

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN DIET TINGGI PROTEIN
RENDAH KARBOHIDRAT RENDAH LEMAK JANGKA PANJANG
TERHADAP HORMON *GLUCAGON LIKE PEPTIDE-1* (GLP-1)
DAN HORMON GHRELIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN
(*Rattus norvegicus*)**

**Diajukan oleh
AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH
P062182001**



**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

PENGARUH PEMBERIAN DIET TINGGI PROTEIN RENDAH KARBOHIDRAT RENDAH LEMAK JANGKA PANJANG TERHADAP KADAR HORMON *GLUCAGON LIKE PEPTIDE-1 (GLP-1)* DAN HORMON GHRELIN PADA TIKUS WISTAR JANTAN (*Rattus norvegicus*)

Disusun dan diajukan oleh


**AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH
P062182001**

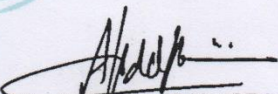
Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin pada tanggal 04 Januari 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,


Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping


dr. M. Aryadi Arsyad, M.BiomedSc, Ph.D
Nip. 19760820 200212 1 003

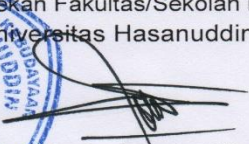

Dr. Amrullah, M.Nut&Diet, Ph.D
Nip. 19760704 200212 1 003

Ketua Program Studi,
Magister Ilmu Biomedik


Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc
Nip. 19770121 200312 2 003



Dekan Fakultas/Sekolah Pascasarjana,
Universitas Hasanuddin


Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc
Nip. 1967030 8199003 1 001

ABSTRAK



AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH. *Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Protein Rendah Karbohidrat Rendah Lemak Jangka Panjang terhadap Hormon Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) dan Hormon Ghrelin pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) (dibimbing oleh Aryadi Arsyad dan Aminuddin)*

Diet tinggi protein dipercaya sebagai salah satu strategi yang menjanjikan untuk mencapai penurunan berat badan melalui efek ganda yaitu meningkatkan rasa kenyang serta mengurangi massa lemak. Dalam pelaksanaannya, komposisi protein yang tinggi akan menstimulasi sekresi hormon-hormon pencernaan di saluran cerna. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak (TPRKRL) selama 8 minggu terhadap konsentrasi hormon Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) dan Ghrelin pada tikus Wistar jantan.

Dua puluh ekor tikus Wistar jantan sehat dibagi ke dalam 2 kelompok. Kelompok perlakuan diberikan diet TPRKRL (78.25% protein, 10.5% karbohidrat, 7.08% lemak) dan kelompok kontrol diberikan pakan standar (15.25% protein, 52.2% karbohidrat, 7% lemak), masing-masing sebanyak 30 gram per hari selama 8 minggu. Sampel darah diperoleh di akhir periode penelitian untuk menentukan kadar GLP-1 dan ghrelin menggunakan metode ELISA. Data kemudian dianalisis menggunakan uji t tidak berpasangan, Wilcoxon dan Mann-Whitney U.

Pada kelompok tikus perlakuan (diet TPRKRL), terjadi penurunan berat badan yang signifikan (154 ± 13.1 vs. 268.2 ± 8.5 gram, $p < 0.001$) dari minggu ke-2 hingga minggu ke-8 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, asupan diet tinggi protein juga mampu menurunkan konsentrasi GLP-1 secara signifikan pada tikus kelompok perlakuan (344.1 ± 29.3 vs. 705.1 ± 45.3 ng/ml, $p < 0.001$) dibanding kelompok kontrol, namun tidak memberikan perbedaan yang bermakna terhadap konsentrasi ghrelin pada kedua kelompok. Kesimpulan Pemberian diet tinggi protein jangka panjang selama 8 minggu mampu menurunkan berat badan dan konsentrasi GLP-1 pada kelompok hewan coba yang diberikan diet TPRKRL.

Kata kunci: *diet tinggi protein, GLP-1, ghrelin*

	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris,
Tanggal: <u>22.12.2020</u>	

ABSTRACT



AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH. *The Effects of Long Term Intake of High Protein Low Carbohydrate Low Fat Diet on Glucagon Like Peptide-1 (GLP-1) and Ghrelin Hormone Levels in Male Wistar Rats (Rattus norvegicus)* (supervised by **Aryadi Arsyad** and **Aminuddin**)

High Protein Diets (HPD) have been widely used as a promising strategy to achieve weight loss due to its double effects by increasing satiety and reducing fat mass. The high composition of dietary proteins found in HPDs are believed to stimulate the secretion of the gut hormones. The aim of this study is to determine the effects of an 8-week intake of high protein diet on Glucagon like peptide-1 (GLP-1) and ghrelin levels in male Wistar rats.

A total of 20 male Wistar rats were divided into two groups receiving either HPD (78.25% protein, 10.5% carbohydrate, 7.08% fat) or standard diet (15.25% protein, 52.2% carbohydrate, 7% fat). All rats received daily 30 g of their consecutive diet for 8 weeks. Blood samples were obtained at the end of the study to measure the GLP-1 and ghrelin levels using the ELISA technique. Wilcoxon, Mann-Whitney U, and unpaired t-test were used to analyze the data.

HPD-fed rats lost a significant amount of body weight (154 ± 13.1 vs. 268.2 ± 8.5 gram, $p < 0.001$) from week-2 through week-8 compared to the control group. In addition, HPD intake also significantly reduced the concentration of GLP-1 in the HPD-group rats (344.1 ± 29.3 vs. 705.1 ± 45.3 ng/ml, $p < 0.001$) compared to the control group, but did not result in any difference of ghrelin levels between the two groups. Conclusion 8-week intake of HPD significantly reduced body weight and GLP-1 levels in the HPD-group mice.

Keywords: *high protein diet, GLP-1, ghrelin*

 GUGUS PENJAMINAN MUTU (GPM) SEKOLAH PASCASARJANA UNHAS	
Abstrak ini telah diperiksa.	Paraf Ketua / Sekretaris,
Tanggal: <u>22.12.2020</u>	

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH

NIM : P062182001

Program Studi : Ilmu Biomedik

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya, agar dimanfaatkan sebagaimana mestinya.

Makassar, 2020

Yang menyatakan,



AZHAR DZULHADJ B. ARAFAH

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan dan menyusun tesis yang berjudul “Pengaruh Pemberian Diet Tinggi Protein Rendah Karbohidrat Rendah Lemak Jangka Panjang Terhadap Kadar Hormon GLP-1 dan Ghrelin pada Tikus Wistar Jantan” sebagai persyaratan meraih gelar Magister Biomedik pada program studi Ilmu Biomedik, Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin. Penulis tidak akan mampu berada di posisi dan situasi saat ini tanpa bimbingan Ayahanda Prof. Drs. H. Burhanuddin Arafah, M.Hum, PhD serta ibunda tercinta Hj. Nurfaridah Burhanuddin, SH yang senantiasa memberikan dukungan moril maupun materil yang tak terbatas kepada penulis mulai dari awal hingga detik tesis ini diselesaikan. Penulis juga sadar sepenuhnya bahwa dalam penyusunan tesis ini, tentu saja tidak lepas dari bantuan berbagai pihak dari awal hingga akhir penelitian. Oleh karena itu, penulis ingin memberikan apresiasi dan penghargaan serta menghaturkan ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, MSc selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin dan Dr. dr. Ika Yustisia, MSc selaku Ketua Program Studi Ilmu Biomedik yang telah menerima penulis sebagai mahasiswa untuk menempuh pendidikan magister.

2. dr. M. Aryadi Arsyad, MBiomedSc, PhD selaku ketua konsentrasi fisiologi sekaligus ketua komisi penasihat tesis, serta dr. Aminuddin, M.Nut&Diet, PhD selaku anggota komisi penasihat tesis yang telah meluangkan waktu dan pemikiran dalam membimbing penulis hingga tesis ini dapat terselesaikan.
3. Dr. Yulia Yusrini Djabir, S.Si, MBiomedSc, Apt; dr. Muhammad Husni Cangara, PhD, Sp.PA, DFM; dan Dr. dr. Ika Yustisia, MSc selaku tim penguji yang telah memberikan saran dan bimbingan demi kelancaran penelitian.
4. Staf Laboratorium HUMRC Ibu Handayani, serta Staf Laboratorium Biologi FMIPA UNM Ibu Hikmanul Irfiany dan Bapak Hamid, atas bantuan yang tak terhingga dalam membimbing dan mengarahkan penulis selama kegiatan penelitian di laboratorium.
5. Seluruh dosen pengampuh yang telah mendidik, membimbing, serta membagikan ilmu dan pengalaman mereka selama penulis menempuh pendidikan magister Ilmu Biomedik konsentrasi fisiologi di Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin.
6. Seluruh staf dan jajaran tenaga kependidikan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis dalam memenuhi kebutuhan administrasi selama menempuh proses pendidikan.

7. Saudari-saudariku yang tercinta, Azhariah Nur B. Arafah, S.Psi, MA dan Fajriah Rahmah B. Arafah yang selalu memberikan dukungan dan semangat kepada penulis hingga penyelesaian tesis ini.

8. Rekan-rekan Dosen Program Studi S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin “Tim Andalan” yang telah menjadi sumber inspirasi bagi penulis untuk senantiasa melanjutkan pendidikan ke jenjang yang lebih tinggi.
9. Rekan-rekan penelitian penulis, saudari Asma Amaliyah Idrus, S.Pd; Yammar, S.Kep; dan Annisa Suwahru, S.Pd atas bantuan dan jasa yang tak terhingga dalam membantu dan mengawal proses penelitian dari awal hingga akhir.
10. Rekan-rekan awardee Australia Awards Scholarship – The University of Western Australia yang selalu hadir dan memberikan kenyamanan serta mendukung penuh proses penyelesaian studi penulis di waktu yang bersamaan meskipun ruang dan jarak jauh memisahkan.
11. Semua pihak yang tak sempat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu penulis menyelesaikan tesis ini baik secara langsung maupun tidak langsung.

Tiada lain harapan penulis, semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi penulis sendiri maupun bagi para pembaca demi pengembangan ilmu pengetahuan. Wassalam.

Makassar, November 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Lembar Pengesahan Tesis	ii
Kata Pengantar.....	ii
Daftar Isi	1
Daftar Tabel	4
Daftar Gambar	5
Abstrak.....	6
<i>Abstract</i>	7
BAB I.....	8
A. Latar Belakang Masalah	8
B. Rumusan Masalah	12
C. Tujuan Penelitian	12
1. Tujuan Penelitian.....	12
2. Tujuan Khusus	13
D. Manfaat Penelitian	13
1. Bidang Ilmu Pengetahuan	13
2. Bidang Penelitian	14
BAB II.....	15
A. Diet Tinggi Protein, Rendah Karbohidrat, Rendah Lemak.....	15
1. Metabolisme Protein.....	18
2. Metabolisme Karbohidrat	21
3. Metabolisme Lemak	23

B. Hormon Plasma.....	27
1.Glucagon Like Peptide – 1 (GLP-1).....	27
2.Ghrelin.....	32
C. Tikus Wistar (Rattus norvegicus).....	35
D. Kerangka Teori.....	39
E. Kerangka Konsep.....	41
F. Hipotesis.....	41
1.Hipotesis Nol (H0)	41
2.Hipotesis Alternatif (Ha)	41
BAB III.....	42
A. Desain Penelitian	42
B. Variabel Penelitian	43
1.Variabel Independen	43
2.Variabel Dependen.....	43
3.Variabel Kontrol.....	43
C. Waktu dan Lokasi Penelitian	43
D. Alat dan Bahan.....	44
1.Alat	44
2.Bahan.....	44
E. Populasi dan Sampel Penelitian.....	44
1.Populasi Penelitian.....	44
2.Sampel Penelitian	44
F. Prosedur Penelitian	46
G. Definisi Operasional	49
H. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik	49

I. Teknik Analisis	50
J. Alur Penelitian	51
BAB IV	52
A. Hasil Penelitian.....	52
B. Pembahasan	56
BAB V	63
A. Kesimpulan.....	63
B. Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA.....	64

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jenis-jenis diet tinggi protein.....	17
Tabel 2. Jalur, produk awal dan akhir metabolisme karbohidrat.....	29
Tabel 3. Perbandingan usia tikus dengan manusia	44
Tabel 4. Persentase makronutrien diet standar dan TPRKRL	58
Tabel 5. Asupan kalori rerata harian kedua kelompok.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Metabolisme protein.....	25
Gambar 2. Beta-oksidasi asam lemak.....	32
Gambar 3. Diagram kerangka teori – metabolisme makronutrien.....	45
Gambar 4. Diagram kerangka teori – GLP-1 dan ghrelin.....	46
Gambar 5. Diagram kerangka konsep penelitian.....	47
Gambar 6. Diagram alur peneltian.....	57
Gambar 7. Grafik perbandingan berat badan kelompok sampel	60
Gambar 8. Grafik konsentrasi hormon GLP-1 dan Ghrelin	61

ABSTRAK

Diet tinggi protein dipercaya sebagai salah satu strategi yang menjanjikan untuk mencapai penurunan berat badan melalui efek ganda yaitu meningkatkan rasa kenyang serta mengurangi massa lemak. Dalam pelaksanaannya, komposisi protein yang tinggi akan menstimulasi sekresi hormon-hormon pencernaan di saluran cerna. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak (TPRKRL) selama 8 minggu terhadap konsentrasi hormon *Glucagon Like Peptide-1* (GLP-1) dan Ghrelin pada tikus Wistar jantan. 20 ekor tikus Wistar jantan sehat dibagi ke dalam 2 kelompok. Kelompok perlakuan diberikan diet TPRKRL (78.25% protein, 10.5% karbohidrat, 7.08% lemak) dan kelompok kontrol diberikan pakan standar (15.25% protein, 52.2% karbohidrat, 7% lemak), masing-masing sebanyak 30 gram per hari selama 8 minggu. Sampel darah diperoleh di akhir periode penelitian untuk menentukan kadar GLP-1 dan ghrelin menggunakan metode ELISA. Data kemudian dianalisis menggunakan uji t-berpasangan, t-tidak berpasangan dan *Mann-Whitney U*. Pada kelompok tikus perlakuan (diet TPRKRL), terjadi penurunan berat badan yang signifikan (154 ± 13.1 vs. 268.2 ± 8.5 gram, $p < 0.001$) dari minggu ke-2 hingga minggu ke-8 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu, asupan diet tinggi protein juga mampu menurunkan konsentrasi GLP-1 secara signifikan pada tikus kelompok perlakuan (344.1 ± 29.3 vs. 705.1 ± 45.3 ng/ml, $p < 0.001$) dibanding kelompok kontrol, namun tidak memberikan perbedaan yang bermakna terhadap konsentrasi ghrelin pada kedua kelompok. Pemberian diet tinggi protein jangka panjang selama 8 minggu mampu menurunkan berat badan dan konsentrasi GLP-1 pada kelompok hewan coba yang diberikan diet TPRKRL.

Kata kunci: Diet tinggi protein, GLP-1, Ghrelin

ABSTRACT

High Protein Diets (HPD) have been widely used as a promising strategy to achieve weight loss due to its double effects by increasing satiety and reducing fat mass. The high composition of dietary proteins found in HPDs are believed to stimulate the secretion of the gut hormones. The aim of this study is to determine the effects of an 8-week intake of high protein diet on Glucagon like peptide-1 (GLP-1) and ghrelin levels in male Wistar rats. A total of 20 male Wistar rats were divided into two groups receiving either HPD (78.25% protein, 10.5% carbohydrate, 7.08% fat) or standard diet (15.25% protein, 52.2% carbohydrate, 7% fat). All rats received daily 30 g of their consecutive diet for 8 weeks. Blood samples were obtained at the end of the study to measure the GLP-1 and ghrelin levels using the ELISA technique. Paired t-test, unpaired t-test and Mann-Whitney U test were used to analyze the data. HPD-fed rats lost a significant amount of body weight (154 ± 13.1 vs. 268.2 ± 8.5 gram, $p < 0.001$) from week-2 through week-8 compared to the control group. In addition, HPD intake also significantly reduced the concentration of GLP-1 in the HPD-group rats (344.1 ± 29.3 vs. 705.1 ± 45.3 ng/ml, $p < 0.001$) compared to the control group, but did not result in any difference of ghrelin levels between the two groups. An 8-week intake of HPD significantly reduced body weight and GLP-1 levels in the HPD-group mice.

Keywords: High protein diet, GLP-1, Ghrelin

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Protein merupakan salah satu makronutrien yang memiliki peranan penting dalam melaksanakan fungsi seluler dan metabolik dalam menunjang aktifitas dan keberlangsungan hidup individu (French et al., 2017). Diet tinggi protein dipercaya sebagai salah satu strategi yang menjanjikan untuk penurunan berat badan dengan memberikan efek ganda yaitu meningkatkan rasa kenyang serta mengurangi massa lemak (Pesta & Samuel, 2014). Pemberian diet tinggi protein ini juga telah diimplementasikan sebagai salah satu fokus utama dalam menurunkan berat badan pada penderita obesitas (French et al., 2017). Beberapa mekanisme potensial dalam penurunan berat badan yang terkait dengan diet tinggi protein diantaranya melibatkan induksi termogenesis, penyesuaian proses glukoneogenesis dalam mengatur homeostasis glukosa, serta sekresi hormon-hormon usus yang terlibat dalam proses pencernaan makronutrien (Makaronidis & Batterham, 2019). Pernyataan ini didukung oleh Pesta & Samuel (2014) yang menyatakan bahwa penurunan berat badan merupakan salah satu efek dari mekanisme sekresi hormon-hormon pencernaan yang dipicu oleh diet tinggi protein.

Dalam pelaksanaannya, persentase protein yang tinggi pada diet ini akan (1) menyediakan glukosa melalui jalur glukoneogenesis (Pasini et al., 2018); (2) meningkatkan produksi amonia dan urea dalam darah sebagai

hasil akhir dari proses deaminasi oksidatif (Adeva, Souto, Blanco, & Donapetry, 2012); serta (3) menstimulasi reseptor-reseptor *gut hormones*/ hormon usus (anoreksigenik dan oreksigenik) pada sel-sel tertentu di sepanjang saluran pencernaan (Makaronidis & Batterham, 2019).

Hormon-hormon usus ini merupakan polipeptida yang aktif secara metabolik yang disekresi di sepanjang saluran pencernaan sebagai respon terhadap defisit energi dan ketersediaan nutrien, serta merupakan regulator utama dalam homeostasis energi. Dua jenis hormon yang turut terlibat dalam proses tersebut adalah hormon anoreksigenik dan oreksigenik.

Hormon anoreksigenik secara sederhana adalah hormon yang akan terstimulasi pada kondisi ketersediaan nutrien. Sebagian besar hormon tersebut diproduksi oleh sel-sel enteroendokrin tipe L yang berada di sepanjang saluran pencernaan. Beberapa jenis hormon anoreksigenik diantaranya adalah GLP-1, PYY dan Leptin. Hormon-hormon tersebut akan terstimulasi bila terjadi paparan langsung oleh nutrien (*Feeding State*), sehingga peningkatan pada konsentrasi hormon-hormon anoreksigenik ini akan menekan nafsu makan dan asupan energi; menunda pengosongan lambung; merangsang sekresi insulin dan proliferasi sel-sel β serta menekan sekresi glukagon (Makaronidis & Batterham, 2019). Selain hormon anoreksigenik, terdapat pula hormon oreksigenik. Ghrelin, satu-satunya hormon oreksigenik yang bersirkulasi dalam darah, diproduksi oleh sel-sel tipe P/D1 pada lambung dan duodenum, dan memiliki mekanisme kerja yang berlawanan dengan hormon anoreksigenik. Konsentrasi Ghrelin akan

meningkat setelah keadaan puasa yang berkepanjangan (*Fasting State*) yang berarti bahwa peningkatan pada hormon ini secara spesifik akan meningkatkan pula nafsu makan. Efek lain yang ditimbulkan oleh hormon Ghrelin ini adalah menstimulasi asupan makanan, merangsang pengosongan lambung dan produksi asam lambung, serta menurunkan sekresi insulin (Davis & Benoit, 2013).

Beberapa hasil penelitian sebelumnya yang membandingkan pemberian diet tinggi protein terhadap kadar hormon anoreksigenik tampaknya menuai beberapa kontroversi. Salah satu studi yang dilakukan oleh Schwarz et. al (2012) menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi GLP-1 setelah diberikan diet tinggi protein (50% energi) selama 24 jam. Sementara itu, penelitian pemberian diet tinggi protein (60% energi) terhadap tikus yang dilakukan oleh Vu et. al (2017) selama 8 minggu justru menunjukkan penurunan konsentrasi GLP-1 yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Berdasarkan teori, hal ini berlawanan jika ditinjau secara fisiologis mengingat bahwa GLP-1 merupakan salah satu hormon anoreksigenik dimana kadarnya akan meningkat dalam keadaan *feeding state*.

Studi lain juga meneliti tentang pemberian diet tinggi protein terhadap konsentrasi Leptin, salah satu hormon anoreksigenik yang memiliki respon fisiologis serupa dengan GLP-1. Penelitian yang dilakukan oleh Binder et.al (2013) dan Schwarz et.al (2012) selama 21 dan 12 minggu secara berturut-turut, menunjukkan penurunan kadar Leptin yang signifikan pasca

pemberian diet tinggi protein yang turut disertai dengan penurunan berat badan dan peningkatan toleransi glukosa. Hasil-hasil temuan yang cukup kontradiktif terhadap respon fisiologis hormon anoreksigenik ini memperlihatkan adanya kemungkinan yang juga dipengaruhi oleh lama pemberian diet tinggi protein itu sendiri.

Selain perubahan konsentrasi pada GLP-1 dan Leptin, Vu et. al (2017) juga menyimpulkan bahwa kelompok tikus yang diberikan perlakuan diet tinggi protein (60% energi) menunjukkan peningkatan kadar Glukagon. Pernyataan ini didukung oleh studi yang dilaporkan oleh Linn et.al (2000), dimana pemberian diet tinggi protein (50% energi) selama 6 minggu turut meningkatkan kadar Glukagon pada tikus percobaan. Hal ini kembali menegaskan kontradiksi yang cukup bermakna bila mengacu pada sifat alamiah Glukagon yang memiliki kemiripan respon fisiologis dengan Ghrelin, hormon oreksigenik yang konsentrasinya menurun saat terpapar nutrien.

Minimnya penelitian mengenai mekanisme kerja Ghrelin terhadap intervensi diet merupakan hal yang masih perlu dikaji lebih lanjut. Terlebih lagi, studi mengenai pengaruh diet tinggi protein terhadap konsentrasi hormon Ghrelin, baik dalam jangka waktu pendek maupun panjang, masih sangat terbatas.

Untuk itu, melihat adanya respon fisiologis tubuh terhadap produksi hormon anoreksigenik dan oreksigenik yang cukup kontroversial pada pemberian diet tinggi protein, khususnya hormon GLP-1 dan Ghrelin serta

produk-produk metabolik yang dihasilkan dari metabolisme makronutrien pada diet tersebut, maka penulis merasa perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk menilai pengaruh pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak secara jangka panjang terhadap konsentrasi hormon plasma, khususnya GLP-1 dan Ghrelin.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, dapat dirumuskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh pemberian diet standar selama 8 minggu terhadap hormon GLP-1 dan hormon Ghrelin pada tikus *Rattus norvegicus* jantan ?
2. Bagaimanakah pengaruh pemberian diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak selama 8 minggu terhadap hormon GLP-1 dan hormon Ghrelin pada tikus *Rattus norvegicus* jantan ?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Penelitian
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian diet standar dan diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak

selama 8 minggu terhadap hormon GLP-1 dan hormon Ghrelin pada tikus *Rattus norvegicus* jantan.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui pengaruh pemberian diet standar dan diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap hormon GLP-1 tikus *Rattus norvegicus* jantan.
- b. Mengetahui pengaruh pemberian diet standar dan diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak selama 8 minggu terhadap hormon Ghrelin pada tikus *Rattus norvegicus* jantan.

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat antara lain :

1. Bidang Ilmu Pengetahuan

- a. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak selama 8 minggu terhadap hormon GLP-1 dan hormon Ghrelin tikus *Rattus norvegicus* jantan.
- b. Memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian diet tinggi protein rendah karbohidrat rendah lemak selama 8 minggu terhadap perubahan fisiologis tubuh baik manfaat maupun resikonya.

2. Bidang Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai referensi dan bahan kajian untuk penelitian selanjutnya di masa yang akan datang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Diet Tinggi Protein Rendah Karbohidrat Rendah Lemak

Diet tinggi protein kini semakin dipopulerkan oleh berbagai media sebagai strategi yang menjanjikan untuk mencapai penurunan berat badan oleh karena efek ganda yang dimilikinya, yaitu meningkatkan rasa kenyang serta mengurangi massa lemak. Beberapa mekanisme potensial dalam proses penurunan berat badan yang terkait dengan diet tinggi protein diantaranya melibatkan peningkatan sekresi hormon-hormon pencernaan (usus) yang menginduksi rasa kenyang, penurunan sekresi hormon oreksigenik (Ghrelin), peningkatan efek termal pada makanan serta perubahan-perubahan yang dipicu oleh protein pada proses glukoneogenesis sebagai mekanisme untuk mengatur homeostasis glukosa (Pesta & Samuel, 2014).

Di Inggris, asupan protein untuk orang dewasa yang memiliki aktifitas yang kurang dikatakan normal apabila terdiri dari 16% dari total asupan energi, yaitu sekitar 64 dan 88 gram/hari untuk perempuan dan laki-laki, secara berturut-turut. Hingga saat ini, tidak terdapat konsensus umum mengenai definisi dari diet tinggi protein itu sendiri, hanya saja beberapa industri makanan menggunakan istilah “kaya-protein” untuk 20% protein dari total energi. Sebagian besar diet tinggi protein yang dilaporkan untuk studi-studi penurunan berat badan seringkali melaporkan 30% dari asupan energi sebagai protein. Secara umum, protein sebagai persentase energi

dilipat gandakan dari 15 ke 30% (Johnstone, 2012). Adapun jenis-jenis diet tinggi protein populer yang telah diadaptasi oleh beberapa studi dijelaskan secara rinci beserta komposisi makronutrientnya di tabel 1 berikut ini .

Tabel 1. Jenis-Jenis Diet Tinggi Protein (Pesta & Samuel, 2014).

Diet	KH	Lemak	Protein	gr/kg/hari Protein
USDA recommend	45-64%	20-35%	10-35%	0.8
Atkins	6%	59%	35%	2.3
South Beach	28%	3%	39%	2.6
Stillman	3%	33%	64%	4.3
Zone	36%	29%	34%	2.3
High Protein, normal CHO	50%	30%	20%	1.3

Pedoman yang dikeluarkan oleh *The Institute of Medicine* memperbolehkan adanya penambahan protein dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan rekomendasi diet sebelumnya. Kisaran persentase konsumsi protein yang dapat ditoleransi untuk orang dewasa berdasarkan pedoman diet tersebut adalah 10 – 35% dari asupan kalori harian, karbohidrat sebesar 45 – 65% dan lemak sebesar 20 – 35% (Institute of Medicine, 2002). Dengan demikian, distribusi protein yang dapat diterima untuk keperluan rumatan adalah sebesar 5 – 20% dari energi untuk anak-anak usia 1 – 3 tahun; 10 – 30% untuk anak-anak umur 3 – 18 tahun; dan 10 – 35% untuk orang dewasa (Johnstone, 2012).

Diet tinggi protein adalah suatu strategi populer yang dimanfaatkan untuk mencapai penurunan berat badan oleh karena efek rasa kenyang yang diinduksi oleh protein untuk mengendalikan rasa lapar (Leidy et al., 2015). Protein merupakan salah satu makronutrien penting yang memiliki berbagai fungsi metabolik dan seluler, serta terdiri dari asam-asam amino serta ikatan peptida (French et al., 2017).

Kebutuhan metabolik untuk asam amino (AA) pada dasarnya adalah untuk mempertahankan cadangan protein jaringan endogen. Dalam pelaksanaannya, sumber asam amino dapat berasal dari (1) protein eksogen yang melepaskan asam amino setelah dicerna dan diserap; (2) pemecahan protein dari jaringan; (3) sintesis *de Novo*, termasuk asam amino yang berasal dari proses penyerapan kembali dari urea, melalui metabolisme hidrolisis dan mikrobiota usus (Schutz, 2011).

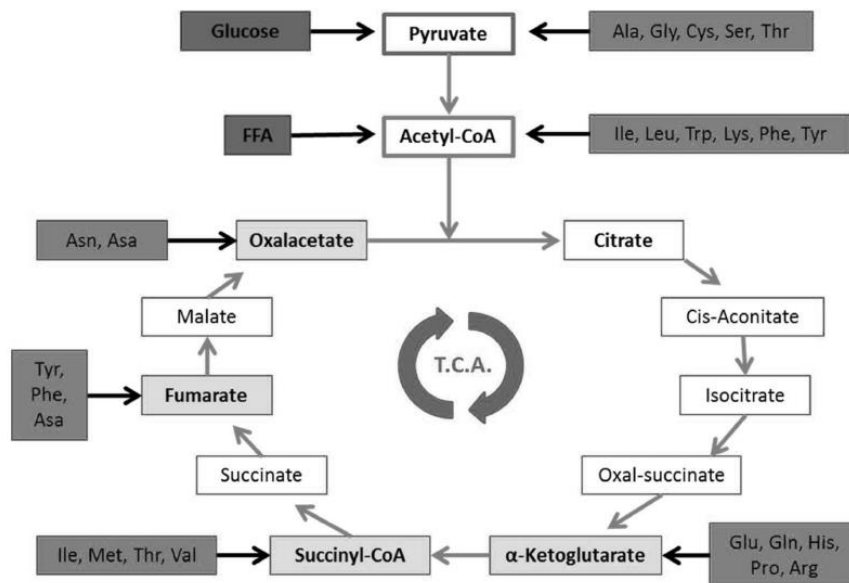
Bila asupan protein meningkat, maka asam amino yang berlebihan akan mengalami tiga proses, yaitu (1) peningkatan oksidasi dengan produk akhir karbondioksida (CO₂) dan amonia; (2) peningkatan ureagenesis, yaitu sintesis urea terkait proses deaminasi oksidatif dari protein; dan (3) glukoneogenesis, yaitu sintesis glukosa dari molekul-molekul non-karbohidrat. Sebagian besar dari kelebihan sintesis asam amino ini akan dikonversi menjadi urea melalui proses deaminasi oksidatif, sementara gugus karbon akan diubah menjadi glukosa (Schutz, 2011).

1. Metabolisme Protein

Protein merupakan makronutrien yang penting untuk menunjang berbagai aktifitas seluler serta metabolisme tubuh. Sintesis protein umumnya dikendalikan oleh ketersediaan asam amino dalam jumlah yang proporsional terhadap jumlah protein yang diperlukan. Selain itu, proses deaminasi dari asam amino yang dilepaskan oleh jaringan otot rangka dan/atau protein-protein visceral dalam sirkulasi membentuk gugus karbon yang kaya akan oksigen dan hidrogen yang adekuat untuk digunakan pada reaksi biokimia berikutnya (Schutz, 2011). Gugus karbon ini dapat digunakan oleh hati untuk memproduksi glukosa melalui jalur glukoneogenesis beserta makromolekul lainnya. Asam amino ini juga berfungsi dalam pembuatan bahan-bahan intermediet bagi Siklus Krebs yang nantinya akan diubah menjadi energi dan/atau intermediet metabolik lainnya (Johnstone, 2012).

Asam amino (AA) didefinisikan sebagai zat organik yang mengandung gugus amino dan karbon. Berdasarkan kebutuhan keseimbangan nitrogen yang diperoleh dari makanan, asam amino diklasifikasikan sebagai asam amino esensial (EAA) dan asam amino non-esensial (NEAA) pada manusia dan hewan. EAA didefinisikan sebagai asam amino yang gugus karbonnya tidak dapat disintesis, atau asam amino yang disintesis secara tidak adekuat (*de novo*) oleh kebutuhan relatif tubuh yang berarti harus diperoleh dari makanan untuk memenuhi kebutuhan-kebutuhan yang optimal (Paddon-jones,

Westman, Mattes, Wolfe, & Astrup, 2008; Wu, 2009). Asam amino yang esensial secara kondisional adalah AA yang biasanya dapat disintesis dalam jumlah yang adekuat oleh organisme, tetapi harus diperoleh dari makanan agar memenuhi kebutuhan optimal dimana rasio utilisasi lebih besar daripada rasio sintesis (Wu, 2009). Selain itu, NEAA adalah kelompok AA yang dapat disintesis secara *de novo* dalam jumlah yang adekuat oleh tubuh untuk memenuhi kebutuhan optimal. Perlu diketahui bahwa kesemua 20 asam amino beserta metabolitnya diperlukan untuk fisiologi dan fungsi sel normal (Paddon-jones et al., 2008).



Gambar 1. Intermediet-intermediet yang berasal dari asam amino yang terlibat dalam siklus asam trikarboksilik (Siklus Krebs) (Pasini et al., 2018).

Penggunaan EAA ke dalam Siklus Krebs serta proses lainnya yang melibatkan oksidasi glukosa dan/atau oksidasi asam lemak merupakan

suatu strategi untuk mempertahankan produksi energi yang efisien pada keadaan-keadaan patologis. Hal ini dikarenakan oksidasi lemak kurang efisien terhadap energy dibandingkan glikolisis, juga karena masuknya molekul piruvat yang berasal dari asam amino ke dalam Siklus Krebs di mitokondria (Pasini et al., 2018). Bahkan, beta-oksidasi, yang sebagian besar terjadi di sitoplasma, menurunkan rasio ATP/oksigen yang tersedia, dan mewajibkan EAA dalam jumlah yang besar untuk digunakan sebagai intermediet pada Siklus Krebs. Menariknya lagi, EAA juga digunakan sebagai pengganti untuk oksaloasetat yang berasal dari piruvat yang dipersingkat oleh banyaknya jumlah NADH yang diproduksi di luar mitokondria akibat dari beta-oksidasi (Paddon-jones et al., 2008; Pasini et al., 2018).

Meskipun setiap AA masing-masing memiliki jalur katabolik yang unik, proses katabolisme dari sebagian besar AA menunjukkan karakteristik umum pada organisme. Metabolit-metabolit yang penting dari AA diantaranya adalah ammonia, karbon dioksida, asam lemak rantai-pendek dan panjang, glukosa, H₂S, benda-benda keton, nitrit oksida, asam urat, poliamin serta zat-zat nitrogen lainnya. Oksidasi sempurna dari karbon AA terjadi hanya jika gugus karbonnya dikonversi secara keseluruhan menjadi asetil-KoA, yang dioksidasi menjadi CO₂ dan H₂O melalui Siklus Krebs dan sistem Transpor Elektron di mitokondria.

2. Metabolisme Karbohidrat

Pada metabolisme karbohidrat, proses pemecahan dimulai pada saat proses pencernaan makanan yang terjadi di dalam traktus gastrointestinal yang diikuti oleh proses penyerapan komponen karbohidrat oleh enterosit ke dalam bentuk monosakarida. Monosakarida kemudian ditransfer ke sel-sel untuk respirasi aerobik dan anaerobik melalui glikolisis, siklus asam sitrat dan jalur pentofosfat untuk digunakan pada *fasting state*. Dalam keadaan normal, sel-sel otot rangka dan hati menyimpan monosakarida dalam bentuk glikogen. Sementara pada keadaan obes, glukosa yang berlebih dikonversikan menjadi trigliserida melalui proses lipogenesis kemudian disimpan di droplet-droplet lemak pada jaringan adiposa (Dashty, 2013).

Glukosa yang terdapat di sirkulasi berasal dari tiga sumber: penyerapan oleh usus selama fase makan, glikogenolisis dan glukoneogenesis. Penentu utama terhadap seberapa cepatnya glukosa dapat ditemukan di sirkulasi selama fase makan ialah kecepatan pengosongan lambung. Sumber-sumber lain untuk memperoleh glukosa sebagian besar berasal dari serangkaian proses yang berlangsung di hati: glikogenolisis, yakni pemecahan glikogen yang merupakan bentuk penyimpanan glukosa secara polimer; dan glukoneogenesis, proses pembentukan glukosa yang umumnya berasal dari asam laktat dan asam amino selama fase puasa (Aronoff, Berkowits, Shreiner, & Want, 2004). Pada mamalia, terdapat jalur metabolik yang berbeda-beda dalam sel yang mampu memecah molekul-molekul sumber energi untuk

mentransfer energinya menjadi senyawa-senyawa berenergi tinggi seperti Adenin-5' trifosfat (ATP), guanosisin-5' trifosfat (GTP), nikotinamid adenin dinukleotida (NADH₂), flavin adenin dinukleotida (FADH₂), serta nikotinamid adenin dinukleotida fosfat (NADPH) (Aronoff et al., 2004; Dashty, 2013).

Glukokinase yang memfosforilasi glukosa menjadi glukosa 6-fosfat di dalam hepatosit memastikan aliran yang adekuat dari glukosa yang memasuki sel untuk dimetabolisme. Glukosa-6-fosfat dapat menjalani beberapa jalur metabolik. Selama periode post-prandial, sebagian besar glukosa-6-fosfat digunakan untuk mensintesis glikogen melalui pembentukan glukosa-1-fosfat dan glukosa-UDP. Sebagian kecil dari glukosa-UDP digunakan untuk menghasilkan glukuronat-UDP dan galaktosa-UDP, yang merupakan penyedia bagi unit-unit monosakarida yang digunakan dalam proses glikosilasi. Jalur kedua dari metabolisme glukosa-6-fosfat ialah pembentukan fruktosa-6-fosfat, yang diantaranya dapat memulai jalur heksosamin untuk menghasilkan UDP-N-asetilglukosamin, atau mengikuti jalur glikolitik untuk menghasilkan piruvat kemudian asetil-KoA. Asetil-KoA kemudian dapat memasuki siklus asam trikarboksilat (Siklus Krebs) untuk dioksidasi atau bahkan dapat dikeluarkan ke sitosol untuk disintesis menjadi asam lemak ketika glukosa yang berlebihan ditemukan di dalam sel hati. Secara umum, proses serta derivat-derivat yang dihasilkan oleh metabolisme karbohidrat dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Ringkasan jalur biokimia karbohidrat (Dashty, 2013).

Jalur	RV	Lokasi	Substrat	Hasil	Menggunakan	Melepaskan
Glikolisis (aerobik)	K	Sit	1 Glukosa	2 Piruvat	Mg ²⁺	2 ATP, 2 NADH ₂
Glikolisis (anaerobik)	K	Sit	1 Glukosa	2 Asam Laktat	Mg ²⁺	2 ATP
Reaksi PDH (aerobik)	K	Mit	2 Piruvat	2 Asetil-KoA	Asam Lipoac, 2 KoA	2 NADH ₂
Siklus Krebs (aerobik)	K	Mit	2 Asetil KoA, 2 OAA	2 Sitrat	4 H ₂ O, Fe ²⁺ , Mg ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe/S	6 NADH ₂ , 4CO ₂ , 2 GTP, 2 FADH ₂ , 2 KoA
Rantai Transpor Elektron	K	Mit	1 NADH ₂ & 1 FADH ₂	3 ATP & 2 ATP	Oksigen	H ₂ O
Glikogenesis	A	Sit	Glukosa	Glikogen	2 ATP, Mg ²⁺	
Glikogenolisis	K	Sit	Glukogen	G6P, glukosa, F6P		
Glukoneogenesis	A	Sit & Mit	2 piruvat (atau 2 asam laktat)	G6P, glukosa, F6P	2 HCO ₃ ⁻ , 4 NADH, 4 ATP, 2 GTP, 2 H ₂ O	2 NADPH ₂ , 2 CO ₂ , 6 Pi
Metabolisme Fruktosa	A	Sit	Fruktosa	G6P, glikogen	2 ATP	Pi
Metabolisme Galaktosa	A	Sit	Galaktosa	G6P, laktosa	1 ATP, UDGP	
Pentosa Fosfat	A	Sit	G6P	F6P, GA3P, 4CP, 5CP, 7CP	1 H ₂ O, TPP	2 NADPH ₂ , 1 CO ₂ , 1 H ⁺

*A: Anabolisme; K: Katabolisme

3. Metabolisme Lemak

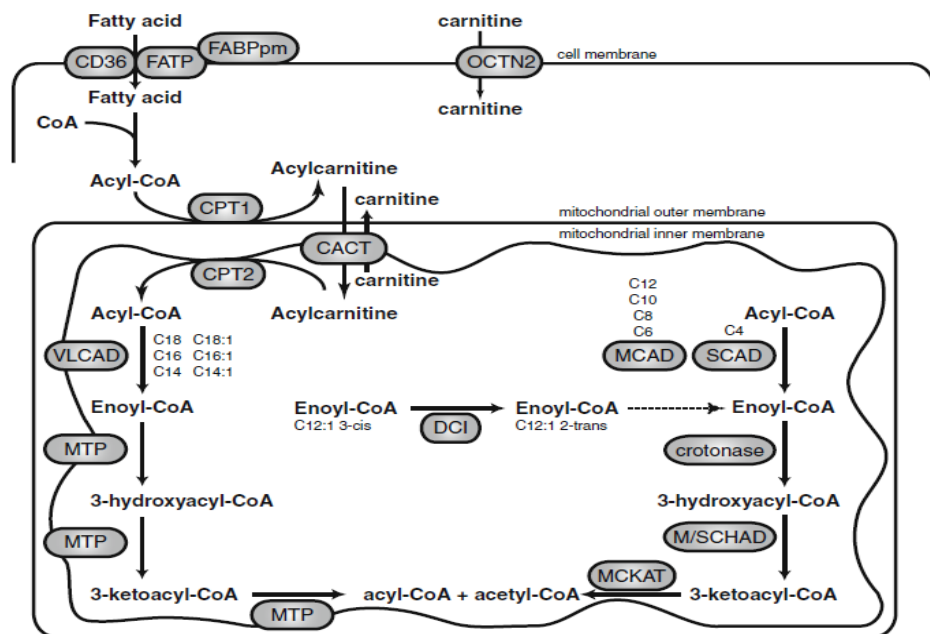
Lipid merupakan lemak tubuh, baik yang disintesis di dalam sel (lipid endogen) maupun yang berasal dari makanan berlemak (lipid exogen). Lipid tersebut ditandai dengan sifat insolubilitasnya terhadap air, serta

memiliki fungsi biologis yang sangat luas terhadap membran sel sebagai fosfolipid, dan juga sebagai sumber utama penyimpanan energi di jaringan adiposa, yakni triasilgliserida (TAG) (Griffin, 2013). Proses lipolisis dari cadangan jaringan adiposa, triasilgliserol (TAG), menghasilkan pembebasan dari gliserol dan asam-asam lemak non-esterifikasi (bebas) yang akan dilepaskan ke pembuluh darah untuk digunakan oleh organ-organ lain sebagai sumber energi. Sebagai respon terhadap perubahan kondisi nutrisi, proses lipolisis diatur dengan tepat melalui sinyal hormonal dan biokimiawi. Sinyal-sinyal tersebut memicu aktifitas enzim lipolitik dan protein lainnya, yang memungkinkan terjadinya respon maksimal bagi jaringan adiposa terhadap perubahan pada ketersediaan dan kebutuhan energi (Duncan, Ahmadian, Jaworski, Sarkadi-Nagy, & Sul, 2007).

Lipolisis terjadi dalam suatu alur yang beruntun dan teratur, dengan enzim-enzim berbeda yang bekerja di setiap langkah. TAG dihidrolisis secara berurutan untuk menghasilkan diasilgliserol (DAG), lalu monoasilgliserol (MAG), yang melibatkan pembebasan asam lemak di setiap langkahnya. MAG dihidrolisis untuk melepaskan asam lemak dan gliserol terakhir. Penyimpanan cadangan energi disimpan dalam bentuk TAG, dan kemampuan untuk memobilisasi secara cepat cadangan tersebut sebagai asam lemak untuk kebutuhan sumber energi mewakili suatu respon metabolik yang sangat adaptif (Duncan et al., 2007). Serum lipid, termasuk TAG, fosfolipid, kolesterol dan komponen asam

lemaknya, ditranspor antar tempat sintesis di dalam hati dan saluran cerna menuju jaringan perifer untuk pemakaian dan cadangan energi dalam bentuk kompleks makromolekul lipid-protein yang disebut dengan lipoprotein. Lipoprotein yang kaya akan TAG ini dibentuk ulang dengan bantuan aktifitas dari lipase lipoprotein menjadi sisa-sisa kilomikron yang lebih kecil dan *low-density lipoproteins* (LDL). Lipoprotein yang kaya akan kolesterol ini mengirim kembali kolesterol ke hati dan jaringan perifer lainnya melalui reseptor membran spesifik, tetapi dapat memicu proses aterosklerosis dengan cara menempatkan diri beserta kolesterolnya pada dinding-dinding arteri. Berlawanan dengan hal tersebut, membalikkan transport kolesterol memberikan jalur yang mengantar kolesterol jauh dari jaringan perifer dan kembali ke hati. Fungsi inilah yang dilakukan oleh *high-density lipoproteins* (HDL), serta memberikan perlindungan terhadap aterosklerosis (Griffin, 2013).

Jalur utama untuk degradasi asam lemak ialah beta-oksidasi asam lemak di mitokondria/ *mitochondrial fatty acid β -oxidation* (FAO). FAO merupakan jalur metabolik penting untuk homeostasis energi di beberapa organ seperti hati, jantung dan otot rangka. Selama puasa, ketika suplai glukosa menurun, FAO menjadi sangat krusial. Pada kondisi tersebut, sebagian besar jaringan, kecuali otak, dapat menggunakan asam lemak secara langsung untuk menghasilkan energi. Selain itu, hati mengonversi asam lemak menjadi benda-benda keton, suatu proses dimana FAO sangat diperlukan (Houten & Wanders, 2010).



Gambar 2. Beta-oksidasi Asam Lemak dalam Mitokondria pada Manusia (Houten & Wanders, 2010).

Mitokondria dan peroksisom mengandung semua enzim yang diperlukan untuk FAO. Mitokondria merupakan pusat utama oksidasi asam lemak bebas atau trigliserida yang terkait-lipoprotein. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa langkah transpor sangat diperlukan sebelum asam lemak dioksidasi. Trigliserida pertama-tama dihidrolisis oleh Lipase lipoprotein yang mengikat endotel. Penyerapan asam lemak tampaknya dimediasi oleh protein membran, meskipun penyerapan pasif mungkin juga terjadi. Protein transpor asam lemak/ *Fatty acid transport proteins* (FATP) adalah protein transmembran integral yang meningkatkan penyerapan asam lemak rantai panjang dan rantai sangat-panjang ke dalam sel. Pada manusia, FATP terdiri atas kumpulan enam

protein yang sangat homolog. FATP juga memiliki aktifitas sintesis asil-KoA, suatu proses yang memungkinkan untuk mempercepat transpor (Houten & Wanders, 2010).

B. Hormon Plasma

1. Glucagon Like Peptide – 1 (GLP-1)

Glucagon-like Peptide 1 (GLP-1) merupakan produk pecahan dari gen pre-glukagon yang diekspresikan pada sel-sel α pankreas, sel-sel L pada usus dan neuron yang terlaetak pada kaudal batang otak dan hipotalamus. GLP-1 relevan terhadap nafsu makan dan pemeliharaan berat badan karena memiliki kerja pada saluran pencernaan serta mengatur secara langsung nafsu makan. Hormon ini juga menunda pengosongan lambung dan memperlambat motilitas usus pada manusia (Harris & Crabb, 2010; Shah & Vella, 2014).

GLP-1 disekresikan melalui sel-sel endokrin tipe L di mukosa usus sebagai respon terhadap kontak langsung nutrien intraluminal. Sehubungan dengan nutrien, terdapat dua puncak pada sekresi GLP-1 yang yang dapat diamati dalam merespon makanan pada manusia. Puncak pertama terjadi dalam waktu 15 menit setelah makan dimulai sebelum nutrien mencapai sel-sel L usus jauh di bagian distal. Peningkatan yang cepat pada kadar GLP-1 ini tampaknya melibatkan putaran neuroendokrin dimana nutrien yang berada di lambung atau

usus bagian proksimal menstimulasi pelepasan hormon, seperti *gastric inhibitory peptide* dan *gastrin-releasing peptide*, yang bekerja melalui jalur vagal untuk menstimulasi sel-sel L untuk menyekresikan GLP-1. Puncak kedua terjadi setelahnya, lebih besar, dan diperkirakan berasal dari kontak nutrien secara langsung dengan sel-sel L usus. Sehingga, nutrien di dalam saluran pencernaan memiliki kemampuan untuk menstimulasi GLP-1 secara langsung maupun tidak langsung melalui mekanisme hormonal dan neuronal (Gannon & Nuttall, 2011).

Kepadatan dari sel-sel tipe L relatif rendah pada bagian proksimal usus halus dan meningkat secara distal di sepanjang usus, dengan kepadatan tertinggi pada ileum dan kolon. Pada tikus, babi dan manusia, mayoritas sel-sel L terletak pada lapisan epitel usus bagian distal. Permukaan apikal dari sel-sel tipe L menghadap ke lumen usus, yang mana akan melakukan kontak secara langsung dengan nutrien luminal. Konsisten dengan hal tersebut, konsentrasi plasma GLP-1 akan meningkat secara cepat pada manusia sehat ketika terjadi paparan langsung karbohidrat atau lemak di dalam ileum. Kelangkaan terhadap sel-sel tipe L pada bagian proksimal usus halus tikus dan manusia menunjukkan bahwa sinyal-sinyal neuronal dan/atau humoral bagian proksimal ke-distal dapat mempengaruhi pelepasan GLP-1 selama makan, lebih khususnya selama fase awal sekresi GLP-1. Meski demikian, kemampuan sel-sel tipe L untuk menyekresikan GLP-1 sebagai respon langsung terhadap paparan nutrisi luminal tentunya

memiliki peranan tambahan, dan memungkinkan untuk menjadi mekanisme utama pada sekresi GLP-1. Kontak antara nutrisi dengan sel-sel tipe L pada distal usus menjelaskan pula durasi peningkatan kadar GLP-1 yang berkepanjangan selama proses makan, dan juga dapat berperan terhadap peningkatan konsentrasi GLP-1 pasca *gastric bypass*, atau setelah operasi *sleeve gastrectomy*, karena reposisi pembedahan pada bagian distal usus lebih cepat mengekspos sel-sel L terhadap nutrien yang masuk (Müller et al., 2019).

Nutrien yang dapat menstimulasi sekresi GLP-1 termasuk monosakarida yang dapat dimetabolisme, seperti glukosa, fruktosa, dan galaktosa, serta monosakarida non-metabolik lainnya seperti methyl- α -glukopiranosid, asam lemak rantai-panjang, protein, dan asam amino tertentu. Pada manusia sehat, pencernaan karbohidrat atau protein menyebabkan peningkatan yang cepat pada GLP-1 yang bersirkulasi dalam darah dengan puncak 30 – 60 menit setelah asupan nutrien, sedangkan pencernaan lemak menimbulkan peningkatan lebih lambat tetapi berkepanjangan (> 120 menit). Pada tikus, kadar GLP-1 pada vena portal mencapai puncak pada sekitar 15 menit setelah pemberian makanan lunak secara intragastrik dan kembali ke kadar dasar setelah 90 – 120 menit (Müller et al., 2019).

Mekanisme seluler yang mendasari sekresi GLP-1 yang distimulasi oleh pengaktifan sel-sel tipe L serupa dengan stimulasi sekresi insulin dari islet pankreas. Pada sel-sel enteroendokrin GLUTag, glukosa dan

fruktosa meningkatkan sekresi GLP-1 melalui penutupan saluran K-ATP yang sensitif-ATP serta depolarisasi membran. Depolarisasi membran yang dipicu oleh glukosa memerlukan pembukaan saluran VDC (voltage-dependent Ca^{2+}), lalu hasil dari influks Ca^{2+} memicu eksositosis vesikuler serta sekresi GLP-1 ke dalam sirkulasi. Meskipun mekanisme aktifitas saluran K-ATP dalam memediasi pelepasan GLP-1 telah dikonfirmasi secara *in vitro*, namun relevansinya terhadap sekresi GLP-1 *in vivo* masih kurang jelas (Müller et al., 2019).

Selain berespon terhadap glukosa dan karbohidrat, sel-sel L, seperti sel-sel enteroendoktin lainnya, juga memiliki sensasi terhadap lipid dan protein melalui reseptor-reseptor permukaan-sel yang spesifik, yang mengikat metabolit-metabolit yang berasal dari makanan berlemak dan berprotein. Hal ini terutama terjadi pada sisi basolateral dari sel-sel L, misalnya setelah penyerapan metabolit. Untuk kasus trigliserida, sel-sel L berespon bukan hanya pada asam-asam lemak, tetapi juga pada prosuk metabolit utama lainnya, yaitu monoacyl-glycerol 2 (2-MAG). Jenis-jenis sel yang biasanya digunakan untuk mempelajari mekanisme sekresi GLP-1 adalah GLUTag, STC-1 dan sel-sel NCL-H716 adenokarsinoma kolorektal. Kumpulan sel-sel ini jauh dari model optimal, karena berbeda pada repertoar sekretorinya; beberapa peptida yang bukan merupakan produk sel-sel tipe L, antara lain GIP, Glukagon dan Somatostatin (Müller et al., 2019).

Stimulasi asam amino dan protein pada sekresi GLP-1 telah ditunjukkan pada kultur sel-sel L kolon primer, pada sel-sel GLUTag, pada sel-sel NCI-H716 manusia, dan pada sel-sel kolon dan ileum yang telah diisolasi pada tikus, serta pada sel-sel mencit, tikus dan manusia secara in vivo. Pada manusia sehat, diet protein sebesar 30% kCal (40% karbohidrat, 30% lemak) menyebabkan sekresi GLP-1 yang lebih tinggi dibandingkan dengan diet 10% kCal protein (60% karbohidrat, 30% lemak). Asam-asam amino yang menstimulasi sekresi GLP-1 diantaranya adalah triptofan, L-arginin, glutamin, asparagin, fenilalanin dan glicin, dengan triptofan dan L-arginin sebagai AA yang paling poten. Ketika diberikan secara oral, L-arginin juga ikut meningkatkan insulin yang bersirkulasi pada orang-orang yang langsing, obes dan menderita DM tipe 2. Pada sel-sel NCI-H716 manusia, stimulasi terhadap sekresi GLP-1 juga ditunjukkan oleh Leusin, Isoleusin, Valin, Susu skim, Kasein dan Whey. L-Arginin, suatu turunan insulin poten, juga menstimulasi pelepasan GLP-1 dari usus tikus yang diisolasi, dan, ketika diberikan secara oral, menambah kadar GLP-1 dan insulin serta meningkatkan toleransi glukosa pada mencit (Müller et al., 2019).

Sinyal terhadap rasa kenyang yang dihasilkan oleh aktivasi mekano-reseptor lambung ketika mengalami distensi diperlambat melalui aktifitas saraf-saraf vagus menuju NTS di batang otak (Harris & Crabb, 2010). Jumlah distensi lambung akibat asupan makanan sebagian dipengaruhi oleh kecepatan pengosongan lambung, yang pada gilirannya

mempengaruhi kadar glikemik postprandial. GLP-1 juga berkontribusi terhadap perubahan pada volume lambung yang terjadi sebagai antisipasi dari pencernaan makanan. Fenomena ini dikenal dengan akomodasi lambung dan dapat mempengaruhi persepsi distensi lambung setelah pencernaan makanan (Shah & Vella, 2014)

2. Ghrelin

Pada tahun 1999, Masayasu Kojima, Kenji Kangawa, dan rekan-rekannya menemukan hormon peptida saluran cerna, ghrelin, sebagai ligan endogen untuk *Growth Hormone Secretagogue Receptor* (GHSR) Ia, yang berfungsi untuk menstimulasi pelepasan *Growth Hormone* (GH) dari kelenjar hipofisis anterior. Pada tahun 2000, Mark Heimann dan rekan-rekannya menemukan bahwa ghrelin bekerja pada otak untuk mengatur asupan makanan, berat badan, adipositas, serta metabolisme glukosa. Ghrelin juga memiliki fungsi untuk memodulasi metabolisme sistemik melalui aktivasi jalur neuron oreksigenik. Selain itu, kerja sistemik maupun perifer dari ghrelin termasuk menstimulasi motilitas usus dan sekresi asam lambung, memodulasi proses tidur, sensasi perasa, mengatur metabolisme glukosa, menekan termogenesis lemak coklat, memproteksi terhadap atrofi otot serta meningkatkan fungsi-fungsi kardiovaskuler seperti vasodilatasi dan kontraktilitas jantung. Sehubungan dengan fungsi-fungsi tersebut, ghrelin diproduksi oleh kelenjar-kelenjar *oxyntic fundus gaster*, dimana konsentrasinya

akan meningkat pada fase restriksi makanan, dan reseptornya terletak di neuron-neuron nukleus arkuata hipotalamus yang mengatur asupan makanan dan pusat kenyang (Müller et al., 2015).

Ghrelin merupakan hormon usus multifaset yang mengaktifkan reseptornya sendiri yakni *growth hormone secretagogue receptor* (GHSR). Fungsi utama dari ghrelin ialah menstimulasi asupan makanan, deposit lemak serta pelepasan *Growth Hormone* (Pradhan, Samson, & Sun, 2013). Ghrelin merupakan satu-satunya hormon oreksigenik yang bersirkulasi dan memiliki fungsi yang berlawanan dengan hormon-hormon anoreksigenik (hormon yang berkaitan dengan rasa kenyang). Ghrelin selama ini digambarkan sebagai “hormon lapar” yang dikaitkan dengan perubahan-perubahan episodik pada kadar dan tingkat sensasi lapar yang mirip sepanjang hari: meningkat selama berpuasa dan menurun setelah asupan makanan (Gibbons et al., 2013).

Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mengevaluasi efek dari ghrelin beserta analognya terhadap sekresi GH, asupan makanan, berat badan, pemakaian energi, homeostasis glukosa, dan motilitas saluran cerna. Pemberian ghrelin secara perifer menginduksi sensasi lapar dan meningkatkan asupan makanan pada individu-individu yang obes, sehat dan kurang gizi. Menariknya, pemberian ghrelin secara intravena pada volunteer yang sehat justru meningkatkan aktifitas neuronal di beberapa regio otak spesifik terhadap repon gambar makanan. Ghrelin endogen berkaitan dengan aktifitas yang dipicu oleh keadaan lapar di

hipotalamus, amygdala, dan korteks prefrontal sebagai respon terhadap rangsangan makanan yang lezat. Aktivasi dari pusat *reward* ini menunjukkan bahwa peningkatan konsumsi makanan merupakan mekanisme yang lebih kompleks dibandingkan dengan sensasi fisik terhadap lapar atau kenyang (Müller et al., 2015).

Baik Ghrelin maupun reseptornya diekspresikan pada beberapa regio di otak dan jaringan perifer seperti usus, hipofisis, ginjal, paru-paru, jantung, serta islet pankreas. Ekspresi pada islet pankreas konsisten dengan beberapa hasil studi pada manusia yang menunjukkan peningkatan kadar glukosa plasma dan penurunan kadar insulin setelah pemberian Ghrelin. GHSR juga diekspresikan oleh sel-sel α pankreas dan tampaknya berkontribusi terhadap kemampuan Ghrelin untuk merangsang sekresi Glukagon secara langsung (Müller et al., 2015).

Ghrelin adalah satu-satunya hormon yang terdapat di sirkulasi yang jika diberikan secara sistemik, berpotensi untuk meningkatkan adipositas dan asupan makanan. Serupa dengan turunan GH lainnya, efek dari Ghrelin terhadap adipositas bersifat independen dan melibatkan jalur-jalur neuronal yang mengatur asupan makanan, pemakaian energi dan partisi nutrisi. Pada ARC, pusat hipotalamik utama yang mengatur asupan makanan dan kekenyangan, Ghrelin meningkatkan aktifitas dari neuron-neuron NPY dan AgRP sementara menghambat aktifitas dari neuron-neuron Pro-opiomelanocortin (PoMC). NPY dan AgRP sangat penting bagi efek Ghrelin terhadap perilaku makan (Müller et al., 2015).

Ghrelin biasanya digambarkan sebagai hormon oreksigenik yang konsentrasinya meningkat selama restriksi karbohidrat. Studi terbaru mengindikasikan bahwa ghrelin tampaknya memodulasi respon terhadap isyarat makanan melalui jaringan neural yang terlibat dalam proses pengaturan makan. Respon appetitif ini memiliki beberapa komponen: perhatian, antisipasi terhadap kesenangan, motivasi untuk makan, konsumsi, serta memori untuk isyarat yang berkaitan. Respon terhadap gambar makanan terletak di amygdala, korteks orbitofrontalis, insula, area visual dan striatum. Efek tersebut dapat menjelaskan efek ghrelin dalam menstimulasi asupan makanan. Selain daripada kerja ghrelin dalam menstimulasi pengosongan lambung dan motilitas, hormon ini juga mampu memodulasi tidur, meningkatkan sensasi perasa, menregulasi glukosa dan metabolisme lemak, melindungi otot dari keadaan atrofi, serta meningkatkan fungsi kardiovaskuler (Lv, Liang, Wang, & Li, 2018).

C. Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih *Rattus norvegicus* banyak digunakan sebagai hewan percobaan pada berbagai penelitian. Tikus putih tersertifikasi ini diharapkan dapat lebih memudahkan para peneliti dalam memperoleh hasil sesuai dengan kriteria yang dibutuhkan. Terdapat tiga galur tikus putih yang memiliki kekhususan untuk dapat digunakan sebagai hewan percobaan,

antara lain *Wistar*, *Long evans* dan *Sparague dawley*. Pakan yang digunakan dalam pemeliharaan tikus putih adalah pakan AD2. Pakan yang diberikan adalah sebanyak 10% dari bobot badan, yaitu sekitar 10 – 15 gram/ekor/hari (Widiartini dkk, 2013). Meskipun sebagian besar spesies *Rattus* berasal dari area tropis dan subtropis, *R. norvegicus* dan *R. rattus* termasuk kosmopolitan dan dapat dijumpai di semua benua. Species ini tampaknya memiliki asal-usul di Asis Tengah, dan telah menyebar ke hampir seluruh belahan dunia selama akhir abad ke-dua dan ke-tiga (Hedrich, 2000)

Ukuran tikus biasanya didasarkan pada berat badan. Kecepatan pertumbuhan bergantung bukan hanya pada jenis, tetapi juga pada kualitas dan ketersediaan pakan, serta faktor-faktor lingkungan seperti suhu dan kondisi sosial. Tikus lab jantan biasanya lebih rentan mengalami obesitas dan banyak diantaranya mencapai berat badan seberat 800 gram (TLR). Ukuran juga dapat ditentukan menggunakan parameter morfologis seperti panjang badan dan ekor. Panjang badan dapat diukur dari ujung hidung hingga pertengahan anus, dan panjang ekor dari pertengahan anus hingga ke ujung ekor. Meskipun rasio panjang badan dan ekor lebih cenderung konstan pada tikus dewasa, biasanya ukuran ekornya dapat dipengaruhi oleh suhu lingkungan selama pemeliharaan (Kemp, 2000; Koolhaas, 2010).

Korelasi yang tepat antara usia tikus laboratorium dan manusia masih kontroversial. Tikus tumbuh dengan cepat selama fase awal kehidupan dan

menjadi dewasa secara seksual pada sekitar minggu ke-6, tetapi mencapai kematangan pada usia 5-6 bulan berikutnya (Sengupta, 2013).

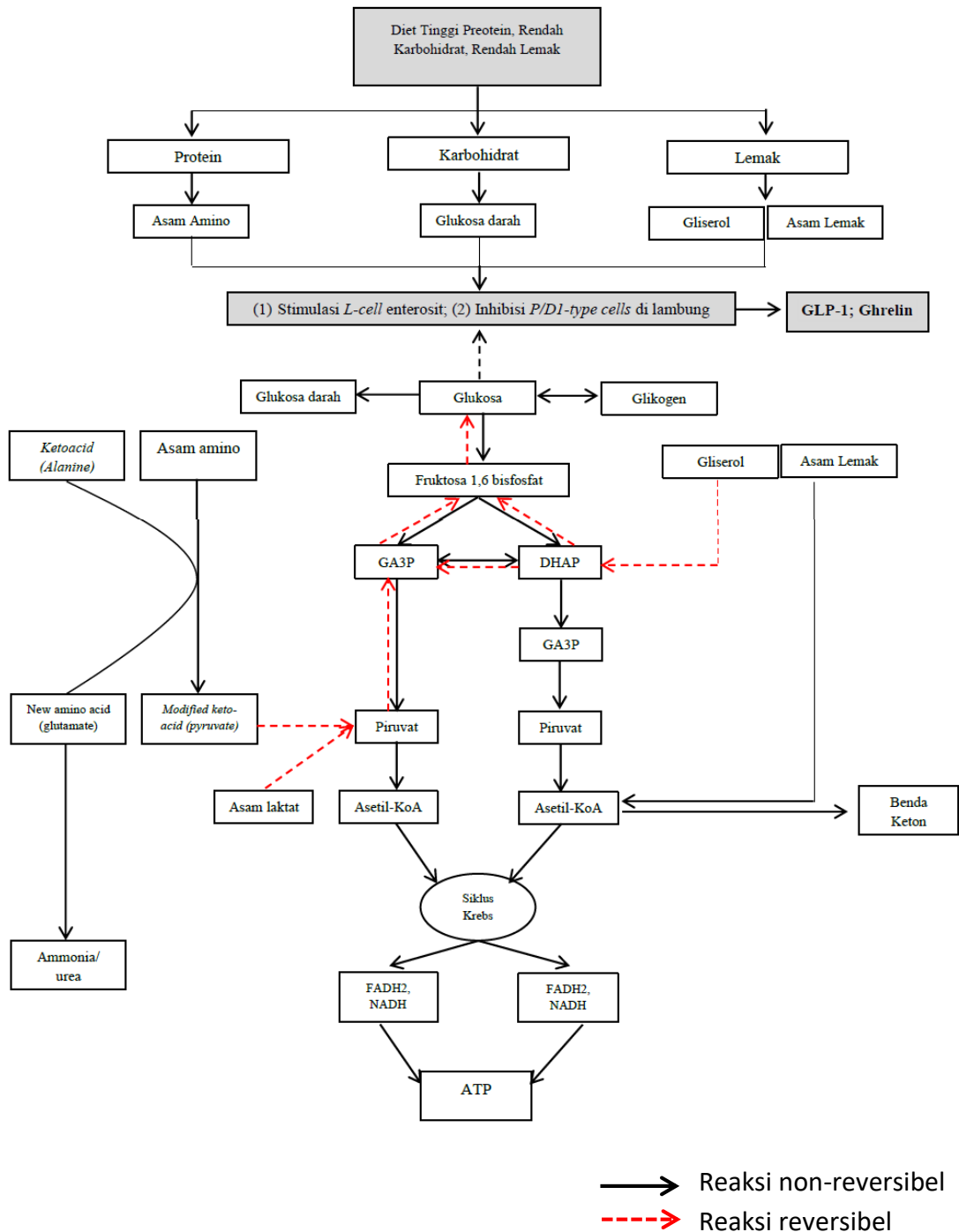
Klasifikasi/taksonomi tikus putih :

Kingdom : Animal
Filum : Chordata
Subfilum : Vertebrata
Kelas : Mamalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : Rattus norvegicus

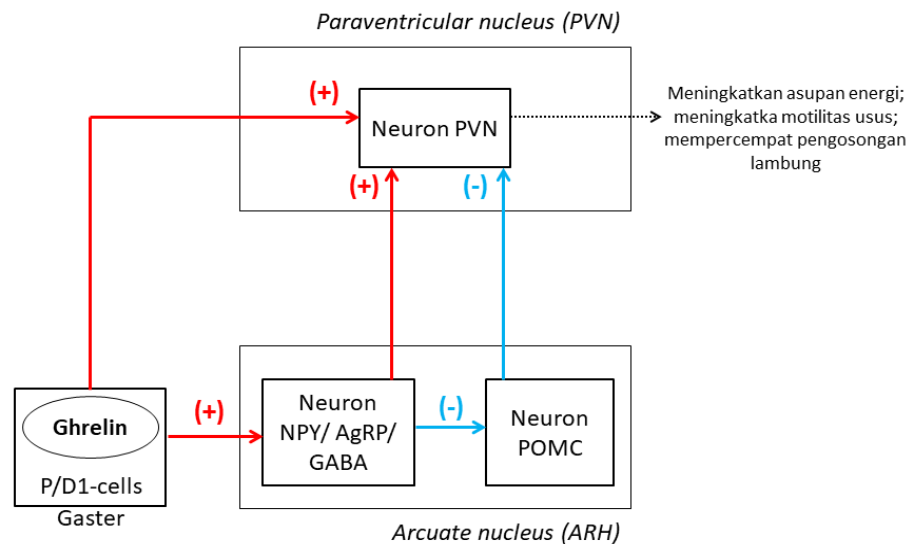
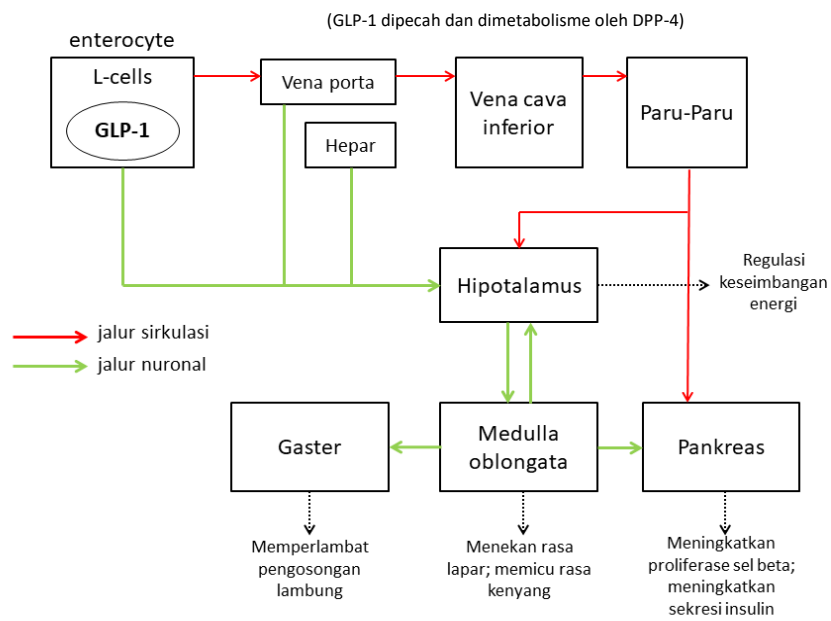
Tabel 3. Perbandingan umur tikus dan manusia (Sengupta, 2013).

Periode	Usia Tikus	Usia Manusia
Sepanjang hidup	13.2 hari	= 1 tahun
Masa penyapihan	42.4 hari	
Masa prepubertas	3.3 hari	
Masa remaja	10.5 hari	
Dewasa	11.8 hari	
Menua	17.1 hari	
Rerata	16. hari	

D. Kerangka Teori

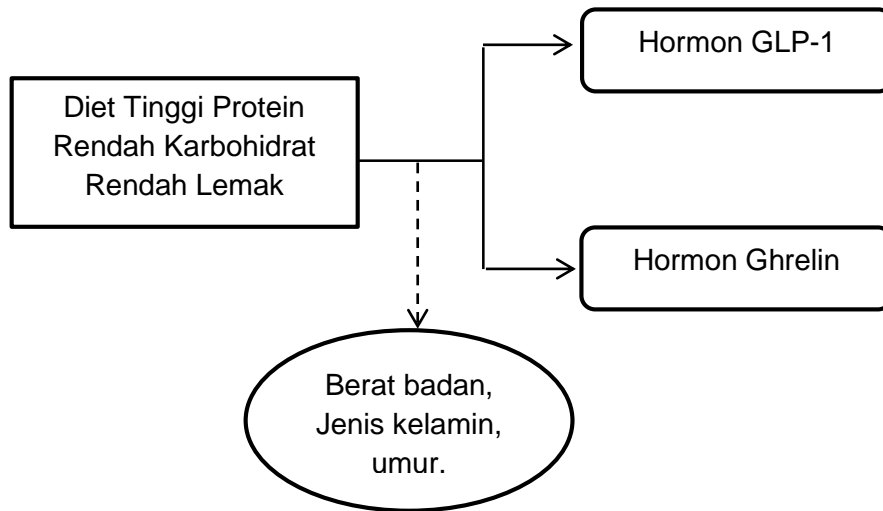


Gambar 3. Diagram kerangka teori penelitian – metabolisme makronutrien



Gambar 4. Diagram kerangka teori penelitian – GLP-1 dan ghrelin

E. Kerangka Konsep



Keterangan

□ : Variabel Independen

▭ : Variabel Dependen

○ : Variabel Kontrol

Gambar 5. Diagram kerangka konsep penelitian

F. Hipotesis

1. Hipotesis Nol (H_0)

Tidak terdapat pengaruh pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak jangka panjang terhadap Hormon Ghrelin dan GLP-1 pada tikus *Rattus norvegicus* jantan.

2. Hipotesis Alternatif (H_a)

Terdapat pengaruh pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak jangka panjang terhadap Hormon Ghrelin dan GLP-1 pada tikus *Rattus norvegicus* jantan.