

BAB II

TINJAUAN PUSTAKAN

A. Obesitas

1. Definisi obesitas

Kelebihan berat badan atau yang dikenal dengan obesitas merupakan kondisi abnormal yang ditandai oleh penumpukan lemak berlebih dalam tubuh, yang dapat berdampak negatif pada kesehatan (Mardiana, Yusuf dan Sriwiyanti, 2022). Obesitas dapat diidentifikasi melalui pengukuran Indeks Massa Tubuh (IMT), yang diperoleh dengan membagi berat badan (dalam kilogram) dengan kuadrat tinggi badan (dalam meter). Kondisi ini muncul akibat ketidakseimbangan antara asupan energi dan pengeluaran energi, di mana kelebihan energi disimpan oleh tubuh dalam bentuk jaringan lemak (Gadde *et al.*, 2021). Penumpukan energi berlebih dapat disebabkan oleh tingginya asupan energi atau rendahnya pengeluaran energi. Asupan energi yang tinggi umumnya berasal dari konsumsi makanan yang berlebihan, sementara rendahnya pengeluaran energi berkaitan dengan tingkat metabolisme tubuh yang menurun (Noor, Sugiarto dan Fatimah, 2022). Secara klinis, obesitas dapat dengan mudah dikenali melalui ciri-ciri dan gejala khas, seperti bentuk wajah yang bulat, pipi yang tembam, dagu ganda, leher yang tampak pendek, dada yang menonjol karena penumpukan lemak, perut yang buncit dengan lipatan pada dinding perut, serta pada anak laki-laki, penis yang tampak kecil karena tertutup oleh jaringan lemak di daerah suprapubik (Mauliza, 2018).

2. Penentuan obesitas

Derajat obesitas dapat dinyatakan dengan mengukur Indeks Masa Tubuh (IMT). Pengukuran IMT dapat dilakukan dengan mengukur berat badan dibagi

dengan kuadrat tinggi badan dalam satuan meter (Kg/m^2), derajat obesitas dapat dibagi sebagai berikut, (*World Health Organization*, 2000) :

IMT 23 – 24,9 Kg/m^2 : *Overweight at risk*

IMT 25-29,9 Kg/m^2 : *Obese I*

IMT $\geq 30 \text{ Kg/m}^2$: *Obese II*

3. Patofisiologi obesitas

Secara umum, obesitas terjadi akibat ketidakseimbangan antara jumlah kalori yang dikonsumsi dan yang dibutuhkan tubuh, di mana asupan energi melebihi kebutuhan. Kelebihan energi ini kemudian disimpan dalam bentuk lemak. Ketidakseimbangan ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, seperti kelebihan asupan nutrisi, gangguan hormonal, kondisi sindromik tertentu, maupun faktor genetik. Hipotalamus berperan sentral dalam menjaga keseimbangan energi tubuh melalui tiga proses fisiologis utama, yaitu pengaturan rasa lapar dan kenyang, pengendalian pengeluaran energi, serta regulasi pelepasan hormon. Proses penyimpanan energi ini diatur melalui sinyal eferen dari hipotalamus sebagai respons terhadap sinyal aferen yang dikirimkan oleh jaringan lemak, saluran pencernaan, dan otot. Sinyal ini bisa bersifat anabolik, yang merangsang nafsu makan dan menurunkan pengeluaran energi, atau bersifat katabolik, yang menekan keinginan makan dan meningkatkan pembakaran energi. Berdasarkan durasi kerjanya, sinyal ini terbagi menjadi dua jenis: jangka pendek dan jangka panjang. Sinyal jangka pendek memengaruhi jumlah dan waktu makan serta berkaitan dengan peregangan lambung dan pelepasan peptida gastrointestinal seperti kolesistokinin (CCK), yang dapat meningkatkan rasa kenyang. Sedangkan sinyal jangka panjang melibatkan hormon leptin yang dihasilkan oleh jaringan lemak dan

hormon insulin, yang keduanya berperan dalam mengatur keseimbangan energi dan penyimpanan lemak. Ketika asupan energi berlebih, jumlah jaringan lemak meningkat, yang diikuti oleh peningkatan kadar leptin dalam darah. Leptin kemudian merangsang pusat anoreksigenik di hipotalamus untuk menekan produksi Neuropeptida Y (NPY), sehingga nafsu makan berkurang. Sebaliknya, saat tubuh mengalami defisit energi, jaringan lemak menyusut dan pusat oreksigenik di hipotalamus menjadi aktif, memicu peningkatan rasa lapar. Namun, pada banyak kasus obesitas, terjadi resistensi terhadap leptin, sehingga meskipun kadar leptin tinggi, mekanisme penekanan nafsu makan tidak berjalan secara efektif. Pengaturan rasa lapar dan kenyang ini dikendalikan oleh sistem neurohumoral yang kompleks, dipengaruhi oleh faktor genetik, asupan makanan, lingkungan, serta faktor psikologis, dan semuanya dimediasi melalui respons metabolik yang terpusat di hipotalamus (Cahyaningrum, 2015).

4. Faktor penyebab obesitas

Menurut penelitian Kurdanti (2015) obesitas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya :

a. Genetik

Faktor genetik pada obesitas dihubungkan dengan kegiatan fisik, indeks massa tubuh, lingkar pinggang, penambahan berat badan. Jika orang tua menderita kelebihan berat badan maka memungkinkan anaknya untuk mengalami hal yang sama sebesar 40-50%. Jika kedua orang tua mengalami obesitas maka sebesar 70% anaknya akan mengalami obesitas juga. Penambahan berat badan erat hubungannya dengan faktor genetik, data beberapa penelitian terkait genetika menemukan bahwa alel yang berbeda dapat memicu terjadinya obesitas.

b. Pola makan berlebih

Kebiasaan makan berlebihan menjadi salah satu faktor risiko utama penyebab obesitas. Kondisi ini terjadi akibat asupan kalori yang melampaui kebutuhan tubuh. Kalori dibutuhkan untuk menunjang aktivitas fisik dan fungsi vital tubuh, sehingga menjaga berat badan ideal memerlukan keseimbangan antara energi yang dikonsumsi dan energi yang digunakan. Ketika terjadi ketidakseimbangan, di mana asupan energi lebih tinggi daripada energi yang dibakar, maka hal ini dapat menyebabkan peningkatan berat badan hingga obesitas.

c. Kurang aktivitas fisik

Orang yang sering berolahraga membutuhkan kalori lebih banyak dibandingkan orang yang jarang berolahraga. Kurang gerak dan jarang melakukan kegiatan fisik ditambah dengan konsumsi makanan yang berlemak, menyebabkan terjadinya obesitas. Kalori di dalam tubuh dibakar melalui aktivitas fisik. Jika kalori dan energi yang masuk berlebihan dan tidak diimbangi dengan aktivitas fisik yang akan memudahkan seseorang menjadi gemuk.

d. Lingkungan

Kejadian obesitas dipengaruhi oleh faktor lingkungan, antara lain tingkat aktivitas fisik yang dilakukan dan pola makan seseorang. Pengaruh gaya hidup terhadap kejadian obesitas itu diakibatkan oleh asupan kalori sehari yang berlebihan, berkurangnya aktivitas fisik dan peningkatan pola konsumsi makanan.

B. Lanjut Usia (Lansia)

1. Definisi lanjut usia

Lanjut usia atau yang dikenal dengan Lansia merupakan periode penutup dalam rentang kehidupan manusia. Lansia dimulai sejak menginjak usia 60 tahun hingga meninggal yang ditandai dengan berbagai perubahan kondisi fisik, psikologis maupun sosial yang saling berinteraksi satu sama lain karena faktor mulai melemahnya fungsi organ tubuh (Ewys dkk., 2021). WHO menggolongkan lansia secara kronologis / biologis menjadi 4 kategori, yaitu (Widi, 2021):

- a. Usia paruh baya (*middle age*) : individu berusia antara 45 hingga 59 tahun
- b. Lanjut usia awal (*elderly*) : individu yang berumur 60 sampai 74 tahun
- c. Usia lanjut (*old*) : kelompok usia antara 75 hingga 90 tahun
- d. Usia sangat lanjut (*very old*) : individu yang berusia lebih dari 90 tahun

Lansia termasuk dalam kelompok atau populasi yang rentan, karena mereka mengalami proses penuaan. Penuaan sendiri merupakan tahap di mana kemampuan jaringan tubuh secara bertahap menurun dalam memperbaiki, mengganti, atau mempertahankan fungsi normalnya. Proses ini terjadi akibat akumulasi kerusakan molekul dan sel yang berlangsung seiring waktu. Dampaknya meliputi penurunan kemampuan fisik dan mental secara perlahan, peningkatan risiko munculnya penyakit, serta pada akhirnya kematian. Perubahan-perubahan yang terjadi selama proses penuaan tidak selalu terjadi secara linier atau konsisten, dan tidak sepenuhnya berhubungan langsung dengan usia kronologis seseorang (Widi, 2021; Siregar, 2023).

Pada usia lanjut, fungsi fisiologis cenderung menurun karena proses penuaan atau degeneratif, yang dapat meningkatkan risiko penyakit tidak menular. Selain

itu, kebiasaan makan yang tidak sehat di masa lalu juga berkontribusi pada rentannya lansia terhadap berbagai penyakit di masa sekarang (Nugroho, Triandhini dan Haika, 2019). Obesitas sering kali ditemukan pada individu lanjut usia. Seiring bertambahnya usia, terjadi perubahan komposisi tubuh, seperti penurunan massa otot yang disertai peningkatan massa lemak. Peningkatan lemak ini dapat menyebabkan penumpukan lemak tubuh dan mengarah pada obesitas jika tidak diimbangi dengan pola hidup sehat. Jika obesitas tidak ditangani dengan baik, berbagai komplikasi penyakit dapat muncul, terutama pada lansia. Beberapa komplikasi umum yang sering dialami oleh lansia dengan obesitas termasuk penyakit ginjal, stroke, dan penyakit jantung koroner (Herdian dan Farapti, 2023).

C. Kulit Jeruk Bali

1. Klasifikasi

Menurut Kenastino dalam penelitian Irviyanto (2021), dalam ilmu taksonomi tanaman jeruk bali dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus maxima</i>



Gambar 1 Kulit Jeruk Bali

(Sumber: Dokumentasi pribadi, 2024)

2. Morfologi

Tanaman jeruk bali (*Citrus maxima*) merupakan salah satu varietas jeruk yang tumbuh dengan baik di wilayah Asia Tenggara. Termasuk dalam famili Rutaceae, tanaman ini mampu berkembang optimal pada ketinggian 5 hingga 15 meter dengan paparan sinar matahari langsung, curah hujan tahunan berkisar antara 1.500 hingga 2.000 mm, serta suhu dan kelembapan udara sekitar 25–32°C. Jeruk bali dapat tumbuh di dataran rendah maupun tinggi, dan tersebar luas di berbagai daerah seperti Jawa, Kalimantan, Bali, Sulawesi, dan Sumatera. Batangnya kokoh, berdiameter antara 10 hingga 30 cm, dengan kulit luar berwarna coklat kekuningan dan bagian dalam berwarna kuning. Pohon ini memiliki banyak cabang yang tumbuh menyebar dan cenderung menunduk di ujungnya. Cabang muda berwarna hijau dengan bentuk bersudut, namun seiring pertumbuhan, bentuknya menjadi bulat dan berwarna hijau tua. Daunnya berbentuk oval besar dengan ujung membulat, pinggiran hampir rata, dan bagian mendekati ujung sedikit bergelombang. Daun-daunnya menyebar dengan tangkai berwarna kekuningan, berukuran lebar, dan memiliki permukaan sedikit berbulu. Buah jeruk bali berbentuk bulat atau menyerupai bola yang agak gepeng, dengan kulit yang relatif

tebal dan terdiri atas 11 hingga 16 segmen. Daging buahnya berwarna merah muda hingga merah jambu, bertekstur dari keras sampai lunak, bercita rasa manis dengan sedikit asam, dan mengandung sedikit biji (Kautsar, 2021; Filbert *et al.*, 2022).

3. Kandungan dan manfaat

Jeruk Bali merupakan tanaman buah yang kaya akan berbagai zat gizi, terutama pada bagian kulitnya. Kulit Jeruk Bali mengandung beragam senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, flavonoid, likopen, vitamin C, serta pektin dan tannin yang mendominasi (Yunus dkk., 2022). Selain itu, senyawa kimia seperti saponin, limonoid, dan naringin yang tergolong metabolit sekunder juga ditemukan dalam kulit buah ini. Limonoid adalah senyawa terpenoid, sementara naringin merupakan bagian dari senyawa flavonoid. Kedua senyawa ini memiliki peran penting dalam sistem kekebalan tubuh dan memiliki sifat antioksidan. Flavonoid yang terkandung dalam jeruk ini antara lain naringin, narirutin, dan hesperidin (Tricamila, Agustin dan Adlina, 2024).

D. Daun Stevia

1. Klasifikasi

Pada penelitian Sari (2020) tanaman stevia memiliki taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Ordo	: <i>Campanulate</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Famili	: <i>Compositae</i>
Genus	: <i>Stevia</i>

Spesies : *Stevia rebaudiana*



Gambar 2 Daun *Stevia rebaudiana*

(Sumber: Widyanita (2022))

2. Morfologi

Stevia (Stevia rebaudiana) merupakan tanaman yang tumbuh optimal di daerah dataran tinggi dengan ketinggian antara 500 hingga 1.000 meter di atas permukaan laut, pada suhu berkisar 14°C hingga 27°C. Tanaman ini membutuhkan lingkungan terbuka atau area yang mendapatkan paparan sinar matahari yang cukup. *Stevia* tergolong tanaman semak (perdu) yang dapat mencapai tinggi antara 60 hingga 90 cm. Batangnya berbentuk bulat, memiliki permukaan berbulu, beruas-ruas, tumbuh tegak, dan bercabang banyak. Daunnya berwarna hijau, tersusun secara berhadapan, bertekstur tebal, berbentuk lonjong dengan ujung tumpul dan pangkal meruncing. Tepi daun bergerigi, tulang daun menyirip, permukaannya berbulu halus, serta bertangkai pendek dengan panjang daun berkisar antara 2 hingga 5 cm. Bunga *stevia* tumbuh di ujung dan ketiak daun, dengan mahkota berbentuk terompet, berwarna putih, dan berbentuk majemuk. Kelopak bunganya berbentuk tabung, berbulu, terbagi lima, dan berwarna hijau. Tangkai benang sari pendek berwarna putih, kepala sari berwarna kuning, dan putik berbentuk silindris. Sistem perakaran tanaman ini adalah akar tunggang, halus, mendekati permukaan

tanah, berwarna putih kotor, kasar menembus ke tanah, rapat, dan tebal (Fakih, 2019; Zulkha, 2019).

3. Kandungan dan manfaat

Daun stevia berpotensi dimanfaatkan sebagai pengganti gula alami yang rendah kalori, bahkan bebas kalori, karena kandungan steviosida di dalamnya mampu menghasilkan rasa manis yang 250 hingga 300 kali lebih kuat dibandingkan gula pasir. Salah satu kelebihan utama dari pemanis alami ini adalah sifatnya yang tidak bersifat karsinogenik, sehingga aman dikonsumsi, termasuk bagi penderita diabetes sebagai alternatif pengganti gula. Selain itu, stevia juga memiliki sifat kariostatik, yaitu kemampuannya untuk menghambat dan mencegah perkembangan karies gigi, yakni kondisi infeksi yang merusak jaringan keras gigi hingga menimbulkan gigi berlubang (Zulkha, 2019).

Rasa manis pada stevia berasal dari senyawa glikosida diterpen, yaitu *steviosida* dan *rebaudiosida-A*. Selain memberikan rasa manis, daun stevia juga mengandung berbagai nutrisi seperti protein, serat, karbohidrat, serta mineral penting seperti fosfor, kalium, kalsium, magnesium, natrium, dan zat besi, ditambah vitamin A dan C, serta sejumlah minyak esensial. Hasil analisis fitokimia terhadap daun stevia menunjukkan bahwa tanaman ini kaya akan senyawa aktif, termasuk alkaloid, steroid, tanin, saponin, dan flavonoid. Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung atom nitrogen, umumnya dalam struktur cincin heterosiklik, dan dikenal memiliki aktivitas fisiologis yang signifikan, sehingga sering dimanfaatkan dalam dunia medis, misalnya sebagai agen antibakteri. Tanin, termasuk dalam kelompok polifenol dari golongan flavonoid, berperan sebagai antioksidan kuat dan memiliki efek antiinflamasi serta antikanker. Saponin adalah

senyawa glikosida kompleks yang dapat dipecah menjadi komponen gula (glikon) dan bukan gula (aglikon), dan berfungsi sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan tegangan permukaan membran sel bakteri. Sementara itu, flavonoid merupakan jenis senyawa fenolik yang paling banyak ditemukan di alam, yang memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan, antimutagenik, antikanker (antineoplastik), dan vasodilator (Fakih, 2019).

E. Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas, khususnya spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Species*/ROS), dan kemampuan sistem tubuh untuk menetralkan serta memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas tersebut. Sebagian besar kerusakan sel disebabkan oleh ROS seperti radikal superoksida (O_2^-), radikal hidroksil ($\bullet OH$), dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Pada manusia, peningkatan kadar stres oksidatif dapat mengganggu fungsi metabolisme normal dan berkontribusi terhadap perkembangan berbagai penyakit, termasuk kanker, penyakit *Parkinson*, *Alzheimer*, aterosklerosis, gagal jantung, dan infark miokard (serangan jantung). Namun demikian, dalam kadar yang terkontrol, radikal bebas juga memiliki fungsi penting dalam sistem imun, yaitu membantu menghancurkan patogen penyebab penyakit (Suryadinata, 2018).

Untuk mengurangi dampak negatif akibat kelebihan radikal bebas, tubuh memerlukan asupan antioksidan dari luar. Antioksidan berperan dalam menangkap serta menetralkan radikal bebas, sehingga dapat menghentikan proses reaksi berantai yang memicu stres oksidatif, mencegah kerusakan sel, dan menghambat munculnya berbagai penyakit. Antioksidan merupakan senyawa atau molekul stabil

yang mampu menyumbangkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga menjadikannya tidak reaktif. Dengan kemampuannya ini, antioksidan membantu melindungi sel dari kerusakan dengan memperlambat atau mencegah proses oksidasi yang merugikan (Ibroham, Siti dan Ika, 2022). Proses terminasi oleh antioksidan umumnya berlangsung dengan cara menangkap radikal hidroksil (.OH) yang terbentuk selama tahap peroksidasi lipid, protein, atau molekul lain pada membran sel normal, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan sel (Wiyono dkk., 2023).

F. Malondialdehid (MDA)

1. Definisi malondialdehid

Malondialdehid (MDA) adalah produk hasil peroksidasi lipid yang termasuk dalam kelompok aldehida reaktif. Senyawa ini bersifat elektrofilik dan dapat menimbulkan stres toksik pada sel dengan membentuk ikatan kovalen bersama protein, sehingga menghasilkan senyawa yang dikenal sebagai *advanced lipoxidation end products* (ALE). Selain itu, MDA dapat bereaksi dengan basa nitrogen pada DNA, seperti deoksiguanosin dan deoksiadenosin, membentuk senyawa MIG yang memiliki potensi mutagenik. Secara kimia, malondialdehid merupakan senyawa dikarbonil dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$, memiliki berat molekul rendah sebesar 72,07, rantai karbon pendek, mudah menguap, dan termasuk asam lemah dengan pKa 4,46. MDA terbentuk baik sebagai produk sampingan dari sintesis eikosanoid melalui jalur enzimatis maupun sebagai produk akhir dari degradasi oksidatif asam lemak bebas secara non-enzimatis. Awalnya digunakan pada tahun 1950 sebagai indikator kerusakan makanan, saat ini MDA

umum dipakai sebagai biomarker stres oksidatif, khususnya dalam berbagai kondisi klinis yang berhubungan dengan peroksidasi lipid (Situmorang dan Zulham, 2020).

Pengukuran MDA merupakan metode tidak langsung yang relatif mudah digunakan untuk menilai jumlah radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh. Malondialdehid dapat ditemukan di berbagai jenis cairan biologis, termasuk plasma, urin, cairan sendi, cairan bronkoalveolar, empedu, getah bening, cairan mikrodialisis dari berbagai organ, cairan amnion, perikardial, serta cairan semen. Hingga kini, MDA merupakan penanda yang paling banyak dipelajari dan dianggap sebagai marker peroksidasi lipid *in vivo* terbaik, baik pada manusia maupun hewan, dengan akurasi dan stabilitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya (Mulianto, 2020). Kadea MDA dianggap sebagai penanda yang tepat untuk menilai tingkat stres oksidatif karena beberapa alasan, antara lain:

- a. Produksi MDA meningkat secara signifikan seiring dengan tingginya stres oksidatif,
- b. Konsentrasinya dapat diukur secara akurat melalui berbagai teknik analisis,
- c. Stabilitasnya tinggi dalam sampel cairan tubuh yang telah diisolasi,
- d. Tidak terpengaruh oleh fluktuasi harian maupun kandungan lemak dalam pola makan,
- e. Merupakan hasil spesifik dari proses peroksidasi lipid, serta
- f. Dapat ditemukan dalam jumlah yang memadai di seluruh jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan penetapan rentang nilai referensi yang konsisten.

2. Pembentukan dan metabolisme malondialdehid

Pembentukan malondialdehid (MDA) melalui proses peroksidasi lipid dimulai ketika radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) mengambil atom hidrogen dari lipid tak jenuh rantai panjang, sehingga lipid tersebut berubah menjadi radikal bebas. Radikal lipid ini kemudian bereaksi dengan oksigen (O_2) membentuk radikal peroksil ($\cdot\text{OO}$), yang selanjutnya mengalami reaksi berantai untuk menghasilkan malondialdehid, terutama dari lipid yang memiliki lebih dari tiga ikatan tak jenuh (Suryadinata, 2018).

Malondialdehid dapat menghambat aktivitas kompleks mitokondria I, II, dan V di otak. Hambatan ini menyebabkan ketidakstabilan pada membran potensial mitokondria, yang berkontribusi terhadap penurunan cadangan energi dalam sel. Selain itu, MDA juga mengganggu fungsi enzim *pyruvate dehydrogenase* (PDH) dan *α -ketoglutarate dehydrogenase* (KGDH) di mitokondria otak, dengan cara membentuk ikatan langsung dengan gugus sulfhidril pada asam lipoat yang merupakan bagian dari kompleks enzim tersebut. Kedua enzim ini memiliki peran penting dalam siklus Krebs dan proses fosforilasi oksidatif, terutama dalam mengatur konversi NAD^+ menjadi NADH. Penelitian pada jaringan hipokampus tikus menunjukkan bahwa MDA bersifat sangat toksik terhadap sel. MDA bereaksi dengan enzim Na^+/K^+ -ATPase pada membran plasma, yang memicu depolarisasi membran, pembukaan kanal ion yang diatur oleh tegangan, serta masuknya ion kalsium (Ca^{2+}) ke dalam sitosol, yang pada akhirnya mengaktifkan jalur apoptosis. Pada neuron kortikal, MDA dapat merangsang aktivasi fosfo-p53 serta protein siklin D1 dan D3, yang kemudian memicu aktivasi enzim protease efektor *caspase*. Peningkatan jumlah apoptosis sel saraf akibat MDA akan memperbesar risiko

terjadinya gangguan fungsi kognitif. Selain itu, stres oksidatif dapat menyebabkan gangguan fungsi mitokondria, yang berdampak pada penurunan energi seluler, akumulasi zat-zat sitotoksik, dan kerusakan sel (Situmorang dan Zulham, 2020).

3. Malondialdehid pada obesitas

Obesitas dapat meningkatkan produksi radikal bebas (ROS) melalui berbagai kondisi tubuh, seperti hiperleptinemia, hiperlipidemia, hiperglikemia, inflamasi kronis ringan (*chronic low-grade inflammation*), disfungsi endotel, serta peningkatan aktivitas otot (Midah dkk., 2021). Radikal bebas yang terbentuk kemudian menghambat enzim gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase, yang memicu aktivasi empat jalur metabolik alternatif, yaitu: fruktosa-6-fosfat dialihkan ke jalur heksosamin, glukosa menuju jalur poliol, triosa fosfat menghasilkan metilglisosal, dan Advanced Glycation End Products (AGEs) yang merupakan prekursor utama mengaktifkan jalur protein kinase C (PKC). Selain itu, dihydroxyacetone phosphate diubah menjadi diacylglycerol. Keseluruhan proses ini berkontribusi pada peningkatan stres oksidatif dengan memicu produksi radikal bebas lebih lanjut (Widhiani, Widiastuti dan Zubaidi, 2023).

Obesitas dikaitkan dengan peningkatan kadar Asam Lemak Bebas (FFA) dan jaringan lemak putih (*White Adipose Tissue/WAT*), yang merupakan tempat penyimpanan lemak berlebih. Penurunan aktivitas transporter nukleotida adenin akibat obesitas menyebabkan peningkatan kadar FFA dalam plasma, yang pada gilirannya meningkatkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) di rantai transpor elektron mitokondria. Asam lemak yang terkonjugasi lebih rentan terhadap oksidasi, yang mempercepat akumulasi produk sampingan oksidatif dan merangsang pembentukan radikal bebas. Selain itu, obesitas meningkatkan potensi

peradangan, yang menyebabkan pelepasan sitokin pro-inflamasi, produksi Protein C-Reaktif (CRP), serta peningkatan jumlah dan aktivasi sel darah putih. Respons pro-inflamasi yang meningkat dan infiltrasi leukosit ini mempercepat produksi ROS, sehingga memicu stres oksidatif. Akibatnya, obesitas menyebabkan tingginya stres oksidatif yang meningkatkan pelepasan profil Malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar MDA dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti parkinson, *alzheimer*, dan *lou gehrig*. Radikal bebas yang terbentuk memiliki efek destruktif, seperti kerusakan DNA, serta menyebabkan ketidakaturan atau mutasi genetik. (Widhiani, Widiastuti dan Zubaidi, 2023).

G. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)*

1. Definisi dan prinsip ELISA

Biomarker inflamasi perlu dianalisis guna memonitoring progresivitas dari inflamasi itu sendiri, salah satunya dapat dianalisis dengan teknik ELISA. ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) adalah teknik imunologi yang dapat mengukur aktivitas/respon ekspresi protein dan status reaksi imun seperti asam nukleat, protein, peptida, hormon, herbisida, dan metabolit sekunder tanaman. (Santosa, 2020). Prinsip dasar ELISA adalah reaksi antigen-antibodi, antibodi spesifik yang berlabel enzim mengikat antigen target atau sebaliknya yang akan menghasilkan reaksi warna kemudian dianalisis menggunakan ELISA Reader (Midhun *et al.*, 2021). Alasan teknik ELISA banyak digunakan memiliki pesifisitas dan sensitivitas yang tinggi, karena menggunakan reaksi antigen-antibodi, efisiensi tinggi karena analisis simultan dapat dilakukan tanpa perlakuan awal sampel yang rumit (Sakamoto *et al.*, 2018). Prosedur ELISA secara umum meliputi: pelapisan pelat microtiter dengan antigen; pemblokir agen lain atau pengotor, penambahan

antibodi primer, penambahan antibodi sekunder yang terkonjugasi ke enzim, reaksi substrat dengan enzim untuk menghasilkan produk berwarna, dan pembacaan pada ELISA Reader (Midhun *et al.*, 2021).

2. Jenis-jenis metode ELISA

Ada beberapa jenis ELISA yaitu: langsung (*Direct*), tidak langsung (*Indirect*), sandwich, dan kompetitif. Dasar dari perbedaan jenis tersebut adalah dari penggunaan konjugat antibodi-enzim atau antigen -enzim, serta penggunaan antibodi primer dan sekunder (Hidayat dan Patricia Wulandari, 2021). Terdapat beberapa penjelasan mengenai berbagai jenis metode ELISA, yaitu (Santosa, 2020):

a. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) *DIRECT*

Direct ELISA adalah metode paling sederhana untuk mendeteksi antigen dalam sampel menggunakan antibodi monoklonal spesifik. Antigen ditempelkan pada microtiter plate, lalu dibilas untuk menghilangkan yang tidak menempel. Antibodi berlabel enzim (misalnya HRP) ditambahkan dan membentuk kompleks dengan antigen, kemudian dicuci kembali untuk menghilangkan antibodi bebas. Substrat ditambahkan untuk bereaksi dengan enzim, menghasilkan perubahan warna yang diukur menggunakan kolorimetri, kemiluminesensi, atau fluoresensi guna menentukan kadar antigen.

b. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) *INDIRECT*

Pada metode ELISA tidak langsung (*indirect* ELISA), target utama yang dideteksi adalah antibodi dalam sampel, sehingga diperlukan antigen spesifik sebagai komponen utama dalam reaksi pengikatan. Antigen ini, biasanya bersifat monoklonal, akan dilapiskan terlebih dahulu pada permukaan microtiter plate. Setelah itu, sampel yang diduga mengandung antibodi spesifik ditambahkan, dan

antibodi dalam sampel akan berikatan dengan antigen tersebut bila cocok. Selanjutnya, antibodi sekunder yang telah dilabeli dengan enzim ditambahkan untuk mengenali dan berikatan dengan antibodi primer dari sampel. Komponen penting dalam teknik ini meliputi antigen spesifik, antibodi target dalam sampel, antibodi sekunder berlabel enzim, substrat yang akan bereaksi dengan enzim untuk menghasilkan sinyal warna, serta larutan penghenti (*stop solution*) untuk menghentikan reaksi. Semua komponen ini sangat diperlukan agar proses deteksi dalam ELISA indirect dapat berjalan secara optimal.

c. ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) *SANDWICH*

Teknik ELISA *Sandwich* serupa dengan ELISA langsung karena sama-sama mendeteksi antigen, namun keunggulannya adalah tidak memerlukan antigen yang telah dimurnikan. Metode ini menggunakan antibodi primer (penangkap) untuk mengikat antigen dalam sampel, lalu ditambahkan antibodi sekunder (deteksi) yang berlabel enzim. Setelah substrat ditambahkan, terbentuk warna yang intensitasnya mencerminkan konsentrasi antigen dalam sampel. Antigen yang dideteksi harus multivalent, seperti protein atau polisakarida yang memiliki setidaknya dua sisi antigenik untuk memungkinkan ikatan dengan kedua antibodi. ELISA Sandwich dikenal sangat sensitif, sehingga sering digunakan untuk mendeteksi antigen dalam konsentrasi rendah pada sampel dengan tingkat kontaminasi tinggi

d. Teknik ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) *COMPETITIVE*

Teknik ELISA kompetitif merupakan salah satu varian dari metode ELISA yang digunakan untuk mendeteksi adanya antigen atau antibodi dalam suatu sampel. Prinsip dasarnya melibatkan penambahan senyawa pesaing (kompetitor) yang akan berikatan dengan antigen atau antibodi pada permukaan microtiter plate.

Metode ini dikenal memiliki sensitivitas yang tinggi karena mengandalkan tingkat spesifisitas interaksi antara antigen dan antibodi. Keunggulan utama dari teknik ini adalah sampel yang mengandung antigen atau antibodi tidak perlu melalui proses pemurnian terlebih dahulu sebelum dianalisis.