

EFEK PAPARAN INFRA MERAH DEKAT PADA SEL ADIPOSIT DENGAN MENGGUNAKAN STUDI *INVITRO*

Oleh

Emillia Devi Dwi Rianti¹⁾, Ayly Soekanto²⁾

Biomedik Dasar, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma
Surabaya¹⁾, Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma
Surabaya²⁾

Email : mbak.devi@gmail.com¹⁾, aylysoekantodr@yahoo.com²⁾

ABSTRAK

Terapi infra merah merupakan radiasi panas, dapat menembus ke jaringan tubuh. Sel adiposit berada di subkutis dapat menerima penyebaran infra merah dekat. Tujuan penelitian, mengetahui efek paparan infra merah dekat pada sel adiposit dengan menggunakan studi invitro. Hasil penelitian kultur sel adiposit menghasilkan gambaran pada tabel c dengan droplet bening tak jelas. Hasil tabel d tampak jelas droplet sel adiposit, paparan sinar infra merah dekat dengan waktu 20 menit jarak berbeda-beda tampak jelas pada gambar. Paparan sinar infra merah dekat dengan jarak berbeda mempengaruhi hasil droplet sel adiposit. Sinar infra merah dekat menghasilkan gelombang elektromagnetik yang merupakan radiasi panas digunakan untuk terapi. Oil red o menunjukkan pengaruh infra merah pada sel adiposit, dan efek infra merah mempengaruhi jumlah sel adiposit, pada kelompok kontrol sel adiposit memiliki jumlah banyak dan bentuk droplet berkelompok. Kesimpulan: sel adiposit melalui metode in vitro diberi paparan infra merah dekat memberi efek perubahan morfologi sel adiposit.

Kata Kunci: Infra Merah, Radiasi, Sel Adiposit

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Obesitas merupakan kelebihan jaringan adiposa, tahun 2015 obesitas telah mencapai proporsi epidemik di seluruh dunia. Peningkatan obesitas yang sangat cepat hingga mencapai 2,3 (Rahmawati, 2014). Orang dewasa akan terus mengalami obesitas dan *overweight*, dijelaskan oleh Sanchez (2011) bahwa obesitas dan *overweight* adalah kelebihan lemak tubuh dan adiposit. Tubuh memiliki adiposit yang merupakan jumlah dari lemak yang diekspresikan sebagai massa lemak absolut (kg) atau persentase dari massa tubuh total. Peningkatan massa jaringan adiposa merupakan kondisi tubuh mengalami obesitas, dan peningkatan massa jaringan adiposa yang disebabkan oleh energi masuk melebihi energi yang harusnya dikeluarkan (Cahyaningrum, 2015).

Kondisi kebihan jaringan adiposa sangat erat dengan masalah klinis yang akan dialami oleh tubuh, beberapa penyakit kronis akan terjadi seperti hiperlipidemia, hipertensi, intoleransi karbohidrat dan diabetes melitus tipe 2 (DMT2), gout, keganasan, penyakit jan-tung koroner, artritis degeneratif, dan infertilitas. Jaringan adiposa merupakan salah satu jaringan penyambung dan

tersebar di seluruh tubuh. Jaringan adiposa yang merupakan kumpulan dari sel adipose, dan memiliki peran sebagai mediator penting pada berbagai proses fisiologi dan patologi yang berkaitan dengan metabolisme energi. Distribusi sel-sel ini digunakan untuk memprediksi resiko terutama timbunan lemak di bagian intraabdominal atau viseral. Jumlah lemak yang terdapat pada daerah tersebut sangat penting untuk menentukan gangguan yang terjadi pada metabolisme lemak dan glukosa. (Wardhana dan Sunny, 2011).

Obesitas merupakan masalah yang saat ini terjadi maka perlunya melakukan penurunan obesitas yaitu dengan melakukan metode terapi (Triwiono, 2011). Selain berdiet, olahraga untuk obesitas akan membantu membentuk tubuh agar lebih kencang (Saraswati, 2010). Metode terapi untuk masalah obesitas terdapat tiga metode, diantaranya; modifikasi gaya hidup atau *life style* (misalnya, dengan pengaturan diet, meningkatkan aktivitas fisik dan olahraga, dan terapi perilaku), farmakoterapi, obat – obatan serta bedah plastik. Sejauh ini angka tingkat keberhasilan dalam mengurangi obesitas diketahui belum menghasilkan nilai maksimal, maka perlunya dilakukan tindakan alternatif (Triwono, 2011). Saat ini penggunaan terapi dapat menggunakan terapi infra merah, karena dapat meningkatkan metabolisme mitokondria, dapat menyembuhkan luka dan angiogenesis pada kulit (Tanaka *et al.*, 2011).

Cara singkat untuk menurunkan obesitas adalah langkah yang diinginkan oleh penderita obesitas, salah satunya menggunakan terapi *infrared* (infra merah) dan merupakan radiasi panas (Majidi, 2012). Tanaka (2012) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa infra merah memiliki energi radiasi yang dapat menembus langsung ke dalam jaringan tubuh, mempengaruhi jaringan yang lebih dalam, dan memiliki jangkauan serapan yang lebih kecil sehingga dapat mempengaruhi jaringan.

Sinar Infra merah (*infrared*) ialah sinar elektromagnet yang panjang gelombangnya lebih daripada cahaya tampak yaitu diantara 700 nm dan 1 mm. Panjang gelombang cahaya infra merah akan tidak tampak oleh mata, namun radiasi panas yang ditimbulkannya dapat dirasakan atau dideteksi. Infra merah dapat dibedakan menjadi 3 macam yakni ; *Near infrared* (NIR) 0.75 – 1.5 μm , *Mid infrared* (MIR) 1.50 – 10 μm , *Far infrared* (FIR) 10 – 100 μm . Aplikasi sederhana untuk FIR adalah terdapat pada alat-alat kesehatan, untuk MIR ada pada alat ini untuk sensor biasa, sedangkan NIR digunakan untuk pencitraan dan terapi kesehatan (Nurcipto, 2017).

Tanaka (2010) sel adiposit yang berada di subkutan dapat menerima penyebaran sinar dari *Near Infrared* (NIR), dan adiposit subkutan dapat melindungi jaringan dibawahnya dari NIR. Maka permasalahan penelitian ini adalah apakah paparan infra merah dekat (*Near Infrared*) memberi efek pada sel adiposit dengan menggunakan studi *invitro*. Tujuan penelitian adalah mengetahui efek dari paparan infra merah dekat pada sel adiposit dengan menggunakan studi *invitro*.

Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah paparan infra merah dekat (*Near Infrared*) memberi efek pada sel adiposit dengan menggunakan studi *invitro*?

Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui efek dari paparan infra merah dekat pada sel adiposit dengan menggunakan studi *invitro*.

KAJIAN PUSTAKA

Jaringan Adiposa

Jaringan ikat khusus yang terdiri dari sel-sel adiposit yang letaknya tersebar sendiri-sendiri ataupun berkelompok kecil berada di jaringan ikat dapat disebut dengan jaringan adiposa. Jaringan adiposa didefinisikan sebagai suatu model terintegrasi antara sistem endokrin dan signaling dalam regulasi metabolisme energi. Jaringan adiposa mengandung pembuluh darah dan persyarafan yang berperan dalam memelihara kebutuhan keseimbangan energi dan penyimpanan energi. (Ross and Wojciech, 2011).

Spesies mamalia dan sejumlah nonmamalia terdapat atau memiliki jaringan adiposa, serta merupakan satu-satunya jaringan dalam tubuh yang dapat bertambah massanya setelah mencapai usia dewasa (Hosogai, 2007). Wangko (2010) menjelaskan bahwa jaringan adiposa juga tersebar diberbagai bagian tubuh, terutama pada tiga area anatomi: subkutan (inguinal, dorsosubkutan yaitu aksila dan interskapula), dermal (lapisan lemak yang berkesinambungan), dan intraperitoneal (depot mesenterik, omental, perirenal, retroperitoneal, serta epididimal dan parametrial), dan keseluruhan depot jaringan adiposa ini disebut sebagai organ adiposa. Tempat cadangan energi, organ adiposa dikenal sebagai organ endokrin dan berperan mempertahankan homeostasis metabolisme dan energi. Jaringan adiposa merupakan jaringan ikat khusus yang didominasi oleh adiposit (Nie, 2009)

Adiposa merupakan istilah anatomi jaringan ikat yang terdiri dari sel adiposa. Jaringan adiposa ini berbeda dengan jaringan lainnya dan yang mempunyai karakteristik dalam pembentukan energi dan penyimpanan lemak. Sel adiposa dalam tubuh sangat penting, terutama didalam memelihara kebutuhan keseimbangan energi, penyimpanan energi dalam bentuk lipit (lemak), mobilisasi cadangan energi dalam merespon rangsangan hormonal serta perubahan signal sekresi. Cadangan energi utama tersebut disimpan dalam bentuk trigliserida. Jaringan adiposa berperan dalam cadangan energi serta sebagai bantalan tubuh atau sebagai penyekat jaringan (Wangko, 2010).

Gambar 1. Jaringan Adiposa



Gambar 1. adalah potongan jaringan adiposa yang sedang berkembang, memperlihatkan kapiler (Cap) dengan kilomikron (Chy) di dalam lumen, sel stem berbentuk kumparan dengan banyak retikulum endoplasma dan mitokondria yang berbentuk sferis, serta sebagian sel signet-ring dengan inklusi lemak yang banyak dan bingkai sitoplasma yang mengandung mitokondria. Mitokondria berbentuk sferis dan filamen tampak pada sel dewasa. Perhatikan kedekatan hubungan kapiler dan sel adiposa. X 17.000 (Wangko, 2010).

Jaringan adiposa merupakan suatu model terintegrasi antara sistem endokrin dengan signaling dalam regulasi metabolisme energi. Penelitian yang dilakukan Hara et al (2006) menyimpulkan bahwa jaringan adiposa mempunyai peranan multifungsi pada tubuh manusia, serta dari gen mencit dihasilkan hormon antara lain leptin, resistin, adiponektin, tumor necrosing factor- α (TNF- α), ataupun interleukin-6 (IL-6).

Sel-sel adiposit menjadi suatu kumpulan disebut dengan jaringan adiposa yang berfungsi sebagai penyimpanan lemak, pengatur keseimbangan energi dan homeostasis tubuh. Sel-sel adiposit berasal dari tipe sel preadiposit lalu berdiferensiasi melalui dua jalur adipogenik yaitu lemak putih (*white fat*) dan lemak coklat (*brown fat*) (Bautista et al., 2007).

Adiposit adalah jenis sel utama dalam jaringan lemak. Sel-sel ini mengumpulkan kelebihan trigliserida dan menempatkannya ke dalam tetesan lipid sebagai depot energi. Total massa jaringan adiposa tergantung pada jumlah dan ukuran adiposit. Selama masa kanak-kanak dan remaja, adiposit muncul melalui adipogenesis dari sel-sel progenitor seperti fibroblast, dan proses pembentukan adiposit awal menjadi statis pasca remaja (Spalding,2008).

Tabel 1. Mediator yang Dilepaskan oleh Jaringan Adiposa

Mediator	Lemak visceral	Lemak subkutan
Leptin	+	++
TNFα	+	+
IL-6	++	+
PAI-1	++	+
Insulin-like Growth Factor 1	+	+

Sumber: Obesity, allergy and immunology (Bergeron, 2005)

Infra Merah

Infra merah merupakan radiasi elektromagnetik dimana panjang gelombang lebih panjang dari cahaya tampak, tetapi juga lebih pendek dari radiasi gelombang radio. Panjang gelombang infra red yaitu di antara 700 nm dan 1 mm. Sinar infra merah merupakan cahaya yang tidak tampak. Infra merah memiliki

karakteristik tidak bisa dilihat oleh mata telanjang, tidak dapat menembus materi yang tidak tembus pandang, infra merah bias ditimbulkan oleh komponen yang menghasilkan panas dan terakhir panjang gelombang pada infra merah memiliki hubungan yang berlawanan alias berbanding terbalik dengan suhu, pada saat suhu mengalami kenaikan maka panjang gelombang akan menurun (Schwanninger *et al.*, 2011).

Tabel 2. Panjang Gelombang untuk Setiap Jenis Warna

Jenis Sinar	Panjang Gelombang (nm)
Ultraviolet	< 400
Violet	400-450
Biru	450-500
Hijau	500-570
Kuning	570-590
Oranye	590-620
Merah	620-760
Infra merah	>760

Sumber : Schwanninger *et al* (2011).

Infra merah penggunaannya sudah banyak dimanfaatkan, terutama dalam bidang kedokteran. Penelitian sistem pencitraan infra merah untuk mengetahui perbedaan temperatur dan mengukur temperatur dari obyek dan dikeluarkan dalam bentuk gambar. Penelitian dengan mengubah intensitas pengukuran dari radiasi infra merah ke temperatur, penelitian ini merupakan salah satu aplikasi radiasi infra merah pada bidang kedokteran. Penelitian ini menjelaskan bahwa, kulit manusia dapat menyerap hampir seluruh sinar infra merah dan dirasakan kehangatan (Nurhayati, 2010). Sebagian besar radiasi infra merah yang datang pada kulit akan diserap lapisan kulit bagian luar (Keyserling, 2002). Infra merah menimbulkan radiasi panas yang dapat dirasa, dan memiliki panjang gelombang yang lebih panjang dari lampu berwarna merah, tetapi memiliki frekuensi yang lebih rendah. Radiasi infra merah umumnya akan memancarkan sinar infra merah berdasarkan dengan panjang gelombang.

Cahaya matahari memiliki 80% sinar infrared, dan panjang gelombang yang dimiliki sinar infrared adalah 4-1000 mikrometer. Sinar infrared menghasilkan panas, dan panas tersebut dapat diserap dan dimanfaatkan kembali (Agustina, 2012).

Infra merah saat ini banyak digunakan untuk terapi, dengan penggunaan pemanasan yang keluar dari infra merah dapat memberikan perasaan nyaman dan rileks sehingga dapat mengurangi nyeri karena ketegangan otot-otot terutama otot-otot yang terletak superfisial, meningkatkan daya regang atau ekstensibilitas jaringan lunak sekitar sendi seperti ligamen dan kapsul sendi sehingga dapat meningkatkan luas pergerakan sendi terutama sendi-sendi yang terletak superfisial seperti sendi tangan dan kaki. (Nurcipto dan Gandha, 2017). Manfaat yang dihasilkan dari infra merah pada bidang kesehatan menurut (Schwanninger *et al* (2011) adalah mengaktifkan molekul air dalam tubuh, meningkatkan sirkulasi mikro, meningkatkan metabolisme tubuh, mengembangkan Ph dalam tubuh Schwanninger *et al* (2011).

Sinar Infra merah (infrared) ialah sinar elektromagnet yang panjang gelombangnya lebih daripada cahaya tampak yaitu diantara 700 nm dan 1 mm. Panjang gelombang cahaya infra merah akan tidak tampak oleh mata, namun radiasi panas yang ditimbulkannya dapat dirasakan atau dideteksi. Infra merah dapat dibedakan menjadi 3 macam yakni ; *Near infrared* (NIR) 0.75 – 1.5 μm , *Mid infrared* (MIR) 1.50 – 10 μm , *Far infrared* (FIR) 10 – 100 μm . Aplikasi sederhana untuk FIR adalah terdapat pada alat-alat kesehatan, untuk MIR ada pada alat ini untuk sensor biasa, sedangkan NIR digunakan untuk pencitraan dan terapi kesehatan (Nurcipto,2017).

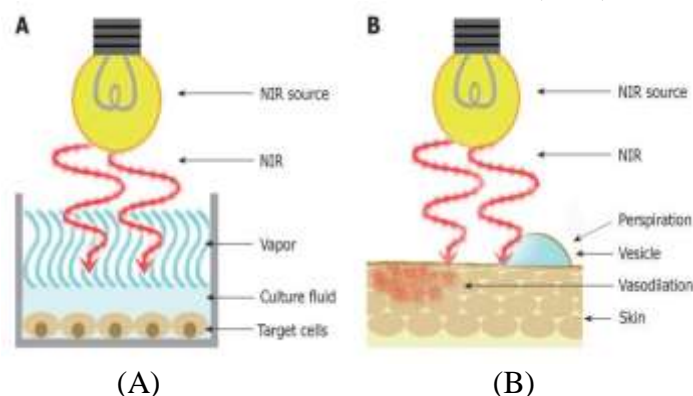
Infra merah Dekat

Infra merah dekat (*Near Infrared/NIR*) menurut penelitian Tsai (2001) yaitu penggunaan NIR untuk merawat pasien yang menderita *restless legs syndrome*. Infrared merupakan pengobatan alternatif, karena penggunaannya untuk pasien dengan neuropati untuk meningkatkan sensasi dan mengurangi rasa sakit. Pemakaian *near infrared* (NIR) yang dipergunakan memiliki panjang gelombang 880 nm sampai 890 nm. Christopher (2007) menjelaskan bahwa standar dari panjang gelombang yang dimiliki spektrum NIR adalah 780 nm – 2500 nm.

Penelitian sinar *near infrared* dipergunakan untuk terapi pada manusia (Tsai, 2001). Sudut pandang pengobatan, sinar NIR sebagai alternatif sebagai panas dan sebagai terapi. Penelitian dalam penggunaan lampu sinar NIR dengan panjang gelombang 0,78 μm dan 2.5 μm . Pada sinar NIR, dijelaskan memiliki potensi kuat di penetrasi untuk kulit manusia dan hypodermis, atau membuat suhu meningkat.

Infra merah dekat berdasarkan penelitian Calderhead (2007) bahwa NIR dalam bentuk LED (*light-emitting diode*) yang sebagian besar diserap oleh membran melalui reaksi fotofisik berfungsi memperbaiki kerusakan jaringan kulit. Waktu yang digunakan dalam penelitian adalah 2 menit, 5 menit dan 10 menit dengan jarak 20 cm. Menurut Hamblin (2006), tubuh mengandung sel reseptor disebut dengan kromofora yang hanya dapat menyerap cahaya NIR (600-950 nm), serta lama penggunaan NIR adalah 20 menit (Laukkanen *et al.*,2014).

Penelitian yang dilakukan Tanaka (2012) menjelaskan bahwa sinar NIR energinya dapat diserap oleh lapisan permukaan kulit dan sebagian dari energi diserap oleh jaringan. Sinar NIR dijelaskan pula dapat menembus jauh ke jaringan manusia dan dapat menyebabkan perubahan fotokimia. Penelitian menjelaskan bahwa NIR dapat melindungi sel, akan tetapi untuk mencegah kerusakan dari jaringan belum diketahui hasilnya. Penjelasan dari penelitian ini pada gambar dibawah ini, dimana penelitian dilakukan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Sumber sinar NIR disinari menuju target, dimana pada gambar A (*in vitro*) sumber NIR memancarkan NIR menuju target dari sel. Pada gambar B (*in vivo*) sumber NIR memancarkan NIR menuju kulit.

Gambar 2. Sinar Near Infrared (NIR)

Gambar 2 adalah penelitian yang dilakukan Tanaka (2012), dalam penggunaan lampu sinar infra merah dekat dengan panjang gelombang $0,78 \mu\text{m}$ dan $2.5 \mu\text{m}$. Sinar NIR, memiliki potensi kuat di penetrasi untuk kulit manusia dan hypodermis, atau membuat suhu meningkat. Penyinaran sinar infra merah dekat melewati air dan kemudian menembus target. Gambar (A). *in vitro* dan (B) *in vivo*.

Sinar infra merah dekat lebih rinci dapat dijelaskan bahwa pentingnya cahaya menyebar melalui jaringan. Perlunya menjelaskan mekanisme penyerapan NIR pada jaringan. Diketahui bahwa, ketika cahaya radiasi berada pada spektrum elektromagnetik ($\sim 300 \text{ THz} - 300 \text{ GHz}$) memiliki nilai sebanding dengan frekuensi, dimana atom atau molekul akan mengalami getaran. Atom atau molekul akan mengalami kehilangan energi dengan menabrak satu sama lain dalam waktu 10 – 12 detik. Sehingga akan meningkatkan energi kinetik dari yang dimiliki partikel lain. Energi yang dihasilkan dalam penyebarannya menuju medium akan membentuk energi panas, proses yang terjadi dikenal sebagai penyerapan (Tsai, 2001). Efek keseluruhan penyerapan adalah pengurangan intensitas sinar melalui media. Standar untuk hewan coba dapat menerima sinar infrared thermogenesis yang mengenai jaringan adipose dengan pemberian suhu 23°C , tetapi dalam penelitian menggunakan tikus sebagai hewan coba, diketahui tikus tersebut dapat menerima sinar infrared pada suhu 30°C .

Studi invitro

In Vitro adalah sebuah istilah dalam biologi sel yang merupakan teknik yang terkendali di luar sel atau organisme hidup. *In Vitro* dalam Bahasa Latin yang memiliki arti "di dalam gelas". Oleh karena itu penelitian yang dilakukan di luar organisme hidup, di dalam gelas (tabung reaksi atau cawan Petri) dikenal sebagai studi *in vitro*. Dalam eksperimen *in-vitro*, peneliti mengoptimalkan kondisi yang sangat mirip dengan kondisi seluler untuk mempelajari aktivitas aktual. Namun, percobaan *in vitro* kurang berhasil karena ketidakmampuan untuk menyediakan kondisi seluler yang tepat dari sel atau organisme dalam kondisi laboratorium.

Proses penggunaan metode *in vitro* adalah kondisi buatan yang mana merupakan rekonstruksi lingkungan *in vivo*. Kondisi buatan dibentuk dengan mencampur komponen yang diperlukan dan reagen dalam kondisi terkendali di dalam gelas di laboratorium. Sebagian besar eksperimen biokimia molekuler dilakukan secara *in vitro* di laboratorium untuk diuji. Metode *in vitro* banyak digunakan dalam industri farmasi untuk menghasilkan farmasi skala besar menggunakan mikroorganisme karena kemudahan produksi. Proses *in vitro* meliputi PCR, konstruksi DNA rekombinan, pemurnian protein, fertilisasi *in vitro*, diagnosis *in vitro*. Studi *in vitro* (artinya: *di dalam kaca*) dalam penelitian dalam biologi dan subdisiplinnya secara tradisional dilakukan di peralatan laboratorium seperti tabung reaksi, termos, cawan Petri, dan pelat mikrotiter. Studi yang dilakukan dengan menggunakan komponen organisme yang telah diisolasi dari lingkungan biologis biasanya memungkinkan analisis yang lebih rinci atau lebih mudah daripada yang dapat dilakukan dengan organisme utuh; namun, hasil yang diperoleh dari percobaan *in vitro* mungkin tidak sepenuhnya atau akurat memprediksi efek pada keseluruhan organisme. Studi *in vitro* dapat dilakukan dengan kultur, dalam hal ini penelitian menggunakan kultur jaringan (Iverson *et al.*, 2007)

Sampel berasal dari suatu jaringan, maka sel yang didapat kemungkinan adalah sel yang heterogen atau banyak jenis sel yang bercampur. Agar dapat memperoleh informasi sebanyak mungkin dari jenis sel individu atau tunggal, para ahli mengembangkan suatu metode untuk memisahkan sel dari jaringannya sehingga menjadi kumpulan sel yang homogen. Populasi sel yang homogen kemudian dianalisis dan memungkinkan sel berkembang biak secara kultur. Kultur sel merupakan teknik sel dipindahkan dari organisme asalnya dan ditempatkan dalam media cairan sehingga dalam kondisi yang tepat, maka sel dapat hidup (Atkuri *et al.* 2007).

Pertumbuhan sel dapat ditandai dengan pembelahan sel (mitosis) atau dengan proses lain, seperti diferensiasi dimana sel dapat berubah menjadi tipe tertentu yang mampu berfungsi secara analog dengan jaringan atau organ di seluruh organisme (Lynn, 2009). Kultur sel digunakan untuk pengujian *in vitro* atau menghasilkan senyawa biologis seperti protein rekombinan atau antibody. Mengoptimalkan pertumbuhan sel, media kultur biasanya dilengkapi dengan aliran darah (Dean, 2016).

Kultur sel merupakan teknik yang secara luas digunakan pada studi metabolisme manusia dan fisiologi manusia yang tidak mudah dilakukan secara *in vivo*. Sel dapat diisolasi dari jaringan, lalu membiakkan kultur sel selama berhati-hati sampai berminggu-minggu. Sel dapat diperoleh dari jaringan normal (contohnya, jaringan kulit) jika prosedur klinis dan pertimbangan etis memungkinkan. Sel dapat juga diperoleh dari jaringan yang sakit (contoh, sel tumor hati) yang diambil selama operasi sebagai bagian dari terapi untuk pasien (Mistry, 2012).

Kultur sel biasanya dilakukan dalam bentuk suspensi sel yang diambil dari jaringan asli (baik secara enzimatik, mekanik, atau disosiasi kimia), kultur primer, atau *cell line* dan dilakukan di bawah kondisi laboratorium yang steril dan lingkungan yang terkendali melihat suhu, gas, dan tekanan. Hal ini harus

menyesuaikan lingkungan *in vivo* dari sel tersebut sehingga sel mampu bertahan hidup dan terjadi proliferasi secara terkendali (Mistry, 2012).

METODE PENELITIAN

Penelitian yang digunakan merupakan *true eksperimental* adalah untuk mempermudah kesulitan yang dihadapi *true eksperimental*, dimana sampel yang digunakan untuk eksperimen maupun sebagai kelompok kontrol diambil tidak menggunakan randomisasi. Atau ada kelompok kontrol dan pengambilan sampel secara random dan desain penelitian ini menggunakan *Post Test only control Design*. Desain ini dikelompokkan menjadi dua, yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dan menggunakan randomisasi.

Penelitian menggunakan kultur sel adiposit (Lin, 2005), dimana setelah isolasi sel preadiposit dan stimulasi diferensiasi adiposit maka dilakukan pemaparan sinar infra merah dekat dengan jarak berbeda dalam waktu 20 menit pada kultur adiposit. Hasil kultur sel adiposit yang telah dilakukan pemilahan kelompok kontrol dan perlakuan maka diletakkan dalam well sehingga dilakukan pemaparan sinar infra merah dekat.

Bahan dan alat

Bahan kultur : Medium dasar: *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM)/Ham's F12 (Gibco,USA), *Nabic – phenol red* 5,00 ml/100 ml, *L-glutamin* 0,9001 ml/100ml pada pH 7,4 , *Collagenase*. Media kultur : medium dasar dan 10% fetal bovine serum (FBS), Diferensiasi sel, media adipogenik (DMEM/F12 dengan ditambahkan 10 µg/ml insulin, 1 µM *dexamethasone*, 0,5 (5). mM IBMX dan 10% FBS, H₂O₂ SA-HRP, alkohol 70%, *deionized water/dH₂O*, SDS 1% dan RIPA solution, *Diamino Benzidine Mayer hematoxilen*, 0,25 % *Bovine serum albumin* (BSA), methanol 95%, *IgG anti mouse Biotin conjugated*

Alat yang Digunakan untuk Kultur

Seperangkat alat bedah steril, cawan petri, freezer (-20°C), pH meter, LAF (*Laminar air flow*), *flask culture* (96 well), *mikroskop inverted* (Olympus), mikroskop binokuler, digital camera, *inkubator CO₂*, *ependorf*, *syringe microfilter* 0,2 µm, mikro pipet, tip (*yellow, blue dan white*), falcon 14 ml, spuit, *sentrifuge*, water bath, timbangan analitik, lampu spritus, autoclave, *vortex tissue, object glass dan cover slip*.

Prosedur penggunaan Near Infrared





Prosedur NIR yang digunakan dalam penelitian adalah dalam bentuk LED infra merah yang diberikan pada kultur sel. Kultur sel yang disinari NIR, perlakuan kultur sel terhadap pemberian sinar selama 20 menit, dengan paparan pemberian NIR pada jarak yang berbeda. LED yang menyala bila ada arus listrik mengalir dari anoda menuju katoda, dan memiliki karakteristik berbeda-beda menurut warna yang dihasilkan. Semakin tinggi arus yang mengalir pada LED maka semakin terang pula cahaya yang dihasilkan (Wanitphakdeedecha, 2015).

Isolasi Sel Preadiposit dan Kultur Sel Adiposit menurut Ekayanti (2016)

Fibroblastic preadipocyte diisolasi dari jaringan viseral mencit yang berumur 5-6 minggu. Jaringan fibroblastic preadipocyte dicuci dengan PBS dan dicacah kemudian diinkubasi dalam DMEM yang mengandung collagenase 1 mg/ml pada 37°C selama 60 menit dengan shaking water bath. Setelah 60 menit sel disaring dengan microfilter 100 µm. Suspensi sel selanjutnya diputar pada 1200 rpm selama 10 menit dan lapisan lemak pada supernatan dibuang. Pelet yang mengandung fibroblastic preadipocyte diresuspensi dalam DMEM dengan 10% FBS sebanyak 3 kali. Pelet kemudian ditumbuhkan pada culture plate selama 24 jam. Sel ditumbuhkan hingga mencapai confluent pada DMEM dengan 10% FBS. Sel dicuci setiap 2 hari sekali (Ohoka *et al.*, 2009).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN




Tabel 3. Data Hasil Pengamatan Kultur Sel Adiposit dari Sel Primer Tikus

No	Kelompok perlakuan	Hasil Kultur sel adiposit	Keterangan
1	H (kontrol)		Hasil kultur sel pada kelompok H. dimen sebelum dilakukan perlakuan (pembesaran 40x) sel yang diberi glukosa 5 %
2	Kelompok 1		Hasil kultur sel pada kelompok 1 yang belum dilakukan paparan NIR selama 20 menit (pembesaran 40x), dan adanya pertumbuhan sel adiposit pada kelompok 1
3	Kelompok 2		Hasil kultur sel pada kelompok 2 yang belum dilakukan paparan NIR selama 20 menit (pembesaran 40x), dan terdapat pertumbuhan sel adiposit pada kelompok 2
4	Kelompok 3		Hasil kultur sel pada kelompok 3 yang belum dilakukan paparan NIR selama 20 menit (pembesaran 40x), dan terdapat sel adiposit pada kelompok 3

Hasil Pewarnaan Oil Red O

Penelitian yang dilakukan dalam pewarnaan sel adiposit menggunakan metode pengecatan *Oil Red O* yang merujuk pada Johnson and Greenwood (Lucer, 2002). Sel pada perlakuan difiksasi dengan 10% formalin. Sel dicuci dengan akuades kemudian dikeringkan, kemudian sel difiksasi dengan formalin selama 30 menit. Pencucian dilakukan 2 kali dengan PBS sebanyak 300 μ L per *well*, pengecatan dengan *Oil Red O* perbandingan 3:2 dalam *steril water* selama 30 menit, ditunggu sampai kering, jaringan diberi 85 % *propylene glycol* selama 3 menit. Sel dicuci dengan akuades kemudian ditetesi *hematoksilen* selama 1 menit. Sel dicuci dengan air dan ditunggu sampai kering. Sel diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400 X. Pengamatan dari pemberian *Oil Red O* bertujuan menyajikan hasil morfologi dari sel adiposit yang diperoleh dari proses kultur sel. Hasil morfologi menunjukkan sel adiposit berwarna merah, dengan gambaran sel yang telah diperlakukan.

Tabel 4. Data Hasil Morfologi Sel Adiposit, Metode Pengecatan *Oil Red O*

No	Kelompok Perlakuan	Hasil Kultur Sel Adiposit	Keterangan
1	H (kontrol)		Hasil morfologi sel adiposit pada kelompok kontrol H dengan metode <i>oil red o</i> dimana sel yang diberi glukosa 5 %
2	Kelompok 1		Hasil morfologi sel adiposit pada kelompok 1 dengan metode <i>oil red o</i> dimana sel dipapar NIR selama 20 menit
3	Kelompok 2		Hasil morfologi sel adiposit pada kelompok 2 dengan metode <i>oil red o</i> dimana sel dipapar NIR selama 20 menit

4	Kelompok 3		Hasil morfologi sel adiposit pada kelompok 3 dengan metode <i>oil red o</i> dimana sel dipapar NIR selama 20 menit
---	-------------------	---	--

Pembahasan

Butiran-butiran yang mengalir dan merupakan bagian dari gelombang elektromagnetik, serta memiliki sifat dapat berinterferensi terdifraksi dan dapat diukur disebut dengan cahaya. Cahaya ini disebut dengan foton, dan gelombang elektromagnetiknya berupa radiasi. Syahria *et al* (2012) menjelaskan bahwa radiasi yang dipancarkan dari sumber menuju segala arah, dan semakin dekat dengan sumber radiasi maka paparan radiasinya semakin besar.

Radiasi elektromagnetik berupa paparan inframerah memiliki panjang gelombang yang lebih panjang dari cahaya tampak, berfungsi sebagai medium penghantar, penelitian ini menggunakan LED (*Light Emitting Diode*) yang merupakan semikonduktor yang memancarkan atau melepaskan energi foton. Menurut Dipranoto (2010) bahwa LED (*light-emitting diode*) infrared adalah dioda (berfungsi sebagai penyearah). *Light emitting diode* inframerah yang mengeluarkan intensitas cahaya tergantung arus yang mengalir. Semakin besar arus yang melaluinya maka intensitas cahayanya akan semakin besar, dan semakin kecil arus maka intensitasnya makin kecil. Tingginya arus yang mengalir pada *light emitting diode* maka semakin terang cahaya yang dihasilkan. *Light emitting diode* inframerah dekat yang digunakan dalam penelitian menggunakan spektrum panjang gelombang (λ) 910-1010 nm. Penggunaan panjang gelombang 910-1010 nm dengan LED inframerah dekat dengan 5 mm, dan setiap jarak paparan inframerah dekat terdapat 150 LED inframerah dekat. Jarak paparan inframerah dekat berbeda-beda dengan waktu paparan 20 menit. Menurut penelitian Rogerio (2018) bahwa penggunaan paparan inframerah dekat spektrometer dengan waktu 5 menit, 12 menit dan 20 menit yang diberikan kepada penderita obesitas. Waktu yang digunakan dalam penelitian dengan pemberian paparan inframerah dekat pada kultur sel adiposit yaitu 20 menit dan menghasilkan perubahan morfologi sel adiposit.

Penelitian yang dilakukan dengan menggunakan kultur sel adiposit, yang diperoleh dari jaringan lemak visceral tikus dengan usia 4 minggu. Penggunaan kultur sel dalam penelitian merupakan proses penghilangan atau perpindahan sel dari manusia, hewan, atau tanaman ke dalam medium terkontrol yang sesuai untuk menumbuhkan sel tersebut. Penggunaan studi *in vitro* untuk memperoleh sel adiposit dari jaringan lemak visceral tikus. Perlakuan kultur sel adiposit dilakukan di laboratorium kultur karena laboratorium tersebut adalah ruang yang harus terbebas dari jamur dan bakteri yang berada di udara, maka ruangan harus dilakukan sterilkan dengan menggunakan UV selama 2 jam.

Penelitian dalam melakukan kultur sel adiposit menghasilkan gambaran pada tabel 3 yang hasilnya belum diberi pewarnaan *oil red o*. Hasil kultur adiposit tanpa *oil red o* dengan pembesaran 400x tampak hanya seperti *droplet-droplet* bening tak jelas. Gambar dari *droplet-droplet* sel adiposit yang tampak jelas pada kelompok kontrol yang tidak diberi paparan sinar infra merah dekat. Gambar pada perlakuan 1,2, dan 3 *droplet-droplet* tidak tampak jelas sehingga dilakukan pewarnaan dengan *oil red o*.

Hasil pada tabel 4 tampak jelas *droplet* dari sel adiposit, perlakuan paparan sinar infra merah dekat dengan pemberian selama 20 menit jarak yang berbeda-beda tampak jelas pada gambar tersebut. Karena pemberian paparan sinar infra merah dekat dengan jarak yang berbeda-beda mempengaruhi hasil *droplet-droplet* sel adiposit. Karena sinar infra merah dekat menghasilkan gelombang elektromagnetik yang merupakan radiasi panas dan dapat digunakan terapi. Menurut penelitian Kelly *et al* (2015) bahwa sinar infra merah dapat digunakan untuk terapi dan memiliki efek dari cahaya yang mengirimkan fotonnya melalui kulit untuk menembus lebih dalam ke jaringan, dari penelitian tersebut jelas bahwa sinar infra merah dekat dapat menembus ke jaringan dan dengan menggunakan metode *in vitro* sinar infra merah dekat dapat mempengaruhi sel adiposit pada kultur jaringan.

Pewarnaan *oil red o* jelas sekali menunjukkan bahwa adanya pengaruh pemberian sinar infra merah pada sel adiposit. Paparan infra merah dekat memberi efek pengurangan jumlah sel adiposit, pada kelompok kontrol jelas bahwa sel adiposit memiliki jumlah banyak dan bentuk *droplet* berkelompok. Berdasarkan Wangko (2010) bahwa diferensiasi sel pada adipogenesis yang meliputi peralihan atau perubahan dari preadiposit mirip fibroblas yang belum berdiferensiasi menjadi adiposit dewasa dicirikan oleh adanya perubahan morfologi menjadi sel bulat dengan *droplet* lemak unilokular. Penelitian Rodeheffer (2008) menjelaskan bahwa kelebihan energi dapat disimpan sebagai *droplet* lemak dalam adiposit akan terjadinya hipertrofi adiposit, diharapkan dengan kelebihan energi tidak terjadi pembesaran ukuran sel lagi melainkan peningkatan jumlah sel (hiperplasia) baik selama pertumbuhan normal, perkembangan ke arah obesitas, maupun pada gangguan metabolik.

Apakah paparan infra merah dekat (Near Infrared) memberi efek pada sel adiposit dengan menggunakan studi *invitro*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat, maka dapat disimpulkan bahwa paparan infra merah dekat (near infrared) dapat memberi efek pada sel adiposit dengan menggunakan studi *in vitro*. Serta paparan efek infra merah dekat dengan pemberian waktu 20 menit lebih efektif pada studi *in vitro*.

Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat mengetahui efek infra merah dekat pada penderita obesitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, T. E., Hardini, Kusworini H., Edi, W., Sofy, P. 2018. *Dendrophthoe pentandra Leaves Extract Promotes Apoptotic Effects of Doxorubicin in Human Breast Cancer Cell via Modulation of Intracellular Calcium and Survivin*. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 8(08):039-043
- Atkuri, K.R., Weerkamp, F., Baert, M.R., Naber, B.A., Koster, E.E., de Haas, E.F., van Dongen, J.J., Herzenberg, L.A and Staal, F.J. 2006. *Wnt signaling in the thymus is regulated by differential expression of intracellular signaling molecules*. Proc Natl Acad Sci USA. 103:3322–3326.
- Bautista, P., Sanchez Lozada, L.G., Tapia, E., Jimenez, A., Bautista, P., Ctistobal, M., Nipomuceno, P. 2007. *Fructose induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rat*. Am J Physiol. 292:F423-F29
- Bergeron, C., Boulet, L-P., Hamid, Q. 2005. *Obesity, Allergy And Immunology*. J Allergy Clin Immunol :1102-4.
- Calderhead, G., David, B. 2007. *VasilyLow Level Light Therapy with Light-Emitting Diodes for the Aging Face Elsevier*.43(3):541-550
- Cahyaningrum, A. 2015. *Leptin Sebagai Indikator Obesitas*. Jurnal Kesehatan Prima. 9 (1): 1364-1371. ISSN Print : 1978 – 1334, ISSN Online : 2460 – 8661.
- Christopher, B., John, H. 2007. *Wavelength Standards for the Near-infrared Spectral Region*. Spectroscopy. 22(4):40-48.
- Dean, N.M., Perera, R.J., Marcusson, E.G., Koo, S., Kang, X., Kim, Y., White, N. 2006. *Identification of novel PPAR γ target genes in primary human adipocytes*. Gene. 369: 90–99.
- Dipranoto, A.R., Nimara, I. 2010. *Sensor At89c51 Microcontroller Based*. Jurusan Teknik Elektro, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Gunadarma, Margonda Raya. Depok:1-10.
- Ekayanti, M.K., Ita, D. 2016. *Potensi Transdiferensiasi Sel Fibroblas Menjadi Sel Saraf Secara In Vitro*. Jurnal Kedokteran Hewan. 10 (1):83-85.
- Hara, K., Ebinuma, H., Horikoshi, M., Imai, Y., Yamauchi, T., Nagai, R., et al. 2006. *Measurement of the high-molecular weight form of adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome*. Diabetes care . 29: 1357-62.
- Hamblin, M., François, J. C. 2016. *Infrared and Skin: Friend or Foe*. Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2015.12.014
- Hosogai, N., Fukuhara, A., Oshima, K., Miyata, Y., Tanaka, S., Katsumori, S., et al. 2007. *Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation*. Diabetes. 56 : 901-2.
- Iverson, Cheryl, et al. 2007. *Penggunaan Huruf Miring*. AMA Manual of Style (edisi ke-10). Oxford, Oxfordshire: Oxford University Press . ISBN 978-0-19-517633-9 .
- Keyserling, J.R., P.D.Ahlgren., E.Yu., N.B. Belliveau. 2002. *Overview of functional infrared imaging as part of a multiimaging strategy for breast*

- cancer detection and therapeutic monitoring*", Proc. 2nd Joint IEEE EMBS/BMES Conf. Houston TX. p. 1126-8
- Kelly A., Larkin, K., Evangelos, C., Paul, A.B. 2015. *Near-Infrared Light Therapy to Attenuate Strength Loss After Strenuous Resistance Exercise*. Journal of Athletic Training. 50(1):45–50 doi: 10.4085/1062-6050-49.3.82.
- Laukkanen, T., Hassan Khan, H., Zaccardi, F., Laukkanen, J., 2014. *Association Between Sauna Bathing and Fatal Cardiovascular and All-Cause Mortality Events*. JAMA Intern Med.p. 81. Doi:10.1001/jamainternmed.2014.8187.
- Lin, J., Mary, A.D.F and Clifton, A.B. 2005. *Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Inhibits Adipogenesis and Induces Apoptosis in 3T3-L1 Adipocytes*. *Obesity Research*.13: 982-990.
- Lynn, F.C. 2009. *Meta-regulation: microRNA regulation of glucose and lipid metabolism*. Trends Endocrinol. Metab. 20(9): 452-459 Crossref, Medline, Google Scholar
- Majidi, T .2012. *The Effect of Stress Management Technique Training on the Ports and Shipping Organization Employees' Happiness*. Procedia - Social and Behavioral Sciences . 47 :2162 -2168.
- Mistry, J., Asterholm, I.W., McDonald, J., Blanchard, P.G., Sinha, M., Xiao, Q., Rutkowski, J.M., Deshaies, Y., Brekken, R.A., and Scherer, P.E. 2012. *Lack of "immunological fitness" during fasting in metabolically challenged animals*. *J. Lipid Res*. 53, 1254–1267.
- Nurcipto D., Gutama, I. G. 2017. *Pengendalian Dosis Inframerah pada Alat Terapi Menggunakan Pulse Width Modulation (PWM)*. Setrum. 6(1): 194-204.
- Nie J, Sage H. 2009. *SPARC functions as an inhibitor of adipogenesis*. *J Cell Commun Signal* .3:247-54.
- Nurhayari . O.D., Widodo.T.S., Susanto. A., Tjokronegoro. M. 2010. *First Order Statistical for Breast Cancer Detection Using Thermal Images*. World Acad. Sci.Eng.Techno.46:382-384.
- Ohoka A, Mihoko Kajita, Junichi Ikenouchi, Yuta Yako, Sho Kitamoto, Shunsuke Kon, Masaya Ikegawa, Takashi Shimada, Susumu Ishikawa, Yasuyuki Fujita. 2009. *EPLIN is a crucial regulator for extrusion of RasV12-transformed cells*. Journal of Cell Science.128:781-789. doi: 10.1242 / jcs.163113
- Rahmawati A. 2014. *Mekanisme Terjadinya Inflamasi dan Stres Oksidatif pada Obesitas*. *El-Hayah*.5(1):1-8.
- Rogério,N.S., Juan,M.M. 2018. *Near-infrared spectroscopy assessment of microvasculature detects difference in lower limb vascular responsiveness in obese compared to lean individuals*. *Microvascular Research*.118:31-35
- Rodeheffer MS,Birsoy K, Friedman JM. 2008. *Identification of White Adipocyte Progenitor Cell in Vivo*.*Cell*.135:240-249.
- Ross MH and Wojciech P. 2011. *Adipose Tissue Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology (Sixth Edition)*. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins Wolters Kluwer.
- Saraswati. 2010, *Hipnotis untuk Kecerdasan dan Kesembuhan*. Yogyakarta : Med Press. p.21

- Sanchez AF, Santillan EM, Bautista M *et al.* 2011. *Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. Int j Mol.Sci.* 2:117-3132.
- Spalding KL, Arner E, Westermark PO, Bernard S, Buchholz BA, Bergmann O, *et al.* 2008. *Dynamics of fat cell turnover in humans. Nature.* 453:783–7. <https://doi.org/10.1038/nature06902> PMID: 18454136
- Schwanninger M, *et al.* 2011. *A review of Band Assignments in Near Infrared Spectra of Wood and Wood Components. J near Infrared Spectroscopy.* Vol 19 : page 287 – 308.
- Syahria, Setiawati E & Firdausi KS. 2012. *Pembuatan Kurva Isodosis Paparan Radiasi di Ruang Pemeriksaan Instalasi Radiologi RSUD Kabupaten Kolaka Sulawesi Tenggara. Berkala Fisika.*15(4):123-132.
- Tanaka Y., Matsuo K., Yuzuriha S., Yan H., Nakayama J. 2010. *Non-Thermal Cytocidal Effect Of Infrared Irradiation On Cultured Cancer Cells Using Specialized Device. Cancer Sci .*101: 1396-1402
- Tanaka Y., Matsuo K., Yuzuriha S. 2011. *Near-Infrared Irradiation Nonthermally Induces Long-Lasting Vasodilation By Causing Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells. Eplasty .* 11: e22.
- Tanaka Y, N. Tatewaki,H. Nishida, T.Eitsuka N. Ikekawa and J. Nakayama. 2012. *Non- Thermal DNA Damage of Cancer Cells Using Near-Infarred Irradiation. Cancer Science.*103 (8):1467-1473
- Triwono. 2011. Prevalensi Obesitas. http://triwitono.staff.ugm.ac.id/index.php?option=com_content&view=article&id=78:prevalensi-obesitas&catid=35:degeneratif &Itemid=71. 2 Februari 2014.
- Tsai, C.H., Chen , J.C, and Wang, W.J. 2001. *Near – Infrared Absorption Property of Biological Soft Tissue Constituents. Journal Of Medical and Biologicals Engineering.* 21:7-14.
- Wardhana I M dan Sunny W. 2011. *Interaksi Antara Makrofag dan Jaringan Adiposa pada Obesitas. Jurnal Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. Manado. Vol 3, No. 2, hlm. 111-118.*
- Wangko W.S., 2010. *Adipogenesis Tumbuh Kembang Adiposit. Jurnal Biomedik, .2 (3):153-16.*
- Wanitphakdeedecha, R. Sathaworawon A and Munuskiatti. W. 2015. *The efficacy of cry Olipolysis Treatment on Arms and Innerthighs Laser in medical Science. Journal of dermatological Treadmen.* 30:2165-2169.