kadar leptin maka berat badan akan semakin rendah. Namun hal ini tidak terdapat pada penderita obesitas. Kadar leptin dalam darah meningkat pada kasus obesitas, akibat adanya resistensi leptin^{14,15}.

Latihan fisik diketahui dapat memperbaiki sensitivitas leptin perifer dan meningkatkan profil lipid¹⁸. Namun, jika dilakukan dengan berlebihan dapat mengganggu fungsi fisiologis sehingga menyebabkan tubuh jatuh pada kondisi stres¹³. Stres adalah respon tubuh terhadap setiap faktor yang mengancam dengan melakukan kompensasi untuk mempertahankan homeostasis¹³. Pada kondisi stres, terjadi peningkatan kadar kortisol yang berefek pada peningkatan transkripsi leptin di perifer. Selain itu *hipoksia induced factor 1* (HIF-1) yang dihasilkan pada stres hipoksia juga dapat merangsang transkripsi leptin sehingga terjadi peningkatan kadar serum leptin di sirkulasi.

Penelitian frekuensi stres fisik terhadap kadar leptin serum dengan diet atherogenik belum pernah dilakukan.. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian pengaruh frekuensi stres fisik terhadap kadar leptin serum tikus betina dengan diet atherogenik.

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan desain *control group post test only* secara *in vivo* pada tikus wistar betina yang diberi diet atherogenik untuk mengetahui pengaruh frekuensi stres fisik terhadap kadar leptin serum. Penelitian ini dilaksanakan di *Animal House* dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, dan Laboratorium Fisiologi Universitas Brawijaya. Penelitian ini dimulai pada bulan Januari 2018 sampai dengan Mei 2018. Penelitian ini telah mendapat surat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan nomor surat 851-KEP-UB dan disetujui pada tanggal 2 Januari 2018.

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina sesuai kriteria inklusi, yaitu: sehat, betina, berusia 11 minggu, berat badan antara 100-200 gram. Jumlah sampel yang digunakan sebanyak 36 ekor. Berdasarkan rumus Federer, pembagian kelompok perlakuan menggunakan cara acak (*random sampling*). Hewan coba dibagi dalam 6 kelompok yaitu Kelompok Pra Perlakuan (KPP, n=6), Kelompok Kontrol Negatif (KN, n=6), Kelompok Kontrol Positif (KP, n=6), kelompok perlakuan setiap hari (KSH, n=6), kelompok perlakuan seminggu tiga kali (KDH, n=6), kelompok perlakuan seminggu dua kali (KSK, n=6).

Pembuatan dan Pemberian Diet

Diet standar dibuat dengan komposisi konsentrat pakan ayam (PARS) 20g/ekor, tepung terigu (Cakra Kembar) 10g/ekor dan air secukupnya. Diet standar diberikan pada kelompok KN. Diet atherogenik dibuat dengan komposisi diet standar ditambah dengan kolesterol 0.2g/ekor, asam kolat 0.02g/ekor dan minyak babi 1ml/ekor²⁹. Diet atherogenik diberikan pada kelompok KPP, KP, KSK, KDH, dan KSH.

Perlakuan Stres Fisik

Perlakuan stres fisik diberikan saat usia tikus 11 minggu dan dipisahkan dalam *single cage*. Tikus diberikan perlakuan berenang pada kedalaman ± 40 cm dan suhu air 30°C-32°C³⁰. Waktu perlakuan dilaksanakan pada sore hari antara pukul 16.00-19.00 selama 5 menit.

Setelah berenang, tubuh tikus dikeringkan dengan handuk dan *hairdryer* dengan jarak 20cm. Perlakuan stres fisik dilakukan selama 4 minggu.

Pengambilan Sampel Darah

Setelah 4 minggu tikus dianastesi dengan dimasukkan dalam tabung berisi kapas dan kloroform. Setelah tikus tidak sadar, rongga toraks-abdomen dibuka lalu dilakukan pengambilan darah intrakardial. Darah diambil dengan spuit disposibel dan ditampung dalam vakutainer sesuai label identitas tikus tanpa penambahan *Ethylene Diamine Tetraacetic* (EDTA). Sampel darah kemudian didiamkan selama 30-60 menit pada suhu kamar dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Serum diambil 500 µL dan dimasukkan dalam tabung eppendorf yang berlabel identitas tikus.

Pemeriksaan Kadar Leptin Serum

Pemeriksaan kadar leptin pada serum (40µl) ditentukan menggunakan *Rat Leptin* ELISA Kit (BT-Lab). Sensitivitas pengujian 0.05ng/ml dengan *intra* dan *inter-assay precision* koefisien <8% (*intra-assay*) dan <10% (*inter-assay*). Kemudian *optical density* (OD) ditentukan menggunakan *microplate reader* pada gelombang cahaya 450 nm selama 30 menit. Data yang keluar berupa data mentah jumlah absorban terukur pada masing-masing sumur, sehingga untuk mengetahui kadar leptin serum dilakukan konversi jumlah absorban terukur dengan kadar leptin dalam ng/ml pada cairan standar.

Teknik Analisa Data

Analisa statistik menggunakan *software* SPSS 16.0. Uji normalitas dan homogenitas data dan dianggap normal dan homogen bila $p>0.05$. Uji beda statistik signifikansi menggunakan *Independent Sample T-test* untuk kelompok kontrol (KN, KPP, KP) dan *One Way ANOVA* untuk kelompok perlakuan (KP, KSK, KDH, dan KSH). Pengambilan keputusan signifikan bila *p-value* ($P<0.05$).

HASIL DAN ANALISA DATA

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Rattus novergicus* galur wistar betina usia 5 minggu. Tikus mengalami dua periode, yaitu periode induksi (pra perlakuan) dan periode perlakuan. Data karakteristik sampel penelitian fase induksi pada **tabel 1** dan fase perlakuan **tabel 2**.

Pada kelompok KPP dilakukan periode induksi dengan diet atherogenik selama 6 minggu. Hewan coba mengalami peningkatan berat badan tiap minggunya, dengan rerata selisih berat badan akhir dengan berat badan minggu pertama induksi pada KPP adalah 76 ± 15.93 gram.

Tabel 1 Karakteristik Sampel Kelompok Pra Perlakuan (KPP)

Kelompok Pra Perlakuan (n=6)	
Perlakuan	Diet atherogenik
Usia Awal (minggu)	5
Lama Perlakuan (minggu)	6
Usia Akhir (minggu)	11
BB (gram)	
BB Awal	35.33 ± 5.8
BB-M 1	49.33 ± 8.45
BB-M 2	64.83 ± 13.40
BB-M 3	83.17 ± 18.34
BB-M 4	97.67 ± 19.58
BB-M 5	112.17 ± 20.73
BB-M 6	121.33 ± 22.85
BB-Akhir	125.33 ± 22.31
ΔBB pra perlakuan (gram)	76 ± 15.93

Keterangan:

Data dalam mean $\pm$ standar deviasi (SD). BB, berat badan; M 1-6, minggu 1-6; ΔBB pra perlakuan, selisih BB Akhir dikurangi BB-M 1

Tabel 2 Karakteristik Sampel Kelompok Pasca Penelitian

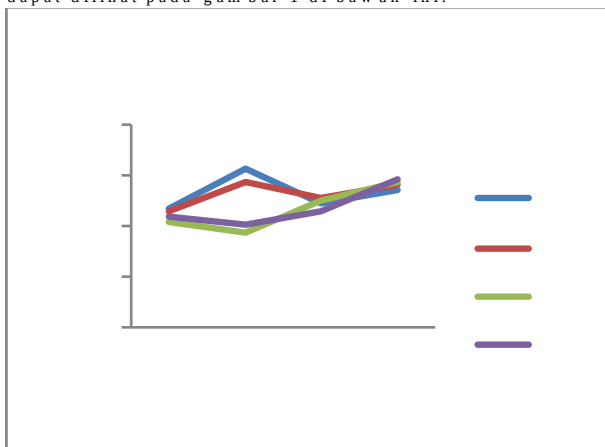
	KN (n=6)	KP (n=6)	KSK (n=6)	KDH (n=6)	KSH (n=6)
BB Awal (g)	148.50 ± 19.04	$122.33 \pm 11.36^{c,d,e}$	$146 \pm 8.47^{b,d}$	$176.17 \pm 12.70^{b,c,e}$	$155.67 \pm 21.58^{b,d}$
BBPM 1 (g)	154.00 ± 14.88	136.00 ± 11.84^d	154.00 ± 8.22^d	$177.00 \pm 11.48^{b,c}$	160.33 ± 24.36
BBPM 2 (g)	161.00 ± 13.68	$138.67 \pm 11.07^{d,e}$	154.33 ± 5.57^d	187.83 ± 18.91^c	172.50 ± 20.33
BBPM 3 (g)	167.67 ± 9.64^b	$144.33 \pm 11.51^{a,c,d}$	$151.17 \pm 3.71^{d,e}$	$200.00 \pm 30.46^{b,c}$	178.67 ± 23.06
BB Akhir (g)	166.17 ± 8.18^b	$151.67 \pm 11.02^{a,d,e}$	$150.17 \pm 10.04^{d,e}$	$190.83 \pm 18.87^{b,c}$	$182.00 \pm 20.68^{b,c}$
ΔBB (g)	12.17 ± 12.09	15.67 ± 10.19	$-3.83 \pm 15.57^{d,e}$	13.83 ± 16.43^c	21.67 ± 30.26^c
Rata-rata					
AP/hari (g)	25.12 ± 3.29	21.94 ± 1.35^e	24.69 ± 6.36	24.32 ± 2.37	28.18 ± 7.17^b

Keterangan:

Data dalam mean $\pm$ standar deviasi (SD). ; A TH, atherogenik; BBPM, berat badan perlakuan minggu 1-2; Δ BB, selisih BB Akhir dikurangi BBPM 1; KN, kontrol negatif; KP, kontrol positif; KSH, kelompok setiap hari; KDH, kelompok dua hari (tiga kali seminggu); KSK, kelompok Senin Kamis (dua kali seminggu). Data diuji statistik menggunakan *Independent Sample T-test* untuk perbandingan BB dan AP kelompok kontrol KP dengan KN; *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* untuk perbandingan BB Awal, BBPM 2-3, BB akhir, delta BB, rerata AP/hari kelompok perlakuan KP, KSK, KDH, KSH; *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Tamhane* untuk perbandingan BBM 1, APM 1-4 kelompok perlakuan KP, KSK, KDH, KSH. (a) $p < 0.05$, dengan KN; (b) $p < 0.05$, dengan KP; (c) $p < 0.05$, dengan KSK; (d) $p < 0.05$, dengan KDH; (e) $p < 0.05$, dengan KSH.

Berat badan selama penelitian cenderung mengalami peningkatan tiap minggunya, kecuali pada kelompok perlakuan seminggu dua kali (KSK) yakni dengan selisih berat badan di akhir dikurangi berat badan di awal induksi dalam mean $\pm$ SD sebesar -3.83 ± 15.57 . Uji *Independent Sample T-test* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada BB minggu 3 dan BB akhir kelompok KP dibanding KN. Namun, dapat dilihat pada **tabel 2** bahwa rata-rata berat badan akhir pada KP lebih rendah dibandingkan KN.

Hasil uji statistik kelompok KP dan kelompok perlakuan menunjukkan, terdapat perbedaan yang signifikan pada BB awal, BB minggu 1, BB minggu 2, BB minggu 3 dan BB akhir antara kelompok perlakuan dibandingkan KP. Uji lanjut *Post Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pada BB awal antara kelompok perlakuan dibandingkan KP. Selain itu, terdapat perbedaan yang signifikan pada BB minggu 2, BB minggu 3 dan BB akhir antara kelompok KDH dan KSH dibandingkan dengan KP. Namun, dapat dilihat pada **tabel 2** bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada BB minggu 2, BB minggu 3 dan BB akhir antara kelompok KSK dibanding KP. Uji statistik pengukuran BB minggu 1 menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan BB minggu 1 antara kelompok KDH dibandingkan KP. Hasil pengukuran data asupan makan tikus tiap minggu dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini:



Keterangan: Gambar 2 menunjukkan kadar leptin serum tikus pada Kontrol Negatif (KN, 4.41 ± 0.65), Kelompok Pra Perlakuan KPP (4.68 ± 0.66), Kontrol Positif (KP 4.43 ± 0.70), kelompok dua kali seminggu

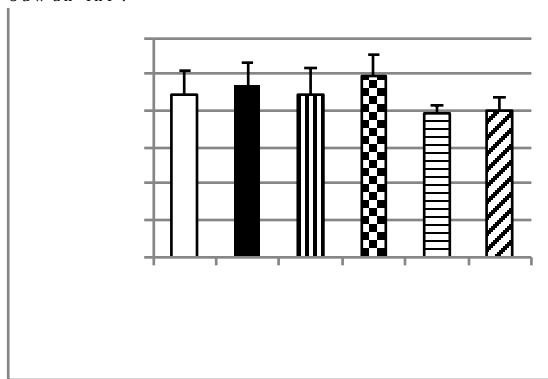
Gambar 1 Rata-rata Jumlah Asupan Makan Kelompok Perlakuan

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan rerata asupan makan tikus tiap minggu pada kelompok perlakuan. Data uji statistik menggunakan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc Tamhane* menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan dibanding KP.

Asupan pakan selama penelitian mengalami kenaikan dan penurunan pada setiap minggunya. Uji statistik *Independent Sample T-test* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada rerata asupan pakan di semua minggu antara kelompok KP dibandingkan dengan KN, kecuali pada minggu ke 3 (data tidak ditampilkan). Uji statistik asupan pakan antara kelompok perlakuan dibandingkan dengan KP menunjukkan hasil yang tidak berbeda bermakna.

Kadar Leptin Serum

Hasil penelitian kadar leptin serum tikus dengan diet atherogenik yang mendapat perlakuan stres fisik dengan berbagai frekuensi tergambar pada **gambar 2** di bawah ini :



(4.91 ± 0.60), Kelompok tiga kali seminggu (KDH 3.95 ± 0.20), dan Kelompok Setiap Hari (KSH 3.98 ± 0.37). Data dalam mean $\pm$ SD. Data diuji statistik menggunakan *Independent Sample T-test* untuk

perbandingan KP dengan KN dan KP dengan KPP, *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* untuk

perbandingan kelompok perlakuan dengan KP. (a) $p < 0.05$, dengan dengan KSK.

Berdasarkan hasil tersebut di atas tampak bahwa kadar leptin serum menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara KP dibandingkan dengan KN, begitu juga antara kelompok KPP dibandingkan dengan KP. Uji statistik antara kelompok perlakuan (KSK, KDH, dan KSH) dibanding dengan KP menunjukkan nilai yang tidak berbeda bermakna. Namun demikian perbandingan antar kelompok perlakuan menunjukkan kadar leptin serum kelompok KDH dan KSH berbeda signifikan dibandingkan KSH. Sedangkan KDH dan KSH cenderung sama.

Hasil Korelasi Kadar Leptin Serum dengan Asupan Makan dan Berat Badan Tikus

Hasil uji korelasi kadar leptin serum dengan asupan makan dan berat badan tergambar pada tabel 3 di bawah ini:

Tabel 3. Uji Korelasi Kadar Leptin Serum dengan Asupan Makan

		Rerata Asupan Makan	BB Akhir
Leptin serum	Pearson	-.010	-.379
	Correlation		
	Sig. (2-tailed)	.959	.039
	N	30	30

Keterangan:

Tabel 3 menunjukkan uji korelasi *Pearson* antara kadar leptin dengan rerata asupan makan per hari dan berat badan tikus

Berdasarkan uji korelasi *pearson* antara kadar leptin serum dengan asupan makan menunjukkan nilai tidak signifikan (0.959) dengan derajat korelasi lemah -.010. Sedangkan uji korelasi antara kadar leptin serum dengan berat badan akhir menunjukkan nilai signifikan (0.039) dengan korelasi negatif yang lemah (-.379).

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Jenis tikus wistar yang digunakan dalam penelitian ini sering digunakan dalam penelitian karena mudah diperoleh, mudah dalam pemeliharaan dan terdapat kesamaan genetik dengan manusia³¹. Pemilihan tikus betina karena menurut penelitian sebelumnya, wanita mempunyai persen lemak tubuh lebih tinggi dari pria akibat pengaruh hormon androgen dan estrogen pada adiposit dalam memproduksi leptin (Moordian 1997).

Hewan coba pada penelitian ini menggunakan umur 5 minggu karena pada usia tersebut menggambarkan usia remaja hingga dewasa muda pada manusia yang bisa diamati pada kejadian obesitas dini³⁴. Pada usia tersebut, tikus dinilai telah mampu untuk bertahan hidup dengan perlakuan yang diberikan. Diet atherogenik diberikan selama 6 minggu sebagai periode induksi hiperlipidemia kemudian dilanjutkan dengan periode perlakuan pemberian stres fisik berenang selama 4 minggu. Hal ini mengacu pada penelitian sebelumnya bahwa pemberian diet atherogenik selama 6 minggu terbukti

meningkatkan kadar kolesterol total dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) dalam darah²⁹.

Perlakuan stres fisik berenang diberikan pada hewan coba mengacu pada penelitian sebelumnya bahwa berenang (*forced swimming*) pada hewan pengerat dapat memicu stres aerob dan mempengaruhi homeostasis hewan coba³⁵. Pada tinjauan literatur yang sudah kami lakukan, terdapat perbedaan durasi waktu berenang bagi tikus yang dapat memicu kondisi stres fisik, diantaranya selama 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 30 menit^{35,36}. Uji coba yang dilakukan pada tikus jantan dengan spesies yang sama, tikus tampak kelelahan dan sering tenggelam saat direnangkan selama 10 menit. Sehingga, penelitian mengacu pada penelitian Liu *et. al* (2017) yaitu merenangkan tikus dalam air hangat $\pm 32^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit³⁷. Pemilihan durasi renang dianggap paling sesuai untuk menghindari kematian hewan coba.

Berat badan tikus cenderung mengalami peningkatan selama perlakuan. Kelompok perlakuan seminggu dua kali (KSK) sempat mengalami penurunan berat badan pada minggu ke 3, namun kembali meningkat pada minggu terakhir. Dapat dilihat pada tabel 2, rerata delta berat badan KP lebih tinggi dibandingkan dengan KN walaupun tidak berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet atherogenik dapat memodulasi berat badan. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa diet atherogenik dapat meningkatkan berat badan karena peningkatan simpanan lemak di jaringan adiposa³⁸.

Berat badan dipengaruhi oleh jumlah diet yang dikonsumsi. Semakin tinggi asupan makan maka kandungan lemak meningkat menyebabkan akumulasi lemak dalam tubuh⁵⁰. Hal ini sulit diamati dalam karakteristik sampel. Tikus kelompok KSH yang memiliki rata-rata asupan makan tertinggi, tidak memiliki berat badan akhir yang tertinggi. Hal ini dapat dipengaruhi oleh bias berupa aktivitas yang dilakukan oleh tikus. Apabila asupan energi yang masuk lebih besar dibandingkan dengan jumlah yang dikeluarkan baru akan terjadi penyimpanan lemak di jaringan adiposa sehingga meningkatkan berat badan¹³.

Asupan makan pada tikus mengalami peningkatan dan penurunan tiap minggunya. Rerata asupan makan per hari tidak ada yang berbeda signifikan. Ini artinya bahwa tidak ada pengaruh bermakna pemberian diet atherogenik terhadap nafsu makan tikus dibandingkan dengan yang diberikan diet standar. Begitu juga pemberian berbagai macam frekuensi stres fisik tidak berpengaruh terhadap nafsu makan tikus. Kelompok KP memiliki rata-rata asupan makan per minggu yang cenderung lebih rendah dibandingkan KN meskipun tidak signifikan. Hal ini

diduga karena komposisi diet atherogenik yang berbeda dari diet standar. Kandungan minyak babi pada diet atherogenik dapat menurunkan nafsu makan akibat aromanya yang kurang enak (Heriansyah, 2013). Selain itu makanan tinggi lemak dapat menghambat pengosongan lambung menimbulkan sensasi kenyang lebih lama sehingga jumlah asupan pakan cenderung lebih rendah (Sherwood, 2015 ; Syazda, 2014). Rerata asupan makan tiap minggu kelompok perlakuan lebih tinggi dibandingkan KP. Hal ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, Sakr HF (2013) mengatakan bahwa tikus yang diberi diet atherogenik dan stres fisik selama 4 minggu mengalami penurunan nafsu makan karena peningkatan hormon leptin dan penekanan hormon ghrelin. Begitu juga Ambareesha et al., (2012), menyatakan bahwa perlakuan stres fisik dengan berenang mampu menekan nafsu makan akibat hormon *corticosterone releasing hormone*, sehingga asupan makan menurun.

Pengaruh Diet Atherogenik Terhadap Kadar Leptin Serum Tikus Wistar Betina

Uji statistik kadar leptin serum kelompok KPP menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan dengan KP. Hal ini menunjukkan, kadar leptin serum pada tikus yang diinduksi diet atherogenik selama 6 sama dengan tikus yang diinduksi diet atherogenik selama 10 minggu (tidak berbeda bermakna). Selain itu, kadar leptin serum kelompok KP juga tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan KN.

Penelitian yang dilakukan Carhuatanta (2011), kadar leptin serum pada tikus dengan diet normal sebesar 2.08 ± 1.09 ng/mL, dan pada penelitian Ahima (1999) sebesar 3.8 ± 0.2 ng/mL. Hasil pengukuran kadar leptin pada penelitian ini cenderung lebih tinggi dibanding penelitian sebelumnya yaitu kadar leptin serum kelompok diet normal sebesar 4.41 ± 0.65 ng/mL. Tingginya kadar leptin pada kelompok KN diduga karena tikus mengalami stres. Sebelum dilakukan periode perlakuan tikus di *animal house* FK UNISMA, tikus dilakukan periode induksi di *animal house* FK UMM. Kondisi *animal house* dinilai kurang layak dikarenakan terdapat terdapat tikus hitam rumahan di dalam *animal house*, kondisi atap *animal house* FK UMM terbuat dari seng yang menimbulkan suara gemuruh saat hujan, serta terdapat kebocoran pada atap yang menyebabkan air masuk ke dalam kandang tikus pada penelitian ini. Stres dapat memicu menginduksi transkripsi leptin di jaringan adiposa melalui aktivasi HPA aksis dan sekresi kortisol sebagai hormon stres⁶³. Sehingga kadar leptin meningkat yang kemudian memobilisasi cadangan energi untuk mengatasi kondisi stres

Menurut teori, kadar leptin serum menurun saat pembatasan makan dan meningkat dengan makan dengan meningkatnya transkripsi mRNA leptin⁵⁹. Penelitian yang dilakukan oleh Lee (2006), menemukan bahwa terjadi penurunan kandungan leptin jaringan dan sekresi leptin pada tikus (6-7 minggu) di jaringan adiposa⁵⁹. Namun perubahan kadar mRNA leptin tidak menjelaskan adanya penurunan sekresi leptin maupun kadar leptin serum⁵⁹. Hal ini mungkin menjelaskan mengapa kadar leptin serum kelompok KP tidak berbeda signifikan dibandingkan KN. Selain itu terdapat perbedaan perlakuan yang dilakukan Lee dengan penelitian ini. Kelompok yang dibandingkan adalah antara kelompok tikus yang dibiarkan kelaparan selama 1 malam dan kelompok yang diberi makan normal. Pada penelitian ini, kelompok kontrol negatif merupakan tikus yang diberi makan normal sedangkan kontrol positif diberi diet atherogenik. Hasil ini didukung oleh penelitian dari Almira (2014), yang menemukan tidak ada perbedaan bermakna pada kelompok tikus kontrol tanpa diet tinggi lemak (C-NonHF) dengan kelompok kontrol dengan diet tinggi lemak (C-HF)⁶⁰.

Hal lain yang mempengaruhi kadar leptin dalam darah adalah asupan makan dan insulin, penelitian sebelumnya melaporkan insulin dapat meningkatkan kadar leptin serum secara *in vivo* dan *in vitro*^{54,55}. Insulin merupakan hormon yang tersekresi saat adanya metabolisme glukosa dalam tubuh³⁹. Diet standar yang terdiri dari komposisi PARS, tepung terigu dan air merupakan diet tinggi karbohidrat. Sedangkan diet atherogenik yang merupakan diet standar dengan tambahan kolesterol, minyak babi dan asam kolat adalah jenis makanan tinggi lemak²⁹. Metabolisme lemak di dalam tubuh dapat meningkatkan simpanan lemak tubuh pada jangka panjang¹³. Leptin yang diproduksi dari lemak putih merupakan pengaturan energi jangka panjang sedangkan leptin yang diproduksi oleh sel mukosa lambung saat terjadi proses pencernaan merupakan pengaturan jangka pendek⁴⁰. Peneliti beranggapan bahwa dalam kadar leptin serum antara diet standar dan diet atherogenik tidak berpengaruh secara bermakna karena jenis makanan tinggi glukosa dan tinggi lemak memberi efek yang sama pada pemaparan akut berdasarkan jalur metabolisme fisiologis.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Terhadap Kadar Leptin Serum Tikus Wistar Betina dengan Diet Atherogenik

Hasil uji ONE WAY ANOVA terhadap kadar leptin serum kelompok perlakuan (KSK, KDH, KSH)

dibanding kelompok KP menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Namun uji lanjut antar kelompok menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan kadar leptin masing-masing kelompok perlakuan (KSK, KDH, dan KSH) dibanding dengan KP. Penelitian sebelumnya mengatakan bahwa stres dapat mengaktivasi HPA axis dan meningkatkan hormon kortisol dalam darah yang dapat memicu peningkatan transkripsi mRNA leptin⁶⁰. Peneliti menduga, stressor yang diberikan pada penelitian ini kurang adekuat untuk mengubah kadar leptin serum. Peningkatan durasi berenang dan suhu air yang lebih rendah mungkin dapat meningkatkan stres yang terjadi pada tikus, sehingga diharapkan dapat mempengaruhi kadar leptin serum secara bermakna.

Uji statistik yang dilakukan antar kelompok perlakuan menunjukkan kadar leptin kelompok KSK lebih tinggi signifikan dibanding kelompok KDH dan KSH. Pemberian frekuensi latihan fisik seminggu dua kali pada kelompok KSK menunjukkan hasil pengukuran berat badan di akhir perlakuan (150.17 ± 10.04 g) paling kecil dibandingkan kelompok KP maupun kelompok perlakuan lain. Kelompok KSK mengalami penurunan berat badan selama penelitian (tabel 2) dengan selisih berat badan akhir dikurangi berat badan sebelum periode perlakuan hasilnya negatif (-3.83 ± 15.57). Ini berarti perlakuan stres fisik seminggu dua kali dapat meningkatkan kadar leptin serum diikuti penurunan berat badan pada tikus dengan diet atherogenik.

Hormon leptin bekerja di nukleus arkuatus di hipotalamus melalui mekanisme umpan-balik negatif sebagai sinyal “pelangsing”¹³. Bersama dengan insulin, hormon leptin menghambat sinyal NPY (perangsang nafsu makan) dan merangsang pengeluaran melanokortin (penekan nafsu makan) dari hipotalamus¹³. Selain pada otak, leptin bekerja pada jaringan adiposa, menghambat lipogenesis namun merangsang lipolisis dan oksidasi asam lemak⁵⁸. Peneliti menganggap, pemberian stress fisik dua kali seminggu belum membuat menimbulkan kondisi stres pada tikus melainkan sebagai latihan fisik yang berdampak positif pada tubuh. Latihan fisik telah terbukti dapat meningkatkan sensitivitas insulin, memperbaiki profil lipid, menurunkan berat badan dan digunakan sebagai intervensi utama sebagai upaya pencegahan obesitas⁴⁴.

Hal berbeda ditunjukkan bila frekuensi stres fisik ditingkatkan. Peningkatan frekuensi stres fisik menjadi 3 kali seminggu (KDH) dan setiap hari (KSH), menyebabkan terjadi penurunan kadar leptin serum secara signifikan dibandingkan kelompok KSK (seminggu 2 kali). Seiring dengan penurunan kadar leptin, pengukuran BB akhir KDH (190 g) menunjukkan kenaikan dengan berat paling besar dengan uji statistik terdapat perberbedaan signifikan

dibandingkan KP. Begitu pula berat badan akhir kelompok KSH (182 g) berbeda signifikan dibandingkan KP. Peningkatan berat badan tikus model atherogenik pada penelitian ini bukan disebabkan oleh resistensi leptin yang sering terjadi pada obesitas. Karena peningkatan berat badan selama penelitian berbanding lurus dengan penurunan kadar leptin serum yang berfungsi dalam regulasi keseimbangan energi.

Pada saat aktivitas berlebihan seperti olahraga aerobik berenang, kebutuhan oksigen akan bertambah sebagai upaya dalam produksi energi¹⁷. Namun bila berlebihan, tubuh dapat jatuh pada kondisi stres hipoksia meningkatkan *hipoksia-induced factor 1* (HIF-1) akibatnya terjadi respon tubuh untuk meningkatkan transkripsi leptin, mentransmisikan promotor leptin manusia^{17,21}. Namun demikian perubahan kadar mRNA leptin tidak menjelaskan adanya peningkatan kadar leptin serum⁵⁹. Hal ini mungkin dapat menjelaskan mengapa kadar leptin serum tikus dengan frekuensi stres fisik berseling dan setiap hari menjadi rendah.

Bukti menunjukkan bahwa tingkat stres kronik meningkatkan pelepasan NPY dari saraf simpatis, yang dapat meningkatkan deposisi lemak visceral¹³. Penelitian lain menunjukkan perlakuan aktivitas fisik bila dipapar dengan diet tinggi lemak ditemukan memiliki efek yang justru berlawanan pada homeostasis energi dan aktivasi saraf *venteromedial hipotalamus* (VMH), meskipun aktivitas fisik saja (tanpa diet atherogenik) diketahui dapat mengaktifkan neuron VMH dan menurunkan berat badan²⁶. VMH telah lama diketahui terlibat dalam regulasi keseimbangan energi dan homeostasis glukosa⁴². Hormon leptin dapat merangsang VMH menyebabkan penekanan nafsu makan dan menurunkan berat badan^{13,26}. Kompensasi ini diyakini terjadi karena, sesuai dengan hipotesis adipositik, dimana peningkatan pengeluaran energi selama olahraga akan memicu sistem saraf pusat untuk merespon dengan peningkatan asupan makan sehingga mencegah dari penurunan cadangan lemak tubuh^{47,48}. Sehingga berat badan tikus cenderung tinggi.

Uji statistik kadar leptin serum kelompok KDH dengan KSH tidak berbeda signifikan dan cenderung sama. Hal ini dapat disebabkan karena pemberian frekuensi stres fisik berseling (Kelompok Dua hari Sekali) dan setiap hari (Kelompok Setiap Hari) direspon tikus sebagai stressor yang tidak berbeda intensitasnya.

Belum pernah dilakukan penelitian yang mengukur kadar leptin dengan berbagai frekuensi stres fisik. Sehingga peneliti melihat kemungkinan bahwa peningkatan berat badan yang terjadi bila frekuensi stres fisik dinaikan bisa disebabkan oleh

peningkatan massa otot saja tanpa peningkatan kandungan lemak tubuh. Sehingga kadar leptin yang terukur rendah mungkin diakibatkan oleh rendahnya kandungan jaringan adiposa yang menghasilkan leptin. Kemungkinan lain, seperti yang dijelaskan diatas bahwa adanya kompensasi ketika stres dengan meningkatkan asupan makan yang diatur oleh berbagai sinyal di saraf pusat. Kami tidak dapat menyimpulkan hal tersebut karena parameter pengukuran jaringan adiposa pada tikus tidak dilakukan.

Hubungan Antara Leptin Serum dengan Asupan Makan dan Berat Badan Tikus Wistar Betina dengan Diet Atherogenik

Uji korelasi menunjukkan kadar leptin serum dengan asupan makan memiliki nilai yang tidak signifikan, dengan derajat korelasi lemah -0.10 . Artinya tidak ada hubungan bermakna kadar leptin serum dengan asupan makan tikus. Leptin diusulkan menjadi regulator sinyal umpan balik dari lemak yang dapat menekan nafsu makan dan meningkatkan *thermogenesis*¹³. Namun konsentrasi leptin serum tidak dipengaruhi langsung oleh pengaruh diet atau ketersediaan makanan dalam tubuh melainkan efek sekunder dari cadangan lemak tubuh. Kadar leptin dalam darah merupakan regulator energi jangka panjang yang dipengaruhi oleh kandungan lemak tubuh bertindak menargetkan sistem saraf pusat untuk pengeluaran energi dan metabolisme glukosa dalam jaringan perifer⁶². Sedangkan asupan makan berhubungan langsung dengan kadar leptin di dalam jaringan, seperti leptin yang dihasilkan oleh mukosa lambung⁶². Hal ini menjelaskan walaupun leptin bekerja dengan menekan nafsu makan, namun kadar leptin di serum tidak berhubungan langsung dengan asupan makan.

Uji korelasi antara kadar leptin serum dengan berat badan akhir menunjukkan nilai signifikan dengan korelasi negatif lemah (-0.379) . Artinya, semakin tinggi kadar leptin maka berat badan tikus akan semakin rendah. Leptin dari jaringan akan bekerja hipotalamus otak untuk merangsang neuron penghasil *proopiomelanocortin* (POMC) yang bersifat anoreksigenik sehingga dapat menekan asupan makan dan menurunkan berat badan¹³. Hasil pada penelitian ini juga terjadi pada penelitian Harris (2012), yang menyatakan bahwa tikus yang menerima perlakuan infus leptin di ventrikel ke-4 otak dapat meningkatkan massa lemak tubuh secara signifikan dalam 12 hari. Ia mengatakan peningkatan lemak tubuh terjadi tanpa diikuti peningkatan asupan makanan sehari-hari. Namun pada penelitian tersebut memiliki korelasi positif antar kadar leptin dengan berat badan. Hal ini karena pada penelitian Harris, kondisi hewan coba

sudah jatuh pada keadaan obesitas. Kadar leptin serum ditemukan tinggi pada kondisi obesitas akibat kegagalan pada area tertentu di otak dalam menanggapi leptin²⁶. Pada penelitian ini, tikus masih dalam kondisi hiperlipidemia. Oleh sebab itu resistensi leptin mungkin belum terjadi sehingga didapatkan respon leptin yang normal dalam tubuh tikus. Semakin tinggi kadar leptin maka berat badan tikus akan semakin rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Diet atherogenik tidak mempengaruhi kadar leptin serum.
2. Pemberian frekuensi stres fisik yang tepat dapat secara efektif meningkatkan kadar leptin serum dan menurunkan berat badan pada tikus dengan model atherogenik. Namun, pemberian stres fisik berlebihan justru menurunkan kadar leptin serum dan memodulasi kenaikan berat badan.
3. Perlakuan stres fisik dua kali seminggu (KSK) merupakan frekuensi fisik yang paling baik mencegah obesitas.

SARAN

Untuk perbaikan penelitian selanjutnya disarankan untuk :

1. Berhati-hati dalam melakukan pemeliharaan hewan coba agar tidak terjadi faktor stres lain selain stres fisik yang diberikan

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) karena telah membantu dalam pendanaan hingga terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Amit, R., Christoph Z., dan Lorenzo M. (2011). *Strategic Management Journal*, The Business Model: Recent Developments and Future Research. Vol. 42, 216-226.
2. Verma, N. (2016). *Introduction To Hyperlipidemia And Its Treatment: A Review. International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 9(1), 6. doi:10.22159/ijcpr.2017v9i1.16616
3. **American Heart Association (AHA)**. (2012). Heart disease and stroke statistics-2012 update.

4. **Center for Disease Control and Prevention (CDC)** 2012. Body Mass Index: Considerations for Practitioners. 1-4
5. **National Institute For Health and Clinical Excellence.**, 2011. Clinical Management of Primary. <http://www.nhlbi.nih.gov/health/healthtopics/topics/hbp/>
6. **Kemenkes Ri.** 2013. Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS. Jakarta: Balitbang Kemenkes Ri.
7. **WHO-Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles**, 2014. Indonesia. Diunduh dari: www.who.int/nmh/countries/idn_en.pdf. [Diakses pada 29 oktober 2018].
8. Sullivan PW, Morrao EH, Ghushchyan V, Wyatt HR, Hill JO 2005 Obesity, inactivity, and the prevalence of diabetes and diabetes related cardiovascular comorbidities in the US, 2000–2002. *Diabetes Care* 28:1599–1603
9. Onwe, P. E., Folawiyi, M. A., Anyigor, O. C. S., Umahi, G., Okorochoa, A. E., & Afoke, A. O. 2015. Hyperlipidemia : Etiology and Possible Control. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 14(10), 93 – 100.
10. Adekunle, A. S., Adedeji, A. L., Oyewo, E. O., Adedosu, O. T., & Omotoso, A. T. 2013. Hyperlipidemia Induced by Atherogenic Diet Enhanced Oxidative Stress in the Kidney and Inflammatory Responses: An In-Vivo Study. *Asian Journal of Natural & Applied Sciences*, 2(1), 82–93.
11. Guyton A.C, dan Hall, J.E. 2014. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Ed 12. Penerjemah: Ermita I, Ibrahim I. Singapura: Elsevier
12. Soegondo, Sidartawan., Suyono, S., Setiabudy, R., dkk. 2004. Hubungan leptin dengan dislipidemia aterogenik pada obesitas sentral: kajian terhadap small dense low density lipoprotein. Universitas Indonesia Library. <http://lib.ui.ac.id/detail?id=20425808&lokasi=lokal> [diakses tanggal 17 November 2018]
13. Sherwood, Lauralee. 2015. Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem Ed. 6. Jakarta: EGC.
14. Haluzrk, M., Fiedler, J., Nedvrdková, J., & Česka, R. (2000). Serum leptin levels in patients with hyperlipidemias. *Nutrition*, 16(6), 429–433. doi:10.1016/s0899-9007(00)00288-4
15. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, *et al.* Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med* 1995;1:1155–61.
16. Morris, D. L., & Rui, L. (2009). Recent advances in understanding leptin signaling and leptin resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 297(6), E1247–E1259. doi:10.1152/ajpendo.00274.2009
17. Facey, A., Dilworth, L., & Irving, R. (2017). A Review of the Leptin Hormone and the Association with Obesity and Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 08(03). doi:10.4172/2155-6156.1000727
18. Kang, S., Kim, K. B., & Shin, K. O. (2013). Exercise training improve leptin sensitivity in peripheral tissue of obese rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 435(3), 454–459. doi:10.1016/j.bbrc.2013.05.007
19. Romijn, J.A., Coyle FE, Sidossis LS, Rosenblatt J & Wolfe RR. Substrate Metabolism During Different Exercise Intensities in Endurance-Trained Woman. *Journal of Applied Physiology*. 2000. 88:1707-1714.
20. Tappy *et al.* Energy Expenditure, Physical Activity, and Body Weight Control. *Proceedings of the Nutrition Society*. 203. 62:663-666
21. Ambrosini G, Nath AK, Sierra-Honigmann MR, Flores-Riveros F. Transcriptional activation of the human leptin gene in response to hypoxia: involvement of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* (2002) 277(37):34601–9. doi:10.1074/jbc.M205172200
22. Grosfeld A, André J, Hauguel-de Mouzon S, Berra E, Pouyssegur J, Guerre-Millo M. Hypoxia-inducible factor 1 transactivates the human leptin gene promoter. *J Biol Chem* (2002) 277(45):42953–7. doi:10.1074/jbc.M206775200
23. Clark, A & Mach, N. Exercise-induced Stress Behavior, Gut Microbiota-brain Axis and Diet: A Systematic Review for Athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2016. 13(43):1-21.
24. Gong DW, Bi S, Pratleys RE, Weintraub BD. Genomic structure and promoter analysis of the human *obese* gene. *J Biol Chem* (1996) 271(8):3971–4. doi:10.1074/jbc.271.8.3971
25. Baltaci, A. K., Vurucu, N., Uzun, A., Mogulkoc, R., & Kilic, M. (2013). The effect of acute swimming exercise on plasma leptin rats. *Bratislava Medical Journal*, 113(10), 592-594.
26. Carhuatanta, K. A. K., Demuro, G., Tschop, M. H., Pfluger, P. T., Benoit, S. C., & Obici, S. (2011). Voluntary Exercise Improves High-Fat Diet-Induced Leptin Resistance Independent of Adiposity. *Endocrinology*, 152(7), 2655-2664.
27. Hopkins M, King NA, Blundell JE 2010 Acute and long-term effects of exercise on appetite control: is there any benefit for weight control? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 13:635–640
28. Melzer K, Kayser B, Saris WH, Pichard C 2005 Effects of physical activity on food intake. *Clin Nutr* 24:885–895

29. Triliana, Rahma. Pengaruh Terapi Suplementasi Sterol Tanaman (Fitosterol) pada Profil Lemak, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Perhitungan Sel Busa Aorta Tikus Pascadiet Atherogenik. Tesis Program Studi Biomedik Minat Farmakologi Kedokteran Program Pascasarjana Universitas Brawijaya : tidak diterbitkan. 2005.
30. Leite *et al.* Glycolytic and Mitochondrial Metabolism in Pancreatic Islets from MSG-Treated Obese Rats Subjected to Swimming Training. *Cell Physiol Biochem*. 2013. 31: 242-256.
31. National Institute of Health Science Compare Rat Genom with Human. National Human Genome Research Institute. www.genome.gov/11511308/204. 2004
32. Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, et al. Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J Endocrinol* 1997;154:285
33. Haffner SM, Mykkaˆnen L, Stern MP. Leptin concentrations in women in the San Antonio Heart Study: effect of menopausal status and postmenopausal hormone replacement therapy. *Am J Epidemiol* 1997;146:581
34. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013. 4(6): 624-30
35. Sakr, HF. Modulation of Metabolic and Cardiac Dysfunction by Swimming in Overweight Rats on A high Cholesterol and Fructose Diet: Possible Role of Adiponectin. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2013. 64(2), 231-240.
36. Grhanesia, Tiara. Pengaruh Beban Latihan-Renang Tunggal Dan Berulang Secara Berlebihan Terhadap Berat Badan Dan Aktivitas Enzim Alanin Aminotransferase (ALT) Dalam Plasma Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar. Skripsi Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak. 2016.
37. Liu *et.al.* Chronic Co-Species Housing Mice and Rats Increased the Competitiveness of Male Mice. *Chemical Sense Oxford*. 2017. 42:247-257.
38. Camacho, A.L. 2017. Review Article: Influence on Adiposity and Atherogenic Lipidemia of Fatty Meals and Snacks in Daily Life. *Journal of Lipids*, 2017, 1-6
39. Tsai, Minglun & Asakawa, Akihiro & Amitani, Haruka & Inui, Akio. (2012). Stimulation of leptin secretion by insulin. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 16. S543-8. 10.4103/2230-8210.105570.
40. Bendayan M* and Cammisotto PG. 2016. Leptin Secretion by Adipose Tissue and Gastric Mucosa for the Control of Food Intake: A Review *Austin J Endocrinol Diabetes*. 2016; 3(3): 1048.
41. Patterson CM, Levin BE 2008 Role of exercise in the central regulation of energy homeostasis and in the prevention of obesity. *Neuroendocrinology* 87:65-70
42. Miller NE, Bailey CJ, Stevenson JA 1950 Decreased "hunger" but increased food intake resulting from hypothalamic lesions. *Science* 112:256-259
43. Dhillon H, Zigman JM, Ye C, Lee CE, McGovern RA, Tang V, Kenny CD, Christiansen LM, White RD, Edelstein EA, Coppari R, Balthasar N, Cowley MA, Chua Jr S, Elmquist JK, Lowell BB 2006 Leptin directly activates SF1 neurons in theVMH, and this action by leptin is required for normal body-weight homeostasis. *Neuron* 49: 191-203
44. Patterson CM, Bouret SG, Dunn-Meynell AA, Levin BE 2009 Three weeks of postweaning exercise in DIO rats produces prolonged increases in central leptin sensitivity and signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 296:R537-R548
45. Shapiro A, Matheny M, Zhang Y, Tuˆmer N, Cheng KY, Rorigues E, Zolotukhin S, Scarpace PJ 2008 Synergy between leptin therapy and a seemingly negligible amount of voluntary wheel running prevents progression of dietary obesity in leptin-resistant rats. *Diabetes* 57:614-622
46. Church TS, Martin CK, Thompson AM, Earnest CP, Mikus CR, Blair SN 2009 Changes in weight, waist circumference and compensatory responses with different doses of exercise among sedentary, overweight postmenopausal women. *PLoS ONE* 4:e4515
47. Schwartz MW, Woods SC, Porte Jr D, Seeley RJ, Baskin DG 2000 Central nervous system control of food intake. *Nature* 404:661-671
48. Finlayson G, Caudwell P, Gibbons C, Hopkins M, King N, Blundell J 20 September 2010 Low fat loss response after medium-term supervised exercise in obese is associated with exercise-induced increase in food reward. *J Obes* 10.1155/2011/615624
49. Martins C, Kulseng B, King NA, Holst JJ, Blundell JE 2010 The effects of exercise-induced weight loss on appetite-related peptides and motivation to eat. *J Clin Endocrinol Metab* 95:1609-1616
50. Catoire, M, et al. Fatty Acid-Inducible ANGPTL4 Governs Lipid Metabolic Response to Exercise. *PNAS Direct Submission*. 2014;E1043-E1052

51. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, et al. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425
52. Considine RV, Sinha MK, Heimann ML, et al. Studies of circulating leptin by radioimmunoassay in human with and without obesity. *N Engl J Med* 1996;344: 293
53. Sinha MK, Ohannesian JP, Heimann ML, et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese and non-insulin dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 1996; 97:1344
54. Kolaczynski JW, Nyce MR, Considine RV, et al. Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. Studies in vivo and in vitro. *Diabetes* 1996;45:699
55. Wabnitz M, Jensen PB, Blum WF, et al. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes* 1996;45:1435
56. Al-Shoumer KAS, Anyaoku V, Richmond W, Johnston DG. Elevated leptin concentration in growth hormone-deficient hypopituitary adult. *Clin Endocrinol* 1997;47:153
57. Leyva F, Godsland IF, Hatei M, et al. Hyperleptinemia as a component of a metabolic syndrome of cardiovascular risk. *Arter Thromb Vasc Biol* 1998;18:928
58. Wang Z et. al. Chronic Hyperthrophy and Fibrosis in Mice. HHS Public Access: **Journal of Metabolism**. 2015. 64(8):917-925
59. Lee, M.-J., Yang, R.-Z., Gong, D.-W., & Fried, S. K. (2006). Feeding and Insulin Increase Leptin Translation. *Journal of Biological Chemistry*, 282(1), 72–80. doi:10.1074/jbc.m609518200
60. Almira Hadžović-Džuvo I*, Orhan Lepara I, Amina Valjevac I, Nesina Avdagić I, Asija Začiragić I Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Sarajevo, Čekaluša 90, 71000 Sarajevo, Bosnia and Herzegovina Submitted: 17.11.2014. / Accepted: 6.12.2014.
61. Leal-Cerro A, Soto A, Martínez MA, Dieguez C, Casanueva FF. Influence of cortisol status on leptin secretion. *Pituitary* (2001) 4:111–6. doi:10.1023/A:101290333094.
62. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 1995; 269: 546-5
63. Deck, C. A., Honeycutt, J. L., Cheung, E., Reynolds, H. M., & Borski, R. J. (2017). Assessing the Functional Role of Leptin in Energy Homeostasis and the Stress Response in

Vertebrates. **Frontiers in Endocrinology**,
8.doi:10.3389/fendo.2017.0006