



**PENGARUH PEMBERIAN ASAM LEMAK TRANS
TERHADAP JUMLAH SEL DARAH MERAH TIKUS
SPRAGUE DAWLEY**

**LAPORAN HASIL
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian laporan hasil Karya Tulis
Ilmiah mahasiswa Program Strata-1 Kedokteran Umum**

**GERY RIFANO HARDANTO
G2A008086**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2012**



**PENGARUH PEMBERIAN ASAM LEMAK TRANS
TERHADAP JUMLAH SEL DARAH MERAH TIKUS
SPRAGUE DAWLEY**

**LAPORAN HASIL
KARYA TULIS ILMIAH**

**Diajukan sebagai syarat untuk mengikuti ujian laporan hasil Karya Tulis
Ilmiah mahasiswa Program Strata-1 Kedokteran Umum**

**GERY RIFANO HARDANTO
G2A008086**

**PROGRAM PENDIDIKAN SARJANA KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2012**

LEMBAR PENGESAHAN LAPORAN HASIL KTI

PENGARUH PEMBERIAN ASAM LEMAK TRANS TERHADAP JUMLAH SEL DARAH MERAH TIKUS SPRAGUE DAWLEY

Disusun oleh

GERY RIFANO HARDANTO
G2A008086

Telah disetujui

Semarang, 8 Agustus 2012

Pembimbing 1

Pembimbing 2

dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes
19531109 198301 2 001

dr. Hardian
19630414 199001 1 001

Ketua Penguji

Penguji

dr. Santoso, M.Si.Med
19830213 200812 1 001

dr. Yora Nindita, M.Sc
19811111 200801 2 014

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini,

Nama : Gery Rifano Hardanto

NIM : G2A008086

Alamat : Jalan Menoreh Utara XII No. 9 Kel. Sampangan Semarang

Mahasiswa : Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran
UNDIP Semarang.

Dengan ini menyatakan bahwa,

- (a) Karya tulis ilmiah saya ini adalah asli dan belum pernah dipublikasikan atau diajukan untuk mendapatkan gelar akademik di Universitas Diponegoro maupun di perguruan tinggi lain.
- (b) Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan orang lain, kecuali pembimbing dan pihak lain sepengetahuan pembimbing.
- (c) Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan judul buku aslinya serta dicantumkan dalam daftar pustaka.

Semarang, 8 Agustus 2012
Yang membuat pernyataan,

Gery Rifano Hardanto

KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas kasih dan karuniaNya, penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley”.

Penulisan Karya Tulis Ilmiah ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penulis menyadari karya tulis ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan dari kekurangan-kekurangan yang ada sehingga Karya Tulis Ilmiah ini bisa bermanfaat. Melalui kesempatan yang berharga ini penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan kepada :

1. Prof. Sudharto P. Hadi, MES, PhD selaku Rektor Universitas Diponegoro, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menimba ilmu di Universitas Diponegoro
2. dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro yang telah memberikan sarana dan prasarana kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini dengan baik dan lancar
3. dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
4. dr. Hardian selaku dosen pembimbing metodologi penelitian yang juga telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
5. Dr. drh. Puji Astuti, M. P. selaku kepala Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Terpadu Unit IV Universitas Gadjah Mada yang telah membantu menyediakan sarana dan prasarana pemeliharaan hewan coba

6. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dana untuk melaksanakan Karya Tulis Ilmiah yang telah penulis usulkan
7. Orang tua beserta keluarga penulis yang senantiasa memberikan dukungan moral maupun material
8. Teman-teman dan sahabat yang selalu memberi dukungan dan bantuan dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
9. Serta pihak lain yang tidak mungkin penulis sebutkan satu-persatu atas bantuannya secara langsung maupun tidak langsung sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan

Akhir kata, penulis berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Semarang, Agustus 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
ABSTRAK	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang	1
1.2 Permasalahan penelitian	3
1.3 Tujuan penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan umum	4
1.3.2 Tujuan khusus	4
1.4 Manfaat penelitian.....	5
1.5 Keaslian penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Asam lemak trans	7
2.1.1 Struktur kimia asam lemak trans	7
2.1.2 Kandungan asam lemak trans dalam makanan	9
2.1.3 Pedoman gizi konsumsi asam lemak trans	9
2.2 Sel darah merah.....	10
2.2.1 Struktur dan fungsi sel darah merah	10
2.2.1.1 Membran sel darah merah	10
2.2.1.2 Fungsi sel darah merah	12

2.2.2	Pengaturan produksi sel darah merah.....	12
2.2.3	Anemia.....	13
2.3	Spesies Oksigen Reaktif (SOR)	14
2.3.1	Definisi SOR.....	14
2.3.2	Pengaruh stres oksidatif pada sel/jaringan.....	15
2.3.3	Sumber oksigen reaktif.....	16
2.4	Pengaruh asam lemak trans pada sel darah merah	16
2.4.1	Pengaruh asam lemak trans terhadap struktur membran sel darah merah	16
2.4.2	Pengaruh asam lemak trans terhadap stres oksidatif sel darah merah	17
2.4.3	Asam lemak trans dan inflamasi	19
BAB 3 KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS		21
3.1	Kerangka teori.....	21
3.2	Kerangka konsep	21
3.3	Hipotesis	22
3.3.1	Hipotesis mayor.....	22
3.3.2	Hipotesis minor	22
BAB 4 METODE PENELITIAN		23
4.1	Ruang lingkup penelitian	23
4.2	Tempat dan waktu penelitian	23
4.3	Jenis dan rancangan penelitian.....	23
4.4	Sampel	24
4.4.1	Kriteria inklusi	24
4.4.2	Kriteria eksklusi	24
4.4.3	Kriteria <i>drop out</i>	24
4.4.4	Cara sampling.....	24
4.4.5	Besar sampel	24
4.5	Variabel penelitian	25
4.5.1	Variabel bebas	25

4.5.2	Variabel terikat	25
4.5.3	Variabel perancu	25
4.6	Definisi operasional.....	25
4.7	Cara pengumpulan data	26
4.7.1	Bahan	26
4.7.2	Alat	26
4.7.3	Jenis data.....	26
4.7.4	Cara kerja	27
4.7.4.1	Pemberian asam lemak trans.....	27
4.7.4.2	Hewan coba.....	27
4.7.4.3	Pengukuran sel darah merah	27
4.8	Alur penelitian.....	28
4.9	Analisis data.....	28
4.10	Etika penelitian.....	29
4.11	Jadwal Penelitian.....	29
	BAB 5 HASIL PENELITIAN.....	30
5.1	Berat badan hewan coba	30
5.2	Jumlah sel darah merah hewan coba	33
	BAB 6 PEMBAHASAN	36
	BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	39
7.1	Kesimpulan	39
7.2	Saran	40
	DAFTAR PUSTAKA	41
	LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian penelitian	5
Tabel 2. Definisi operasional.....	25
Tabel 3. Jadwal penelitian.....	29
Tabel 4. Berat badan hewan coba	30
Tabel 5. Selisih berat badan hewan coba	32
Tabel 6. Jumlah sel darah merah hewan coba	33
Tabel 7. Selisih jumlah sel darah merah hewan coba	34
Tabel 8. Detail komposisi pelet tikus.....	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur kimia asam lemak konfigurasi cis dan trans.....	8
Gambar 2.	Konfigurasi molekuler asam lemak trans dan cis	8
Gambar 3.	Membran sel darah merah.....	11
Gambar 4.	Kerangka teori.....	21
Gambar 5.	Kerangka konsep	21
Gambar 6.	Skema desain penelitian	23
Gambar 7.	Alur penelitian.....	28
Gambar 8.	Berat badan hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian	31
Gambar 9.	Selisih berat badan hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2	32
Gambar 10.	Jumlah sel darah merah hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian	33
Gambar 11.	Selisih jumlah sel darah merah hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Detail komposisi pelet tikus	44
Lampiran 2. <i>Ethical clearance</i> penelitian	45
Lampiran 3. Surat ijin penelitian	46
Lampiran 4. <i>Spreadsheet</i> data penelitian	47
Lampiran 5. Hasil keluaran program statistik	48
Lampiran 6. Dokumentasi penelitian.....	57
Lampiran 7. Biodata penulis	58

DAFTAR SINGKATAN

EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i>
gr/dl	: gram/desiliter
Hb	: Haemoglobin
HbA ₂	: Adult haemoglobin
HbF	: Foetal haemoglobin
HbFe ²⁺	: Ferro haemoglobin
HDL	: <i>High density lipoprotein</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
LDL	: <i>Low density lipoprotein</i>
PC	: <i>Phosphatidilcholine</i>
PCV	: <i>Packed cell volume</i>
PE	: <i>Phosphatidiletanolamine</i>
PS	: <i>Phosphatidilserin</i>
PUFA	: <i>Poly unsaturated fatty acid</i>
SOR	: Spesies Oksigen Reaktif
SPh	: <i>Sphingomyelin</i>
TNF- α	: <i>Tumor necrosis factor-alpha</i>
USDA	: <i>United states department of agriculture</i>
WHO	: <i>World health organization</i>

ABSTRAK

Latar Belakang Anemia merupakan suatu gejala akibat menurunnya jumlah sel darah merah yang dapat disebabkan oleh konsumsi makanan cepat saji yang mengandung asam lemak trans. Asupan asam lemak trans memicu terjadinya respon inflamasi sistemik sehingga dapat menurunkan jumlah sel darah merah.

Tujuan Membuktikan pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.

Metode Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design*. Subjek penelitian adalah 21 ekor tikus Sprague Dawley jantan usia 8 minggu. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok kontrol diberi pakan standar, kelompok perlakuan 1 diberi pakan dengan kadar asam lemak trans 5%, dan kelompok perlakuan 2 diberi pakan dengan kadar asam lemak trans 10% selama 8 minggu. Masing-masing kelompok diambil darahnya sebelum dan sesudah intervensi untuk diukur jumlah sel darah merahnya. Uji statistik yang digunakan adalah uji t-berpasangan dan uji t-tidak berpasangan.

Hasil Didapatkan perbedaan selisih jumlah sel darah merah pada kelompok yang diberi asam lemak trans 5% dan 10% yang lebih rendah secara tidak bermakna ($p>0,05$) dibandingkan kelompok kontrol. Perbedaan selisih jumlah sel darah merah kelompok yang diberi asam lemak trans 10% juga lebih rendah secara tidak bermakna ($p>0,05$) dibandingkan kelompok yang diberi asam lemak trans 5%.

Kesimpulan Terjadi penurunan selisih jumlah sel darah merah yang tidak bermakna pada tikus Sprague Dawley setelah mendapatkan pemberian asam lemak trans.

Kata Kunci Asam lemak trans, sel darah merah, anemia, tikus Sprague Dawley.

ABSTRACT

Background Anemia is a symptom due to decreasing counts of red blood cells which caused by consumption of fast foods containing trans fatty acid. Intake of trans fatty acid may induce systemic inflammatory response so they can reduce the counts of red blood cells.

Aim To prove the influence of trans fatty acid intake on the counts of red blood cells Sprague Dawley rats.

Methods This study was purely experimental designs research with Randomized Control Group Pretest and Posttest Design. The subjects of study were 21 tail of male Sprague Dawley rats with age of 8 weeks. The samples divided into three groups which were the control group fed with standard, treatment group 1 fed with 5% trans fatty acid and treatment group 2 fed with 10% trans fatty acid during eight weeks. Each group of its blood cell taken before and after intervention to be measured amount of red blood cells. The statistics used were pair t-test and independent t-test.

Results There were difference in counts of red blood cells between group fed with 5% and 10 % trans fatty acid were not significantly lower ($p>0,05$) than the control group. Difference in counts of red blood cells between group fed with 10% trans fatty acid were also not significantly lower ($p>0,05$) than the group fed with 5% trans fatty acid.

Conclusion A decrease in the counts of red blood cells which were not significant in Sprague Dawley rats after getting a trans fatty acid intake.

Keywords trans fatty acid, red blood cell, anemia, Sprague Dawley rats.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Jumlah sel darah merah merupakan salah satu indikator dalam pemeriksaan penunjang untuk menegakkan diagnosis penyakit anemia. Anemia merupakan suatu gejala akibat menurunnya jumlah sel darah merah di dalam sirkulasi darah yang menjadi masalah kesehatan utama masyarakat di seluruh dunia terutama di negara berkembang seperti Indonesia. Anemia merupakan salah satu penyebab penyakit kronik yang mempunyai dampak besar terhadap kesejahteraan sosial dan ekonomi serta kesehatan fisik.¹

Tren perubahan gaya hidup di Indonesia yang condong ke barat turut mempengaruhi timbulnya penyakit yang sangat berhubungan erat dengan pola hidup. Pola hidup seperti ini, misalnya dari segi pola makan, tren konsumsi makanan cepat saji yang mengandung kalori dan asam lemak trans yang tinggi makin marak terjadi.²

Sumber utama asam lemak trans adalah hasil dari proses hidrogenasi parsial asam lemak tak jenuh dengan ikatan rangkap tunggal maupun jamak dalam konfigurasi trans, sebagai contoh adalah makanan cepat saji (*hamburger, pizza, french fries*), produk roti (*cakes, donut, biscuit, brownies*), makanan kemasan (*snack*) dan margarin.^{3,4}

Proses ini terbentuk ketika minyak dalam bentuk cair diubah menjadi lemak setengah padat (margarin) dalam industri minyak nabati untuk pembuatan

makanan. Dengan melalui proses ini, asam lemak trans dianggap sebagai suatu produk buatan atau produk industri.^{3,5}

Asam lemak trans juga terdapat dalam daging dan produk susu dari hewan ruminansia (sapi, domba) dalam jumlah kecil, yang berasal dari hasil aktivitas mikrobial pada lambung hewan ruminansia melalui reaksi biohidrogenasi. Asam lemak trans jenis ini tidak dikaitkan dengan masalah kesehatan dibandingkan dengan asam lemak trans buatan karena perbedaan struktur dan posisi ikatan rangkap diantara keduanya.^{3,6}

Asam lemak trans juga banyak ditemukan pada makanan yang digoreng (makanan gorengan) sehingga konsumsi makanan sumber asam lemak trans tergolong cukup tinggi di Indonesia. Minyak sayur yang peka terhadap pemanasan mengalami proses polimerisasi termal dan reaksi oksidasi selama proses tersebut sehingga terbentuklah asam lemak trans yang disertai dengan turunnya kadar asam lemak tidak jenuh cis.⁷

Hasil penelitian menunjukkan bahwa asupan tinggi asam lemak trans dapat memicu terjadinya respon inflamasi sistemik yang akan menimbulkan stres oksidatif tubuh.⁸ Hal ini akan menyebabkan oksidasi fosfolipid membran sel diantaranya adalah membran sel darah merah sehingga asam lemak trans dapat mengganggu fungsi dan menurunkan fluiditas membran sel darah merah. Hal ini akan berdampak pada mudah rusaknya atau pecahnya sel darah merah sehingga dapat menurunkan jumlah sel darah merah yang dapat menimbulkan anemia.^{9,10}

Mengingat latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian asam lemak trans 5% dan 10% terhadap jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.

Dalam penelitian ini, sumber asam lemak trans 5% dan 10% berasal dari pelet tikus yang dibentuk melalui proses hidrogenasi minyak nabati. Subyek penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley karena tikus tersebut merupakan hewan yang cocok untuk penelitian yang berhubungan dengan lemak dan sudah digunakan dalam penelitian sebelumnya yang juga menyelidiki tentang pengaruh pemberian asam lemak trans pada tikus Sprague Dawley.

1.2 Permasalahan penelitian

Apakah pemberian asam lemak trans dapat menurunkan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang dijabarkan secara khusus sebagai berikut:

- 1) Apakah jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5% lebih rendah daripada yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans?
- 2) Apakah jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10% lebih rendah daripada yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans?
- 3) Apakah jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10% lebih rendah daripada pemberian asam lemak trans 5%?

1.3 Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.

1.3.2 Tujuan khusus

- 1) Mengukur penurunan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5%.
- 2) Mengukur penurunan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10%.
- 3) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5% dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 4) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10% dengan yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans.
- 5) Menganalisis perbedaan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5% dengan pemberian asam lemak trans 10%.

1.4 Manfaat penelitian

- 1) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran tentang pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap jumlah sel darah merah.
- 2) Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh pemberian asam lemak trans terhadap kejadian anemia.

1.5 Keaslian penelitian

Tabel 1. Keaslian penelitian

No.	Peneliti dan Judul Penelitian	Metodologi Penelitian	Hasil
1.	GE Egbung, dkk, <i>Effect of Trans Fatty Acids Consumption on Some Haematological Indices in Albino Wistar Rats</i> , 2009. ¹¹	Desain penelitian: <i>Posttest Only Control Group Design</i> Variabel bebas: <i>intake</i> asam lemak trans yang berasal dari 2 sumber, yaitu margarine dan minyak palem yang diberikan selama 6 minggu Variabel terikat: jumlah total eritrosit, hitung jumlah leukosit, total trombosit, konsentrasi Hemoglobin dan <i>Packed Cell Volume (PCV)</i> Subyek penelitian: 50 ekor tikus wistar albino dengan berat berkisar antara 70-140 gram	Penurunan signifikan dari jumlah total eritrosit, hitung jumlah leukosit, total trombosit, konsentrasi Hemoglobin dan <i>Packed Cell Volume (PCV)</i> akibat pemberian asupan asam lemak trans
2.	Dorfman SE, dkk, <i>Metabolic implications of dietary trans-fatty acids</i> , 2009. ¹²	Desain penelitian: <i>Pretest Posttest Control Group Design</i> Variabel bebas: <i>intake</i> asam lemak trans dengan kadar 10% yang diberikan selama 8	Asam lemak trans mengakibatkan gangguan metabolisme nutrisi pada liver, jaringan adiposa, otot skelet

	minggu Variabel terikat: berat badan, lemak viscera, pengaruh insulin, dan profil metabolik jaringan Subyek penelitian: tikus Sprague Dawley berumur 8 minggu	
3.	Zapolska Downar D, dkk, <i>Trans Fatty Acids induce apoptosis in human endothelial cells</i> , 2005. ¹³	Desain penelitian: <i>Posttest Only Control Group Design</i> Variabel bebas: Asam lemak trans Variabel terikat: Apoptosis sel endotel Subyek penelitian: Kultur sel endothelial
		Asam lemak trans menyebabkan apoptosis sel endotel

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya dalam hal subyek penelitian, desain penelitian, dan variabel yang akan diteliti. Dimana subyek yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley yang berumur 8 minggu dengan berat badan normal. Desain penelitian yang dipakai menggunakan *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design*. Variabel bebas yang diteliti adalah asam lemak trans 5% dan 10%. Variabel terikat yang diteliti adalah jumlah sel darah merah.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

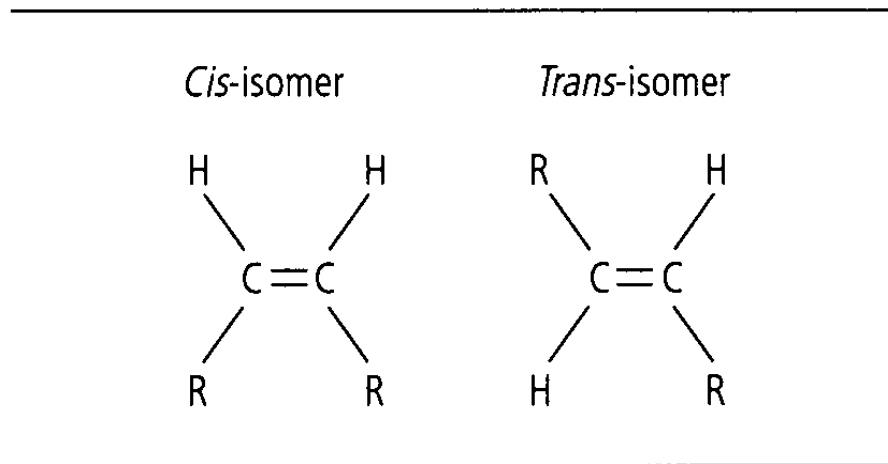
2.1 Asam lemak trans

2.1.1 Struktur kimia asam lemak trans

Asam lemak trans adalah asam lemak tak jenuh dengan minimal satu ikatan rangkap dan konfigurasi trans isomer pada rantai karbonnya. Senyawa ini terbentuk melalui proses hidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh yang bertujuan untuk meningkatkan stabilitas dan titik lelehnya sehingga dapat menjadi padat atau semi padat pada suhu kamar.¹⁴

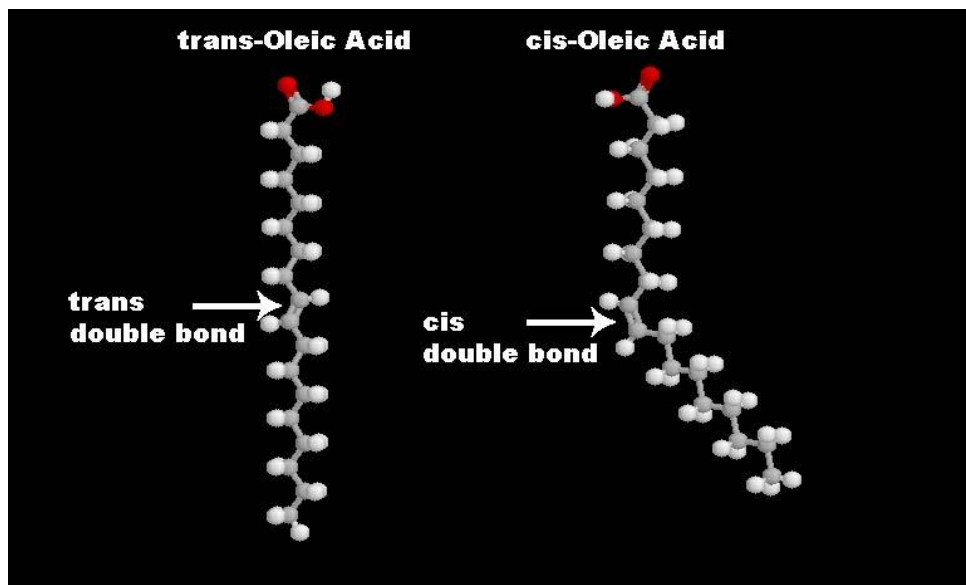
Asam lemak tak jenuh memiliki paling sedikit satu ikatan rangkap di antara atom-atom karbon penyusunnya. Ikatan rangkap ini menyebabkan asam lemak tak jenuh mudah bereaksi dengan oksigen sehingga lebih mudah teroksidasi.¹⁵

Susunan rantai atom karbon pada ikatan rangkap merujuk pada istilah cis dan trans. Atom hidrogen pada ikatan rangkap dalam bentuk trans terletak di kedua sisi yang berlawanan dari atom karbon sedangkan atom hidrogen pada ikatan rangkap dalam bentuk cis berada pada sisi yang sama.¹⁶



Gambar 1. Struktur kimia asam lemak konfigurasi cis dan trans

Sumber: Fenney MJ⁶



Gambar 2. Konfigurasi molekuler asam lemak trans dan cis

Sumber: Fenney MJ⁶

2.1.2 Kandungan asam lemak trans dalam makanan

Asam lemak trans tidak terdapat di alam secara alamiah melainkan sebagai hasil produk buatan atau produk industri karena melalui proses hidrogenasi parsial dari asam lemak tak jenuh.¹⁵

Hasil dari proses tersebut kemudian digunakan dalam proses pembuatan makanan olahan misalnya makanan cepat saji (*hamburger, pizza, french fries*), produk roti (*cakes, donut, biscuit, brownies*), makanan kemasan (*snack*) dan margarin.⁵

Asam lemak trans terdapat dalam jumlah kecil pada daging dan produk susu dari hewan ruminansia seperti sapi dan domba. Senyawa ini diproduksi oleh bakteri di lambung hewan tersebut melalui reaksi biohidrogenasi. Akan tetapi asam lemak trans yang berasal dari sumber ini tidak memiliki dampak yang terlalu signifikan bila dibandingkan asam lemak trans buatan karena terdapat perbedaan struktur dan posisi ikatan rangkap diantara keduanya.^{6, 17}

2.1.3 Pedoman gizi konsumsi asam lemak trans

Indeks kesehatan makanan yang dibuat oleh Departemen Pertanian Amerika Serikat (USDA) tidak memiliki rekomendasi batas eliminasi asupan asam lemak trans. Hal ini disebabkan asam lemak trans secara alami terdapat pada makanan yang berbahan dasar daging dari hewan ruminansia. Indeks kesehatan makanan hanya merekomendasikan untuk menjaga asupan asam lemak trans seminimal mungkin.¹⁸ Organisasi

Kesehatan Dunia (WHO) menargetkan batas yang dianjurkan dari asupan Asam Lemak Trans pada makanan yaitu kurang dari 1% kalori.¹⁹

2.2 Sel darah merah

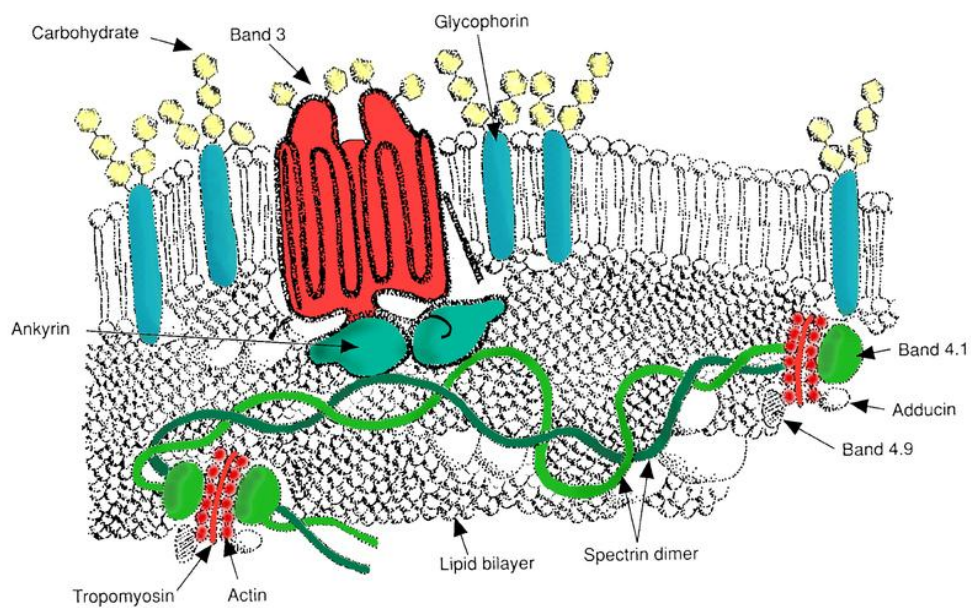
2.2.1 Struktur dan fungsi sel darah merah

2.2.1.1 Membran sel darah merah

Sel darah merah memiliki struktur yang lebih sederhana dari kebanyakan sel tubuh manusia yang lain. Pada dasarnya sel darah merah tersusun dari sebuah membran lipid berlapis ganda, protein membran integral dan rangka membran yang mengelilingi larutan hemoglobin (protein ini membentuk sekitar 95% dari protein intra sel sel darah merah). Di dalam sel darah merah tidak terdapat organel intra sel seperti mitokondria, lisosom, aparatus golgi dan nukleus. Sekitar 50% membran adalah lemak, 40% protein dan 10% karbohidrat.²⁰

Karbohidrat hanya terdapat pada permukaan luar sedangkan protein dapat di perifer atau integral, menembus lipid lapis ganda. Membran sel darah merah mempunyai rangka yang dibentuk protein struktural seperti spektrin alfa dan beta, ankrin, aktin, protein penukar anion yang penting untuk mempertahankan bentuk bikonkaf. Bentuknya yang bikonkaf akan meningkatkan rasio permukaan sel darah merah terhadap volumenya sehingga memperlancar pertukaran gas.^{20,21}

Kelompok utama lipid pada membran sel darah merah adalah fosfolipid dan kolesterol. Fosfolipid mengandung asam arakhidonat yang merupakan asam lemak tak jenuh sebagai komponen utama pembentuk membran sel. Fosfolipid yang utama diantaranya fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), dan fosfatidilserin (PS) bersama spingomielin (SPh). Fosfolipid yang mengandung PC dan SPh mendominasi lipatan membran luar dan fosfolipid yang mengandung amino (PE dan PS) mendominasi lipatan membran sebelah dalam.^{14,20}



Gambar 3. Membran sel darah merah

Sumber: Turgeon ML²¹

2.2.1.2 Fungsi sel darah merah

Fungsi utama sel darah merah adalah membawa oksigen ke jaringan dan mengembalikan karbon dioksida dari jaringan ke paru. Untuk mencapai pertukaran gas ini, sel darah merah mengandung protein khusus yaitu hemoglobin. Tiap sel darah merah mengandung sekitar 640 juta molekul hemoglobin. Tiap molekul hemoglobin (Hb) A pada orang dewasa normal terdiri dari empat rantai polipeptida $\alpha_2\beta_2$, masing-masing dengan gugus heme sendiri. Darah orang dewasa normal juga mengandung HbF dan HbA₂ dalam jumlah kecil. Untuk dapat mengangkut oksigen, hemoglobin harus tersedia dalam bentuk HbFe^{2+} . HbFe^{2+} sangat rentan terhadap oksidasi oleh superoksida dan zat pengoksidasi lainnya. Oksidasi HbFe^{2+} akan membentuk methemoglobin (HbFe^{3+}) yang tidak dapat mengangkut O_2 .^{14,20}

2.2.2 Pengaturan produksi sel darah merah

Dalam minggu-minggu pertama kehidupan embrio, sel-sel darah merah primitif yang berinti diproduksi di *yolk sac*. Selama pertengahan trimester masa gestasi, hati dianggap sebagai organ utama penghasil sel darah merah. Namun, terdapat juga sel-sel darah merah yang diproduksi di limpa dan kelenjar limfe. Kemudian dalam 1 bulan sebelum kelahiran dan sesudah kelahiran, sel darah merah hanya diproduksi di sumsum tulang.²¹

Setiap keadaan yang menyebabkan penurunan transportasi jumlah oksigen ke jaringan (hipoksia) biasanya diikuti dengan peningkatan kecepatan produksi sel darah merah. Faktor utama yang dapat merangsang produksi sel darah merah adalah hormon eritropoietin. Produksi eritropoietin dipengaruhi distimulasi oleh tekanan oksigen dalam jaringan ginjal. Oleh karena itu, produksi eritropoietin meningkat pada keadaan anemia, kelainan metabolik atau struktural hemoglobin yang tidak bisa melepaskan oksigen secara normal, tekanan atmosfer rendah (pada dataran sangat tinggi), dan gangguan pada sirkulasi jantung, paru dan ginjal yang mempengaruhi pengiriman oksigen ke ginjal.^{20,22}

2.2.3 Anemia

Anemia secara fungsional didefinisikan sebagai penurunan jumlah massa sel darah merah sehingga tidak dapat memenuhi fungsinya untuk membawa oksigen dalam jumlah yang cukup ke jaringan perifer.²⁰

Manifestasi klinik dari anemia sangat bervariasi, bisa mulai dari tanpa gejala, gejala ringan, berat ataupun bisa ditemukan bersama-sama dengan gejala penyakit dasarnya. Gejala-gejala dapat berupa kepala pusing, palpitasi, berkunang-kunang, perubahan jaringan epitel kuku, gangguan sistem neuromuskuler, lesu, lemah, lelah dan pembesaran kelenjar limfe. Apabila kadar hemoglobin <7 gr/dl maka gejala-gejala dan tanda-tanda anemia akan jelas.²³

Parameter yang paling umum untuk menunjukkan penurunan massa eritrosit adalah kadar hemoglobin, hematokrit dan hitung eritrosit.

Harga normal hemoglobin sangat bervariasi secara fisiologis tergantung jenis kelamin, usia, kehamilan dan ketinggian tempat tinggal.²⁴

Salah satu penyebab terjadinya anemia adalah akibat terjadinya proses penghancuran sel darah merah dalam tubuh sebelum waktunya yang disebut anemia hemolisis. Salah satu faktor yang berperan terhadap terjadinya anemia hemolisis yaitu abnormalitas struktur dan fungsi membran sel darah merah.^{21,22}

2.3 Spesies Oksigen Reaktif (SOR)

2.3.1 Definisi SOR

SOR merupakan radikal derivat dari oksigen yang termasuk dalam kelompok radikal bebas dalam tubuh. Senyawa-senyawa maupun reaksi-reaksi kimia yang cenderung menghasilkan spesies oksigen reaktif (spesies oksigen yang berpotensi toksik) disebut prooksidan.¹⁴ Radikal bebas adalah atom/molekul yang mengandung satu/lebih elektron tak berpasangan pada lapisan terluarnya. Tidak semua spesies oksigen reaktif adalah radikal bebas. H_2O_2 dan singlet oksigen bukan radikal bebas, tetapi termasuk spesies oksigen reaktif karena adanya kecenderungan mengambil sebuah elektron (e^-) dan senyawa-senyawa lain maka spesies oksigen ini sangat reaktif.^{14,25}

Beberapa spesies oksigen reaktif yang dijumpai dalam tubuh:

- 1) Radikal Bebas Superoksida (O_2^-)
- 2) Radikal Bebas Hidroksil (OH^-)

- 3) Radikal Bebas Alkoksil (RO°)
- 4) Radikal Bebas Peroksil (ROO°)
- 5) Peroksida lipid ($\text{L}(\text{OOH})$)
- 6) Hidrogen peroksida (H_2O_2)
- 7) Singlet Oksigen (IO_2)
- 8) Ion Hipoklorit (OCl^-)

2.3.2 Pengaruh stres oksidatif pada sel/jaringan

Pada keadaan normal, terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Bila keseimbangan ini beralih ke arah kelebihan prooksidan, maka keadaan ini disebut stres oksidatif. Stres oksidatif yang berlangsung berat dan lama akan menimbulkan kerusakan sel/jaringan yang selanjutnya menjadi penyebab timbulnya peradangan, aterosklerosis, penuaan, iskemia dan hemolisis.¹⁴

Proses metabolisme tubuh cenderung menghasilkan berbagai oksidan kuat. Radikal hidroksil (OH^\cdot) merupakan oksidan yang paling toksik karena dapat bereaksi dengan bermacam-macam senyawa elementer seperti protein, asam nukleat, lipid dan lain-lain sehingga dapat dengan mudah dan cepat merusak struktur sel/jaringan. Reaksi dengan protein mempercepat terjadinya proteolisis sedangkan proses oksidasi reaksi radikal bebas dengan fosfolipid dan kolesterol membran sel lebih rentan terjadi karena mengandung asam lemak tak jenuh.²⁵

2.3.3 Sumber oksigen reaktif

Pada keadaan normal, reduksi O_2 menjadi H_2O_2 dalam rantai pernafasan yang dikatalisir enzim sitokrom oksidase membutuhkan 4 buah elektron, namun pada 5% total konsumsi oksigen terjadi proses yang lain dari biasa yaitu hanya sebuah elektron yang diambil (reduksi univalen) sehingga terbentuk spesies oksigen yang toksik.^{14,25}

Dengan menerima penambahan 1 e^- pertama, terbentuk O_2^- . Reaktivitas ini dibatasi oleh adanya dismutasi spontan yang terjadi pada pH fisiologis dimana akan terbentuk H_2O_2 (setelah menerima e^- kedua). H_2O_2 merupakan oksidan kuat namun bereaksi lambat dengan substrat organik. Oksidan ini dianggap toksik hanya dalam konsentrasi tinggi. Akumulasi H_2O_2 dapat berbahaya bila terdapat bersama dengan ion Fe^{2+} atau *chelating agent* karena akan terbentuk radikal hidroksil yang juga akan terbentuk setelah menerima e^- ketiga.²⁵

2.4 Pengaruh asam lemak trans pada sel darah merah

2.4.1 Pengaruh asam lemak trans terhadap struktur membran sel darah merah

Salah satu faktor yang berperan terhadap terjadinya gejala anemia adalah kerusakan sel darah merah yang disebabkan oleh penurunan fluiditas membrannya.²⁰ Hasil penelitian menunjukkan bahwa asupan tinggi asam lemak trans memiliki peran dalam hal ini karena dapat memicu terjadinya gangguan metabolisme asam linoleat. Asam linoleat

merupakan asam lemak tak jenuh esensial yang dibutuhkan tubuh sebagai bahan pembentuk asam arakhidonat yang menyusun fosfolipid membran sel darah merah.^{21,22}

Asam lemak trans akan menghambat proses konversi asam linoleat menjadi asam arakhidonat sehingga proses pembentukan membran sel menjadi terganggu. Selain itu, asam lemak trans akan bergabung dengan fosfolipid membran sel dengan cara mengisi tempat asam arakhidonat yang tidak terbentuk sehingga mengganggu fungsi dan menurunkan fluiditas membran sel. Hal ini akan berdampak pada kerusakan sel darah merah sehingga dapat menurunkan jumlah sel darah merah dalam sirkulasi darah sehingga menimbulkan gejala anemia.^{9,10,21}

2.4.2 Pengaruh asam lemak trans terhadap stres oksidatif sel darah merah

Oksidan yang terbentuk di dalam sel darah merah adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO°). Superoksida di dalam sel darah merah terbentuk karena proses autooksidasi Hb pada manusia yang terjadi hampir 3% per hari menjadi methemoglobin.¹⁴

Ion Fe^{2+} dari Hb sangat rentan terhadap oksidasi oleh oksidan, misalnya O_2^- , dimana terbentuk methemoglobin ($HbFe^{3+}$) yang tidak mampu mengangkut oksigen. Pada keadaan normal, hanya dijumpai sedikit methemoglobin di dalam darah karena sel darah merah memiliki sistem yang efektif untuk mereduksi kembali Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} . Pada sel

darah merah dan beberapa jaringan, enzim glutasion peroksidase yang mengandung selenium (Se) mengkatalisasi penguraian H_2O_2 dan hidroperoksida lemak oleh glutasion (GSH) sehingga lipid membran sel menjadi aman dan oksidasi Hb menjadi HbFe^{3+} dapat dicegah. Superoksida (O_2^-) ini dapat terurai secara spontan tapi lambat, atau dengan bantuan enzim superoksida dismutasi yang berlangsung jauh lebih cepat sehingga tidak memberi peluang kepada oksidan untuk menimbulkan kerusakan pada sel maupun jaringan.^{23,26}

Apabila proses penetralan H_2O_2 dan radikal oksigen lainnya pada sel darah merah terganggu maka dapat menyebabkan peroksidasi lipid pada membran sel darah merah yang seterusnya akan mengalami lisis. Gugus Hb teroksidasi dan protein mengalami presipitasi di dalam eritrosit membentuk *heinz bodies*. Adanya *heinz bodies* di dalam sel darah merah menunjukkan bahwa eritrosit sedang mengalami stres oksidatif.^{23,26}

Peroksidasi lipid yang berkontak dengan oksigen dapat menyebabkan kerusakan sel/jaringan tubuh. Efek merusak ini diawali oleh pembentukan radikal bebas (ROO° , RO° , OH^-) yang dihasilkan sewaktu terjadinya reaksi pembentukan peroksida dan asam lemak yang terdapat di dalam struktur molekul *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA). Peroksidasi lipid ini merupakan suatu rantai reaksi yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas sehingga terjadi reaksi peroksidasi berikutnya.¹⁴

2.4.3 Asam lemak trans dan inflamasi

Asam lemak trans berpengaruh terhadap terjadinya inflamasi sistemik pada membran sel endotel melalui jalur spesifik.²⁷ Asam lemak trans juga memodulasi proses inflamasi melalui jalur spesifik membran sel endotel dan jalur *signaling* fosfolipid membran makrofag. Efek proinflamatori dari *intake* asam lemak trans akan memicu lepasnya berbagai macam sitokin dan sel-sel retikuloendotelial sebagai respon injuri seluler.^{28,29}

Berbagai studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan pelepasan sitokin proinflamasi ke dalam darah akan menginduksi perubahan homeostasis besi, proliferasi sel eritrosit, produksi eritropoietin oleh ginjal, berkurangnya umur eritrosit yang semuanya berkontribusi pada patogenesis terjadinya anemia.^{30,31}

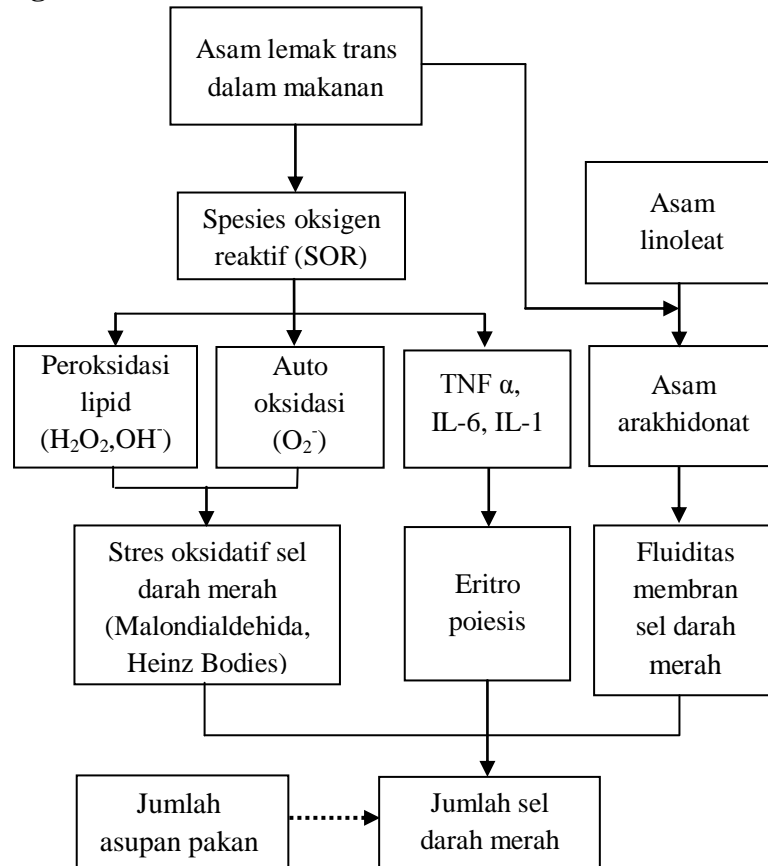
Mediator inflamasi terutama sitokin IL-6, IL-1 dan TNF- α diketahui berperan penting dalam menginduksi kegagalan fungsi endotel, peningkatan oksidasi lipid, dan menurunkan aktivitas aktivator jaringan plasminogen akibat asupan asam lemak trans. IL-6 meningkatkan feritin dalam sel-sel makrofag dan menginduksi pelepasan hepsidin yaitu suatu peptida protein fase akut yang dihasilkan hepatosit yang bekerja mengatur absorpsi besi usus halus, menghambat eritropoiesis pada sumsum tulang dan menurunkan ferroportin 1 yaitu protein eksporter besi pada membran sel makrofag. IL-1, TNF- α , IFN- γ bekerja secara simultan meningkatkan feritin dalam sel makrofag, menghambat produksi

eritropoietin di ginjal, meningkatkan fagositosis eritrosit yang sudah tua oleh sel makrofag, dan menghambat eritropoiesis dalam sumsum tulang.^{30,32}

BAB 3

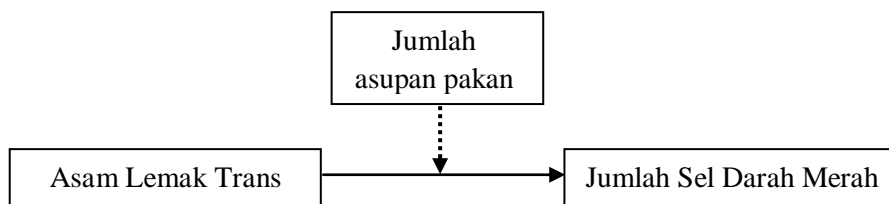
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka teori



Gambar 4. Kerangka teori

3.2 Kerangka konsep



Gambar 5. Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

3.1.1 Hipotesis mayor

Terjadi penurunan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley pada pemberian asam lemak trans 5% dan 10%.

3.1.2 Hipotesis minor

Hipotesis minor dari penelitian ini adalah:

- 1) Terjadi penurunan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang diberi asam lemak trans 5%.
- 2) Terjadi penurunan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang diberi asam lemak trans 10%.
- 3) Selisih jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang diberi asam lemak trans 5% lebih rendah daripada yang tidak diberi asam lemak trans.
- 4) Selisih jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang diberi asam lemak trans 10% lebih rendah daripada yang tidak diberi asam lemak trans.
- 5) Selisih jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley yang diberi asam lemak trans 10% lebih rendah daripada yang diberi asam lemak trans 5%.

BAB 4 METODE PELAKSANAAN

4.1 Ruang lingkup penelitian

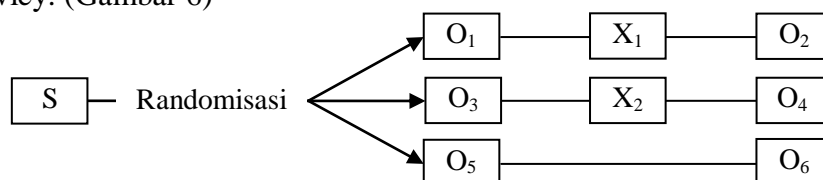
Penelitian ini melingkupi bidang ilmu biokimia dan ilmu gizi.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang selama 4 bulan, dimulai dari bulan Februari sampai Mei 2012.

4.3 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan desain *Randomized Control Group Pretest and Posttest Design* pada tikus Sprague Dawley. (Gambar 6)



Gambar 6. Skema desain penelitian

Keterangan:

S = Sampel Penelitian

O₁ = Pretest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5%

O₂ = Posttest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5%

O₃ = Pretest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10%

O₄ = Posttest untuk kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10%

O₅ = Pretest untuk kelompok kontrol tanpa pemberian asam lemak trans

O₆ = Posttest untuk kelompok kontrol tanpa pemberian asam lemak trans

X₁ = Perlakuan 1 berupa pemberian asam lemak trans 5%

X₂ = Perlakuan 2 berupa pemberian asam lemak trans 10%

4.4 Sampel

Sampel penelitian adalah Tikus Sprague Dawley yang memenuhi kriteria inklusi, eksklusi dan *drop out*.

4.4.1 Kriteria inklusi

- 1) Tikus Sprague Dawley jantan
- 2) Berat badan tikus normal (190-260 gram)
- 3) Umur 7 minggu sebelum dilakukan adaptasi
- 4) Pada pengamatan visual tikus tampak sehat, aktif bergerak, dan tidak terdapat kelainan anatomis

4.4.2 Kriteria eksklusi

Mengalami perubahan berat badan $> 10\%$ selama adaptasi.

4.4.3 Kriteria *drop out*

- 1) Tikus tampak sakit selama masa penelitian
- 2) Mengalami diare selama masa penelitian
- 3) Mengalami kematian

4.4.4 Cara sampling

Sampel didapatkan dengan mengalokasikan kelompok berdasarkan cara *simple random sampling*.

4.4.5 Besar sampel

Penelitian dilakukan terhadap 3 kelompok tikus Sprague Dawley, terdiri dari kelompok 1 yaitu kelompok perlakuan 1, diberi pakan sebanyak 20 gram/ hari yang mengandung asam lemak trans 5% dari total kalori, kelompok 2 yaitu kelompok perlakuan 2, diberi pakan sebanyak 20

gram/ hari yang mengandung asam lemak trans 10% dari total kalori, dan kelompok 3 yaitu kelompok kontrol, diberi pakan sebanyak 20 gram/ hari tanpa kandungan asam lemak trans.

Tiap kelompok terdiri dari 11 ekor tikus, sehingga didapatkan total sampel adalah 33 ekor tikus Sprague Dawley. Penggunaan perhitungan jumlah sampel mengacu pada penelitian pendahulu¹¹ dan pedoman WHO tentang penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental dengan jumlah tiap kelompok minimal 5 ekor dan menyertakan kontrol.³³

4.5 Variabel penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Pemberian asam lemak trans berupa:

- 1) Asam lemak trans 5%
- 2) Asam lemak trans 10%

4.5.2 Variabel terikat

Jumlah sel darah merah.

4.5.3 Variabel perancu

Jumlah asupan pakan.

4.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Pemberian asam lemak trans Asam lemak trans dengan kadar 5% dan 10% dari total kalori yang diberikan melalui pelet pakan tikus sebanyak 20 gram per hari selama 8 minggu	gram	Ordinal

2.	Jumlah sel darah merah Jumlah sel darah merah tikus tiap mm ³ darah yang dihitung dengan alat <i>hematology Zenix 244 full autoanalyzer</i> dengan reagen hematologi <i>Melet Schloesing</i>	sel/ μ l (mikroliter)	Rasio
----	---	------------------------------	-------

4.7 Cara pengumpulan data

4.7.1 Bahan

1. Tikus Sprague Dawley jantan
2. Ransum pakan standar untuk hewan coba dengan kode D12451
3. Pakan tikus yang mengandung asam lemak trans 5% dengan kode D11102101
4. Pakan tikus yang mengandung asam lemak trans 10% dengan kode D11102102

4.7.2 Alat

- 1) Kandang tikus individual dengan ukuran panjang 30 cm, lebar 37 cm, dan tinggi 13 cm
- 2) *Disposable syringe* atau spuit volume 3 ml
- 3) Tabung reaksi ukuran 10 x 75 mm
- 4) Larutan Disodium etilendiamintetraasetat (EDTA)
- 5) Reagen hematologi *Melet Schloesing*
- 6) Alat penghitung jumlah sel darah *hematology Zenix 244 full autoanalyzer*

4.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer yaitu jumlah sel darah merah tiap μ l (mikroliter) darah tikus.

4.7.4 Cara kerja

4.7.4.1 Asupan asam lemak trans

- 1) Kelompok 1 dengan pemberian asam lemak trans 5%
- 2) Kelompok 2 dengan pemberian asam lemak trans 10%
- 3) Kelompok 3 tanpa pemberian asam lemak trans

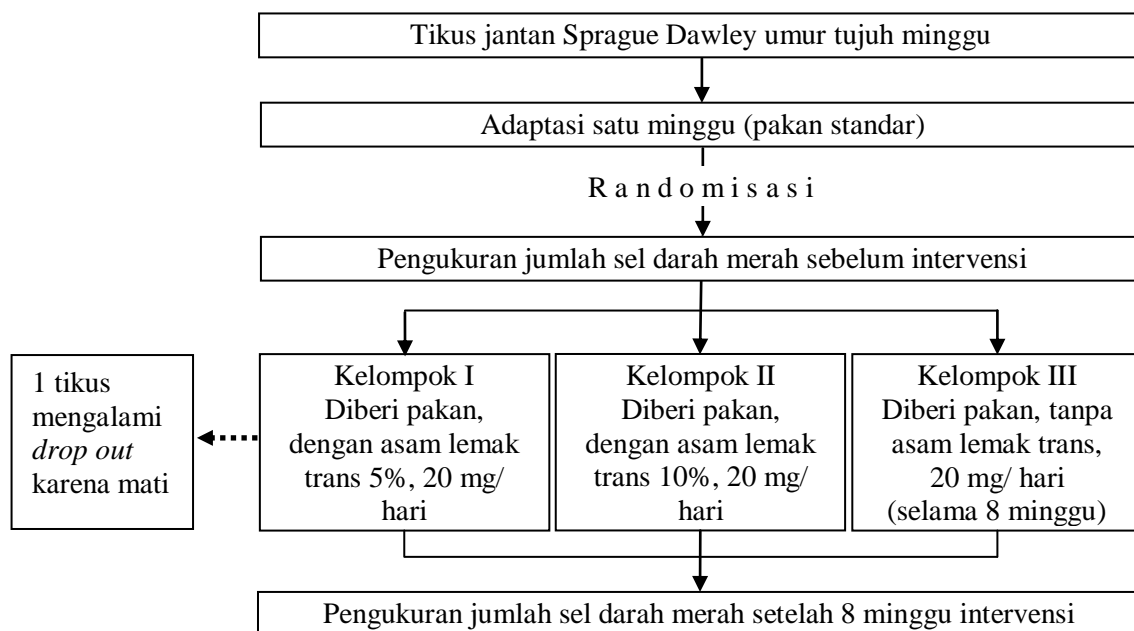
4.7.4.2 Hewan coba

- 1) Tikus Sprague Dawley jantan, berumur 7 minggu ditempatkan dalam kandang individual dalam ruangan dengan ventilasi yang baik, mendapatkan penerangan yang memadai (12:12 jam siklus gelap/ terang)
- 2) Kelembaban relatif 50-60% dengan suhu ruangan berkisar antara 26-32°C
- 3) Kandang dibersihkan setiap hari
- 4) Makanan yang diberikan berupa pelet sesuai kelompok beserta minum *ad libitum* setiap hari

4.7.4.3 Pengukuran sel darah merah

- 1) Sampel berupa *whole blood* diambil menggunakan *disposable syringe* atau spuit volume 3 ml melalui plexus vena retroorbita
- 2) Sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan EDTA kemudian diberi reagen hematologi *Melet Schloesing*.
- 3) Sampel diukur menggunakan alat penghitung jumlah sel darah *hematology Zenix 244 full autoanalyzer* yang dilakukan oleh laboratorium klinik Prodia.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.9 Analisis data

Data primer yang didapatkan dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data. Untuk mengetahui perbedaan jumlah sel darah merah sebelum dan sesudah perlakuan antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5%, asam lemak trans 10%, dan tanpa pemberian asam lemak trans dilakukan uji t-berpasangan karena data berdistribusi normal.

Untuk mengetahui perbedaan selisih jumlah sel darah merah sebelum dan sesudah perlakuan antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5% dengan kelompok tanpa pemberian asam lemak trans, antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10% dengan kelompok tanpa pemberian asam lemak trans, dan antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans 5% dengan antara kelompok dengan pemberian asam lemak trans 10% dilakukan uji t-tidak berpasangan karena data berdistribusi normal dengan nilai derajat kemaknaan

dimana $p \leq 0,05$ dan 95% interval kepercayaan. Analisis data akan menggunakan program statistik komputer.

4.10 Etika penelitian

Sebelum penelitian dilakukan, penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.

4.11 Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Jadwal penelitian

	November	Desember	Januari	Februari	Maret	April	Mei
Pembuatan proposal penelitian							
Pemesanan pelet tikus dari <i>Research Diets, Inc, New Jersey USA</i>							
Persiapan alat dan bahan penelitian, serta koordinasi dengan laboratorium LPPT UGM							
Randomisasi kelompok sesuai kriteria inklusi dan eksklusi							
Adaptasi tikus dengan pemberian pakan standar							
Pengukuran jumlah sel darah sebelum intervensi (pretest)							
Intervensi terhadap kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2, serta kelompok kontrol							
Pengukuran jumlah sel darah setelah intervensi (posttest)							
Rekapitulasi data dan pembuatan laporan							

BAB 5

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Februari sampai Mei 2012 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajah Mada Yogyakarta dan untuk pengukuran sel darah merah dilakukan di Laboratorium Klinik Prodia Yogyakarta. Sampel yang digunakan pada awal penelitian berjumlah 11 ekor untuk masing-masing kelompok. Namun saat penelitian ada beberapa ekor tikus yang mati sehingga didapatkan 7 ekor untuk masing-masing kelompoknya.

5.1 Berat badan hewan coba

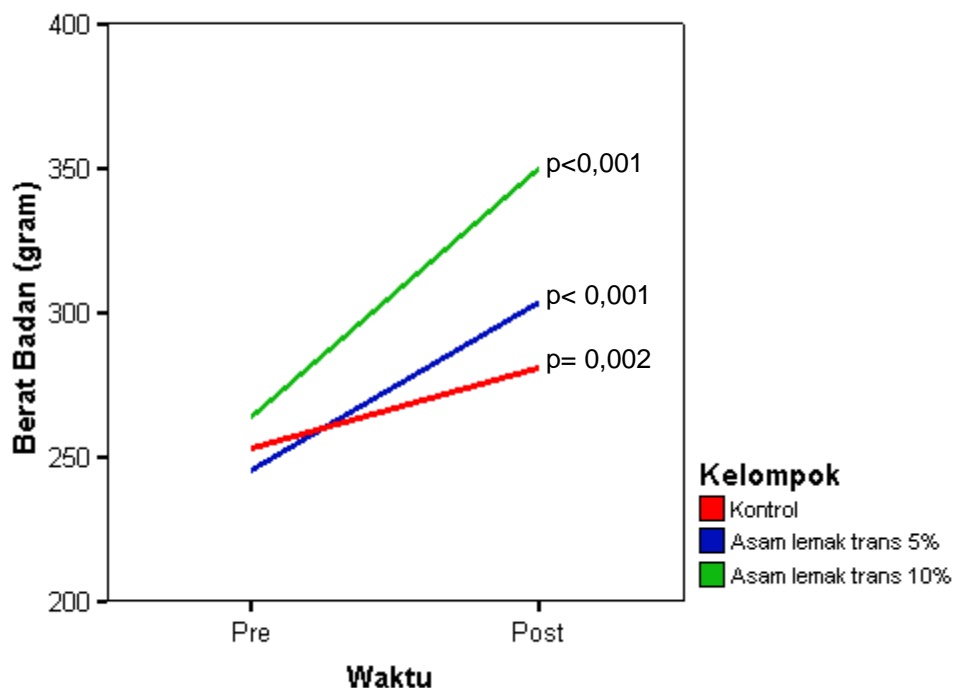
Berat badan hewan coba sebelum dan sesudah penelitian ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Berat badan hewan coba

Kelompok	Berat Badan (gram)		p*
	Sebelum Rerata ± SB	Sesudah Rerata ± SB	
Kontrol (K)	252,9±20,05	280,8±28,31	0,002
Perlakuan 1 (P1)	245,3±22,84	303,5±23,42	<0,001
Perlakuan 2 (P2)	263,7±17,73	349,9±14,84	<0,001

* uji t-berpasangan antara sebelum vs sesudah

Pada tabel 4 tampak berat badan pada seluruh kelompok penelitian meningkat secara bermakna yaitu pada kelompok kontrol ($p=0,002$), kelompok perlakuan 1 ($p<0,001$) dan kelompok perlakuan 2 ($p<0,001$). Peningkatan berat badan pada masing-masing kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 8.



Gambar 8. Berat badan hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian

Pada gambar 8 tampak adanya peningkatan yang bermakna berat badan hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2.

Selisih berat badan hewan coba pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 5. Pada tabel 5 tampak selisih peningkatan berat badan yang terbesar dijumpai pada kelompok perlakuan 2 ($86,3 \pm 11,49$ gram), selanjutnya kelompok perlakuan 1 ($58,2 \pm 17,41$ gram) dan paling kecil pada kelompok kontrol ($27,9 \pm 13,49$ gram). Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada selisih berat badan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,003$). Perbedaan selisih berat badan antara kelompok kontrol dengan perlakuan 2 juga bermakna ($p<0,001$). Hasil yang sama

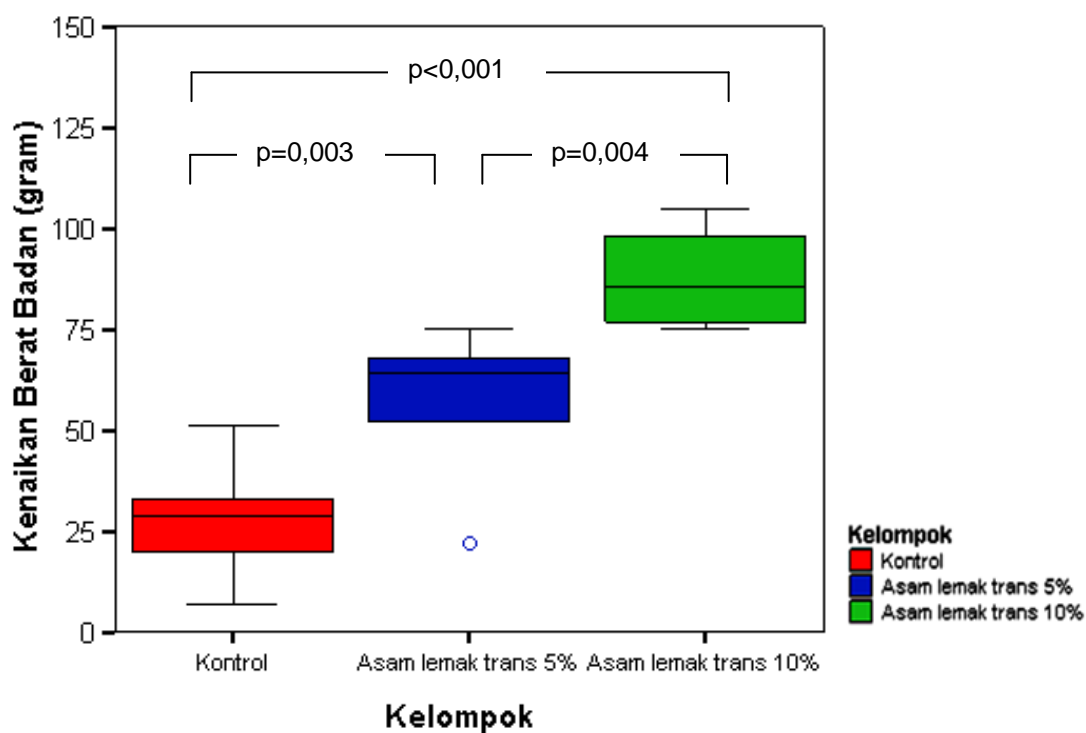
juga tampak pada perbedaan selisih berat badan antara kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ($p=0,004$).

Tabel 5. Selisih berat badan hewan coba

Kelompok	Berat Badan (gram)	
	Selisih	p^*
	Rerata \pm SB	
Kontrol (K) vs Perlakuan 1 (P1)	27,9 \pm 13,49	0,003
Kontrol (K) vs Perlakuan 2 (P2)	58,2 \pm 17,41	<0,001
Perlakuan 1 (P1) vs Perlakuan 2 (P2)	86,3 \pm 11,49	0,004

* uji t-tidak berpasangan antara masing-masing kelompok

Selisih berat badan hewan coba pada masing-masing kelompok juga ditampilkan pada gambar 9.



Gambar 9. Selisih berat badan hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2

5.2 Jumlah sel darah merah hewan coba

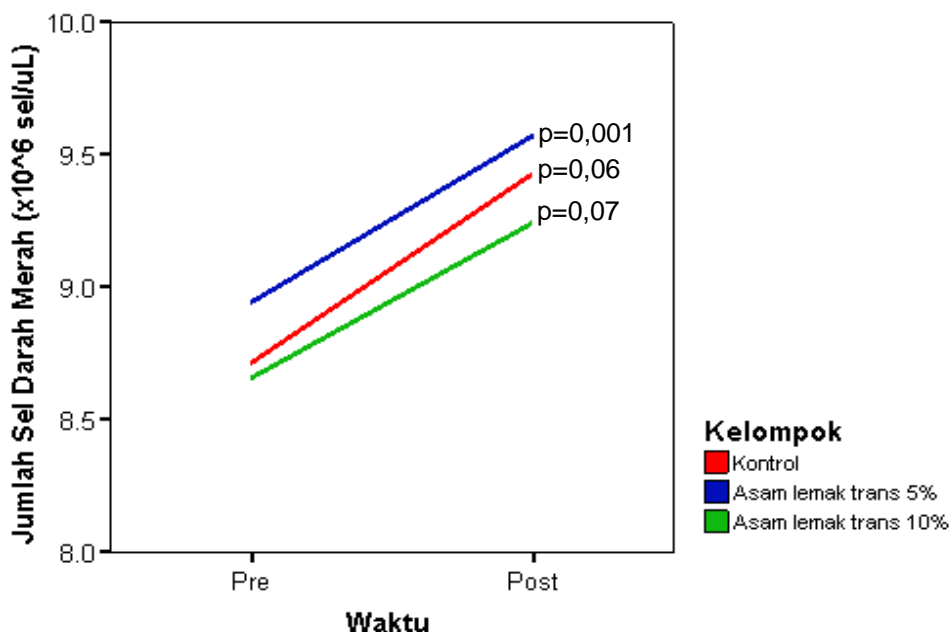
Jumlah sel darah merah hewan coba sebelum dan sesudah penelitian ditampilkan pada tabel 6.

Tabel 6. Jumlah sel darah merah hewan coba

Kelompok	Jumlah sel darah merah (dalam $\times 10^6$ sel/ μ L)		p*
	Sebelum	Sesudah	
	Rerata \pm SB	Rerata \pm SB	
Kontrol (K)	8,7 \pm 0,68	9,4 \pm 0,57	0,06
Perlakuan 1 (P1)	8,9 \pm 0,31	9,6 \pm 0,29	0,001
Perlakuan 2 (P2)	8,7 \pm 0,45	9,2 \pm 0,45	0,07

* uji t-berpasangan antara sebelum vs sesudah

Pada tabel 6 tampak jumlah sel darah merah pada seluruh kelompok penelitian meningkat. Pada kelompok kontrol terjadi peningkatan jumlah sel darah merah yang tidak bermakna ($p=0,06$). Pada kelompok P1 terjadi peningkatan yang bermakna ($p=0,001$) sedangkan pada kelompok P2 terjadi peningkatan jumlah sel darah merah yang tidak bermakna ($p=0,07$). Peningkatan jumlah sel darah merah badan pada masing-masing kelompok penelitian juga ditampilkan pada gambar 10.



Gambar 10 . Jumlah sel darah merah hewan coba sebelum dan setelah perlakuan pada masing-masing kelompok penelitian

Pada gambar 10 tampak adanya peningkatan jumlah sel darah merah hewan coba yang bermakna pada kelompok perlakuan 1, sedangkan pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2 peningkatannya tidak bermakna.

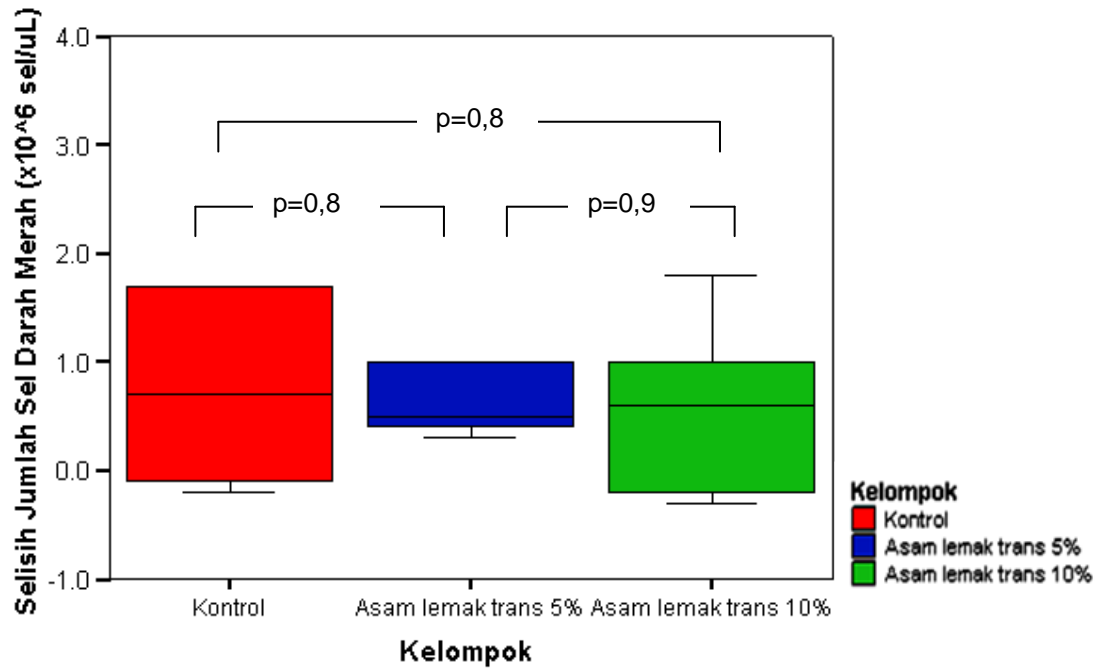
Selisih jumlah sel darah merah hewan coba pada masing-masing kelompok ditampilkan pada tabel 7. Pada tabel 7 tampak selisih penurunan jumlah sel darah merah yang terbesar dijumpai pada kelompok kontrol ($0,7 \pm 0,79 \times 10^6$ sel/ μL), selanjutnya kelompok perlakuan 1 ($0,6 \pm 0,28 \times 10^6$ sel/ μL) dan paling kecil pada kelompok perlakuan 2 ($0,6 \pm 0,72 \times 10^6$ sel/ μL). Hasil uji statistik menunjukkan adanya perbedaan yang tidak bermakna pada selisih jumlah sel darah merah antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan 1 ($p=0,8$). Perbedaan selisih jumlah sel darah merah antara kelompok kontrol dengan perlakuan 2 juga tidak bermakna ($p=0,8$). Hasil yang sama juga tampak pada perbedaan jumlah sel darah merah antara kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ($p=0,9$).

Tabel 7. Selisih jumlah sel darah merah hewan coba

Kelompok	Jumlah sel darah merah (dalam $\times 10^6$ sel/ μL)	p*
	Selisih Rerata \pm SB	
Kontrol (K) vs Perlakuan 1 (P1)	$0,7 \pm 0,79$	0,8
Kontrol (K) vs Perlakuan 2 (P2)	$0,6 \pm 0,28$	0,8
Perlakuan 1 (P1) vs Perlakuan 2 (P2)	$0,6 \pm 0,72$	0,9

* uji t-tidak berpasangan antara masing-masing kelompok

Selisih jumlah sel darah merah hewan coba pada masing-masing kelompok ditampilkan pada gambar 11.



Gambar 11. Selisih jumlah sel darah merah hewan coba pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini didapatkan peningkatan berat badan hewan coba pada masing-masing kelompok yang bermakna secara statistik. Hal yang sama juga terjadi pada perbedaan selisih berat badan hewan coba antara masing-masing kelompok. Hal ini dikarenakan asupan tinggi asam lemak trans dapat meningkatkan berat badan tubuh akibat peningkatan rasio kolesterol total/HDL atau rasio LDL/HDL dalam darah jika dikonsumsi dalam periode waktu yang lama. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa asupan tinggi asam lemak trans dapat merangsang peningkatan deposisi lemak visceral tubuh, menyebabkan peningkatan deposisi lemak hati dan resistensi insulin yang merupakan biomarker dari obesitas atau kegemukan.¹²

Penelitian oleh Dorfman SE, *et al.* pada tahun 2009¹² yang mencari hubungan implikasi metabolik dari asupan asam lemak trans menyimpulkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara pemberian asupan asam lemak trans dengan peningkatan berat badan hewan coba. Kesimpulan tersebut sesuai dengan hasil penelitian ini karena subjek pada penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley yang diberi asupan tinggi asam lemak trans. Dengan demikian, kesimpulan penelitian tadi dapat menjadi salah satu alasan mengapa terjadi peningkatan berat badan hewan coba yang bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian ini, terjadi peningkatan jumlah sel darah merah hewan coba sebelum dan sesudah perlakuan pada masing-masing kelompok. Peningkatan yang bermakna terjadi pada kelompok perlakuan 1,

sedangkan pada kelompok kontrol dan perlakuan 2 peningkatannya tidak bermakna secara statistik. Namun demikian, pada penelitian ini dapat diketahui bahwa pemberian asam lemak trans 5% dan 10% dapat menurunkan selisih jumlah sel darah merah hewan coba antar masing-masing kelompok yang tidak bermakna secara statistik. Selisih jumlah sel darah merah pada kelompok tikus yang diberi asupan asam lemak trans yaitu kelompok perlakuan 1 dan perlakuan 2, semakin menurun nilainya jika dibandingkan dengan kelompok kontrol meskipun ketiganya sama-sama mengalami peningkatan jumlah sel darah merah. Dengan demikian, hasil penelitian ini belum sejalan dengan hipotesis yang diajukan bahwa pemberian tinggi asam lemak trans dapat menurunkan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh GE Egbung, *et al.* yang dilakukan pada tahun 2009¹¹ dimana terjadi penurunan jumlah sel darah merah yang bermakna secara statistik pada kelompok yang diberi asam lemak trans. Terdapat faktor yang mungkin menjelaskan hal ini. Pertama, dosis pemberian asam lemak trans pada penelitian ini yaitu 5% dan 10% dari total kalori merupakan dosis yang lebih rendah dari penelitian sebelumnya yaitu 15% dan 25% dari total kalori. Kedua, pada penelitian ini menggunakan tikus Sprague Dawley dengan berat 190-260 gram. Hal ini berbeda dari penelitian sebelumnya yang menggunakan tikus Wistar Albino yang lebih kecil dengan berat berkisar antara 70-140 gram. Ketiga, metoda yang digunakan dalam penelitian ini yaitu membandingkan jumlah sel darah merah sesudah dengan sebelum perlakuan pada setiap kelompok, sedangkan pada penelitian sebelumnya metoda yang digunakan

hanya membandingkan jumlah sel darah merah sesudah perlakuan antara masing-masing kelompok perlakuan terhadap kelompok kontrol.

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak terpenuhinya jumlah asupan pakan yang telah ditentukan yakni sebesar 20 gram/hari. Hal ini disebabkan tidak dilakukannya indikasi memaksa yaitu dengan cara menyondekan pakan pada tikus dikarenakan pakan yang mengandung asam lemak trans yang tidak dapat dilarutkan dalam air. Selain itu, dosis asam lemak trans yang kecil kemungkinan membutuhkan waktu dan proses yang lama untuk dapat menurunkan jumlah sel darah merah. Hal ini dikarenakan stres oksidatif pada tubuh yang terjadi akibat respon inflamasi sistemik oleh asupan tinggi asam lemak trans merupakan proses yang kronik sehingga membutuhkan periode waktu yang lama.⁸⁻¹⁰

Penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan untuk meneliti kadar asam lemak trans dan periode waktu perlakuan yang dapat menurunkan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley secara signifikan.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Pemberian asam lemak trans 5% selama 8 minggu tidak dapat menurunkan jumlah sel darah merah Sprague Dawley.
2. Pemberian asam lemak trans 10% selama 8 minggu tidak dapat menurunkan jumlah sel darah merah Sprague Dawley.
3. Terjadi penurunan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5% dibandingkan kelompok yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans akan tetapi penurunannya tidak bermakna secara statistik.
4. Terjadi penurunan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10% dibandingkan kelompok yang tidak mendapatkan pemberian asam lemak trans akan tetapi penurunannya tidak bermakna secara statistik.
5. Terjadi penurunan selisih jumlah sel darah merah pada tikus Sprague Dawley yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 10% dibandingkan kelompok yang mendapatkan pemberian asam lemak trans 5% akan tetapi penurunannya tidak yang bermakna secara statistik.

7.2 **Saran**

1. Diperlukan kadar asam lemak trans yang lebih besar dan periode waktu perlakuan yang lebih lama untuk dapat menurunkan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.
2. Diperlukan perbaikan mengenai cara pemberian pakan hewan coba sehingga jumlah asupan pakan yang ditentukan dapat terpenuhi pada masing-masing kelompok.
3. Penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat mengetahui nilai minimal dari kadar asam lemak trans dan periode waktu perlakuan agar dapat menurunkan jumlah sel darah merah tikus Sprague Dawley.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing; 2006.
2. Tjokroprawiro A, Hendromartono, Sutjahjo A, editor. The metabolic syndrome (The MetS). Anticipating life style related diseases. Jakarta; 2005.
3. Juan PMFS. Trans fatty acids (tFA): sources and intake levels, biological effects and content in commercial Spanish food. *Nutricion Hospitalaria* [internet]. 2009 [cited 2011 Sept 16]; 24(5): 515-20.
4. Mozaffarian D, Pischon T, Hankinson SE, Rifai N, Joshipura K, Willett WC, Rimm EB. Dietary intake of trans fatty acids and systemic inflammation in women. *Am J Clin Nutr* [internet]. 2004 [cited Sept 2011 17]; 79: 606.
5. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 16]; 354 (15): 1601–13.
6. Fenney MJ. Defining Differences in Trans Fatty Acids. California: Dairy Council of California. 2008; 2 (5): 1-3.
7. Chatgililoglu C, Ferreri C, Lykakis IN, Wardman P. Trans-fatty acids and radical stress: what are the real culprits?. *Bioorg Med Chem* [Internet]. 2006 [cited 2011 Sept 16]; 14(18):6144-8.
8. Sartika RAD. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh, dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional* [Internet]. 2008 [cited 2011 Sept 16]; 2 (4): 154-60.
9. Sun Q, Ma J, Campos H, Hankinson SE, Manson JE, Stampfer MJ, et al. A prospective study of trans fatty acids in erythrocytes and risk of coronary heart disease. *Circulation* [internet]. 2007 [cited 2011 Sept 18]; 115: 1858-65.
10. Roach C, Feller SE, Ward JA, Shaikh SR, Zerouga M, Stillwell W. Comparison of cis and trans fatty acid containing phosphatidylcholines on membrane properties. *Biochemistry* [internet]. 2004 [cited 2011 Sept 18]; 43: 6344–51.



11. Egbung GE, Essien EU, Atangwho IJ. Effect of Trans Fatty Acids Consumption on Some Haematological Indices in Albino Wistar Rats. *Pak J Nutr* [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 10]; 8 (8): 1258-61.
12. Dorfman SE, Laurent D, Gounarides JS, Li X, Mullarkey TL, Rocheford EC, et al. . Metabolic implications of dietary trans-fatty Acids. *Obesity* [Internet]. 2009 [cited 2011 Sept 16]; 17 (6): 1200–7.
13. Zapolska-Downar D, Kośmider A, Naruszewicz M.. Trans Fatty Acids induce apoptosis in human endothelial cells. *J Physiol Pharmacol* [Internet]. 2005 [cited 2011 Sept 16]; 56(4): 611.
14. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. 25th ed. Trans Hartono A. Jakarta: EGC; 2005.
15. Sumardjo D. *Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran*. Jakarta: EGC; 2008.
16. Puspitasari NL. Asam lemak trans dalam makanan: mekanisme pembentukan dan metabolisme dalam tubuh. *Bulletin Teknik dan Industri Pangan* [Internet]. 1996 [cited 2011 Sept 16]; 7 (2): 84-94.
17. Stender S, Dyerberg J. *The Influence of Trans Fatty Acids on Health*. 4th ed. Copenhagen (Denmark): The Danish Nutrition Council; 2003.
18. Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM, Reeve BB, Basiotis PP. *Development and Evaluation of the Healthy Eating Index-2005: Technical Report*. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture; 2007.
19. Scientific Advisory Committee on Nutrition. *Update on trans fatty acids and health*. London: Scientific Advisory Committee on Nutrition; 2007.
20. Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. *Essential Haematology*. 4th ed. Trans Mahanani DA. Jakarta: EGC; 2005.
21. Turgeon ML. *Clinical hematology theory and procedures*. 2nd ed. London: William Heinemann Medical Books Ltd; 1993.
22. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. 11th ed. Trans Irawati. Jakarta: EGC; 2007.
23. Marks DB, Marks AD, Smith CM. *Basic Medical Biochemistry: A Clinical Approach*. Trans Pendit BU. Jakarta: EGC; 2000.

24. Mansen TJ. Alteration of Erythrocyte function in Pathophysiology: The Biologic Basis for Disease in Adults and Children. 5th ed. USA : Mosby company; 2006.
25. Suyatna FD. Radikal bebas dan iskemia. *Cermin Dunia Kedokt.* 1989; 57: 25-8.
26. Gitawati R. Radikal Bebas-Sifat dan peran dalam menimbulkan kerusakan/kematian sel. *Cermin Dunia Kedokt.* 1995; 102: 33-6.
27. Madge LA, Pober JS. TNF signaling in vascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2001 [cited 2011 Sept 16]; 70(3): 317-25.
28. Beutler E, Coller BS, Lichtmann LA, Kipps TJ, Selighson U, editors. *Williams hematology.* 6th ed. New York: MC Graw-Hill; 2001.
29. Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* [Internet]. 2004 [cited 2011 Sept 16]; 113: 1251-53.
30. Weiss G, Goodnough LT. Medical progress anemia of chronic disease, review article. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 [cited 2011 Sept 16]; 352: 1011-23.
31. Means RT. Patogenesis of anemia of chronic disease: a cytokine-mediated anemia. *Stem cells* [Internet]. 1995 [cited 2011 Sept 17]; 13: 32-7.
32. Denz H, Huber P, Orth B, wachter H, Fuchs D. Association between the activation of macrophages, changes of iron metabolism and the degree of anaemia in patients with malignant disorders. *Eur J Haematol* [Internet]. 1992 [cited 2011 Sept 17]; 48(5): 244-8.
33. World Health Organization. 1993. *Guidelines for the Development of Health Management Information Systems.* Manila: WHO regional office for the western pacific.

Lampiran 1. Detail komposisi pelet tikus**Tabel 8.** Detail komposisi pelet tikus

Product#	D12451		D11102101		D11102102	
	gm%	kcal%	gm%	kcal%	gm%	kcal%
Protein	24	20	24	20	24	20
Carbohydrate	41	35	41	35	41	35
Fat	24	45	24	45	24	45
Total		100		100		100
Kcal/gm	4.7		4.7		4.7	
Ingredient	gm	kcal	gm	kcal	gm	kcal
Casein, 80 Mesh	200	800	200	800	200	800
L-Cystine	3	12	3	12	3	12
Corn Starch	72.8	291.2	72.8	291.2	72.8	291.2
Maltodextrin 10	100	400	100	400	100	400
Sucrose	172.8	691.2	172.8	691.2	172.8	691.2
Cellulose, BW200	50	0	50	0	50	0
Lard	177.5	1597.5	93.075	837.675	8.65	77.85
Primex	0	0	84.425	759.825	168.85	1519.65
Mineral Mix, S10026	10	0	10	0	10	0
DiCalcium Phosphate	13	0	13	0	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0	5.5	0	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H ₂ O	16.5	0	16.5	0	16.5	0
Vitamin Mix, V10001	10	40	10	40	10	40
Choline Bitartrate	2	0	2	0	2	0
FD&C Yellow Dye #5	0	0	0.025	0	0	0
FD&C Red Dye #40	0.05	0	0	0	0.025	0
FD&C Blue Dye #1	0	0	0.025	0	0.025	0
Total	858.15	4057	858.15	4507	858.15	4057

Lampiran 2. Ethical clearance penelitian

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soefomo 18. Semarang Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905</p>	
<p>ETHICAL CLEARANCE No. 223/EC/FK/RSDK/2012</p>		
<p>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP. Dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah USULAN Penelitian :</p>		
Peneliti I	:	Gery Rifano Hardanto
Judul Penelitian	:	Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Merah Tikus Sprague Dawley
Peneliti II	:	Jefri Pratama
Judul Penelitian	:	Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Putih Tikus Sprague Dawley
Pembimbing	:	dr. Kusmiyati Tjahjono, DK, M.Kes dr. Hardian
Penelitian	:	Dilaksanakan di <ul style="list-style-type: none"> - Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM, Yogyakarta - Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Undip, Semarang
<p>Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2004.</p>		
<p>Pada laporan akhir peneliti harus melampirkan cara pemeliharaan & dekapitasi hewan coba.</p>		
<p>Fakultas Kedokteran Undip Dekan</p>	<p>Semarang, 22 Juni 2012 Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Undip/RS. Dr. Kariadi</p>	
<p> dr. Endang Ambarwati, Sp.KFR(K) NIP. 19560806 198503 2 001</p>	<p> Prof. dr. Siti Fatimah Muis, M.Sc, Sp.GK NIP. 13036806700</p>	

Lampiran 3. Surat ijin penelitian



UNIVERSITAS GADJAH MADA
LABORATORIUM PENELITIAN DAN PENGUJIAN TERPADU
(LPPT – UGM)

Bidang Layanan Penelitian Pra – Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan

Jl. Agro Karang Malang Kampus UGM

Telp. (0274) 7497705, FAX. (0274) 546868, e-mail: lppt_info@mail.ugm.ac.id

1 Maret 2012

Nomor : 0110/UGM/LPPT/LP3HP/1-III/2012
 Lamp : -
 Hal : Ijin Penelitian

Kepada
 Yth : Ketua
 Bagian Biokimia
 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
 Semarang

Dengan Hormat,

Menjawab surat saudara nomor 22/BK/II/2012 tanggal 2 Februari 2012 perihal permohonan ijin Penelitian dengan menggunakan hewan percobaan, sebagai bagian dari tugas akhir dalam menempuh Pendidikan:

Nama : Gery Rifano Hardanto
 NIM : G2A008086
 Judul Penelitian : “ Pengaruh Pemberian Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Merah Tikus Sprague Dawley ”

Dengan ini kami beritahukan bahwa permohonan ijin penelitian tersebut dapat kami setujui sesuai peraturan yang berlaku. Adapun dalam pelaksanaannya akan dibantu oleh teknisi kami sdr. Bayu Muryadi.

Demikian kami sampaikan, atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terima kasih.

Bidang Layanan Pra-Klinik LPPT UGM
 Kepala

Dr. drs. Puji Astuti, M. P.
 NIP : 19601012 198703 2 001

Lampiran 4. Spreadsheet data penelitian

Kelompok Kontrol

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM
1	232.7	15.4	8.30	257.8	820.6	9.30	25.1	805.2	1.00
2	276.4	17.4	8.90	327.8	931.0	9.10	51.4	913.6	0.20
3	220.5	15.8	9.90	240.6	717.2	9.70	20.1	701.4	-0.20
4	248.6	16.5	9.20	277.5	843.8	9.10	28.9	827.3	-0.10
5	266.2	17.2	8.60	273.1	769.6	10.30	6.9	752.4	1.70
6	263.9	15.8	7.90	296.8	924.0	8.60	32.9	908.2	0.70
7	262.1	17.1	8.20	292.1	896.2	9.90	30.0	879.1	1.70
Rerata	252.9	16.5	8.71	280.8	843.2	9.43	27.9	826.7	0.71

Kelompok Perlakuan 1

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM
1	253.7	17.5	9.30	321.6	571.4	9.60	67.9	553.9	0.30
2	234.2	17.3	8.90	300.6	584.3	9.40	66.4	567.0	0.50
3	265.4	15.6	8.70	287.5	565.4	9.20	22.1	549.8	0.50
4	267.8	18.6	9.00	331.8	679.5	9.40	64.0	660.9	0.40
5	201.7	13.6	8.70	261.5	573.6	9.70	59.8	560.0	1.00
6	254.8	16.7	9.40	307.1	566.4	10.10	52.3	549.7	0.70
7	239.5	17.4	8.60	314.5	646.3	9.60	75.0	628.9	1.00
Rerata	245.3	16.7	8.94	303.5	598.1	9.57	58.2	581.5	0.63

Kelompok Perlakuan 2

Tikus	Pretest			Posttest			Selisih		
	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM	BB	AP	SDM
1	239.8	16.3	8.10	325.3	693.7	8.80	85.5	677.4	0.70
2	263.6	18.9	8.10	340.5	667.2	9.90	76.9	648.3	1.80
3	268.6	18.2	8.90	343.6	667.5	8.70	75.0	649.3	-0.20
4	275.7	18.8	9.20	362.2	698.0	8.90	86.5	679.2	-0.30
5	247.1	20.0	8.90	352.1	717.2	9.50	105.0	697.2	0.60
6	258.1	15.2	9.00	356.2	766.6	9.50	98.1	751.4	0.50
7	292.7	9.0	8.40	369.7	709.5	9.40	77.0	700.5	1.00
Rerata	263.7	16.6	8.66	349.9	702.8	9.24	86.3	686.2	0.59

Keterangan: Berat badan (BB) dan Asupan pakan (AP) dalam gram; Sel darah merah (SDM) (dalam $\times 10^6$ sel/ μ L)

Lampiran 5. Hasil keluaran program statistik

Descriptives: BB

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
BBpre	21	201.70	292.70	253.9571	20.75807
BBpost	21	240.60	369.70	311.4238	36.60763
deltaBB	21	6.90	105.00	57.4667	27.96361
Valid N (listwise)	21				

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
BBpre	Kontrol	.248	7	.200	.922	7	.483
	Perlakuan 1	.215	7	.200	.891	7	.280
	Perlakuan 2	.110	7	.200	.985	7	.980
BBpost	Kontrol	.143	7	.200	.985	7	.982
	Perlakuan 1	.165	7	.200	.956	7	.787
	Perlakuan 2	.129	7	.200	.982	7	.969
deltaBB	Kontrol	.213	7	.200	.955	7	.775
	Perlakuan 1	.251	7	.200	.821	7	.065
	Perlakuan 2	.219	7	.200	.884	7	.243

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

T-Test: K pre vs K post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 BBpre	252.9143	7	20.04607	7.57670
BBpost	280.8143	7	28.30756	10.69925

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 BBpre & BBpost	7	.900	.006

Paired Samples Test

	Paired Differences	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
					Lower	Upper			
Pair 1 BBpre - BBpost		-27.90000	13.49284	5.09981	-40.37879	-15.42121	-5.471	6	.002

T-Test: P1 pre vs P1 post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 BBpre	245.3000	7	22.83594	8.63117
BBpost	303.5143	7	23.41961	8.85178

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 BBpre & BBpost	7	.717	.070

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BBpre - BBpost	-58.21429	17.40588	6.57881	-74.31204	-42.11653	-8.849	6	.000

T-Test: P2 pre vs P2 post

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	BBpre	263.6571	7	17.73479	6.70312
	BBpost	349.9429	7	14.83834	5.60836

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	BBpre & BBpost	7	.765	.045

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	BBpre - BBpost	-86.28571	11.49020	4.34289	-96.91238	-75.65905	-19.868	6	.000

T-Test: K vs P1

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB	Kontrol	7	27.9000	13.49284	5.09981
	Perlakuan 1	7	58.2143	17.40588	6.57881

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB	Equal variances assumed	.280	.606	-3.642	12	.003	-30.31429	8.32399	-48.45070	-12.17787
	Equal variances not assumed			-3.642	11.298	.004	-30.31429	8.32399	-48.57649	-12.05208

T-Test: K vs P2

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB	Kontrol	7	27.9000	13.49284	5.09981
	Perlakuan 2	7	86.2857	11.49020	4.34289

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB Equal variances assumed	.003	.955	-8.716	12	.000	-58.38571	6.69842	-72.98031	-43.79112
Equal variances not assumed			-8.716	11.703	.000	-58.38571	6.69842	-73.02149	-43.74994

T-Test: P1 vs P2

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaBB	Perlakuan 1	7	58.2143	17.40588	6.57881
	Perlakuan 2	7	86.2857	11.49020	4.34289

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaBB Equal variances assumed	.412	.533	-3.561	12	.004	-28.07143	7.88298	-45.24696	-10.89589
Equal variances not assumed			-3.561	10.395	.005	-28.07143	7.88298	-45.54581	-10.59705

Descriptives: SDM

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
SDMpre	21	7.90	9.90	8.7714	.49512
SDMpost	21	8.60	10.30	9.4143	.44976
deltaSDM	21	-.30	1.80	.6429	.60792
Valid N (listwise)	21				

T-Test: K pre vs K post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 SDMpre	8.7143	7	.68173	.25767
SDMpost	9.4286	7	.57363	.21681

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	SDMpre - SDMpost	-.71429	.79462	.30034	-1.44919	.02062	-2.378	6	.055

T-Test:P1 pre vs P1 post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 SDMpre	8.9429	7	.31015	.11722
SDMpost	9.5714	7	.28702	.10848

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 SDMpre & SDMpost	7	.559	.192

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	SDMpre - SDMpost	-.62857	.28115	.10627	-.88860	-.36855	-5.915	6	.001

T-Test: P2 pre vs P2 post

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 SDMpre	8.6571	7	.45040	.17023
SDMpost	9.2429	7	.44668	.16883

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 SDMpre & SDMpost	7	-.271	.557

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	SDMpre - SDMpost	-.58571	.71514	.27030	-1.24711	.07568	-2.167	6	.073

T-Test: K vs P1

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaSDM Kontrol	7	.7143	.79462	.30034
Perlakuan 1	7	.6286	.28115	.10627

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaSDM Equal variances assumed	7.338	.019	.269	12	.792	.08571	.31859	-.60842	.77985
Equal variances not assumed			.269	7.479	.795	.08571	.31859	-.65795	.82938

T-Test: K vs P2

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
deltaSDM Kontrol	7	.7143	.79462	.30034
Perlakuan 2	7	.5857	.71514	.27030

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaSDM	Equal variances assumed	.393	.543	.318	12	.756	.12857	.40406	-.75180	1.00894
	Equal variances not assumed			.318	11.869	.756	.12857	.40406	-.75288	1.01002

T-Test: P1 vs P2

Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Perlakuan 1	7	.6286	.28115	.10627
Perlakuan 2	7	.5857	.71514	.27030

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
deltaSDM	Equal variances assumed	2.178	.166	.148	12	.885	.04286	.29044	-.58995	.67567
	Equal variances not assumed			.148	7.811	.886	.04286	.29044	-.62972	.71543

Lampiran 6. Dokumentasi penelitian



Tempat pelaksanaan penelitian



Pelet tikus asam lemak trans 5% dan 10%
(diimpor dari *Research Diets, Inc.*, NJ, USA)



Pakan untuk Kelompok K
(tanpa asam lemak trans)



Pakan untuk Kelompok P1
(asam lemak trans 5%)



Pakan untuk Kelompok P2
(asam lemak trans 10%)



Laboratorium untuk perawatan
hewan coba



Hygrometer (pengukur kelembaban) dan
termometer (pengukur suhu) ruangan



Tikus dalam kandang individual;
diberi pakan sesuai kelompoknya
dan diberi minum *ad libitum*



Pengambilan darah tikus
melalui *pleksus vena retroorbita*
(anyaman vena di belakang mata)

Lampiran 7. Biodata penulis

Identitas

Nama : Gery Rifano Hardanto
 NIM : G2A008086
 Tempat, tanggal lahir : Semarang, 22 Desember 1990
 Jenis kelamin : Laki-laki
 Alamat : Jalan Menoreh Utara XII No. 9 Semarang
 Nomor HP : 0856 4280 1255
 Alamat surel (*e-mail*) : rifanogery@yahoo.com

Riwayat Pendidikan Formal

1. SD Negeri Mangkukusuman 1 Tegal	Lulus tahun	: 2002
2. SMP Negeri 2 Tegal	Lulus tahun	: 2005
3. SMA Negeri 1 Tegal	Lulus tahun	: 2008
4. FK Universitas Diponegoro	Masuk tahun	: 2008

Keanggotaan Organisasi

Badan Eksekutif Mahasiswa Tahun 2009 s/d 2011

Pengalaman mengikuti lomba karya ilmiah

Nama peneliti : 1. Jefri Pratama
 2. Gery Rifano Hardanto
 3. Azka Tajussyarof El Muzakka
 Judul karya ilmiah : Pengaruh Konsumsi Asam Lemak Trans terhadap Jumlah Sel Darah Tikus Sprague Dawley
 Penyelenggara : Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia
 Prestasi : Lolos seleksi pendanaan oleh Ditjen Dikti dibiayai tahun 2012 sebesar Rp 9.980.000,00