

EFEK DIET RENDAH KARBOHIDRAT TINGGI PROTEIN MENURUNKAN KADAR INSULIN PADA TIKUS MODEL SOPK-RESISTENSI INSULIN

Hany Puspita Aryani
STIKES Husada Jombang
e-mail: hanyuspita99@gmail.com

Abstract: Polycystic ovarium syndrome (PCOS) was an metabolic disorder and endocrine system, found the incidence of PCOS in women of reproductive age 5% -10% in the world. PCOS women awere often found in women who were overweight as much as 33% - 38% change in high calorie eating pattern trigger insulin resistance (IR) to aggravate the state of PCOS. The purpose of this study was to determine the effect of a low carbohydrate high protein (LCHP) diet on decreasing insuli levels in the PCOS-IR model. The study was a true post test only control design laboratory experiment divided into three groups; negative control group (K - / mice without treatmet give standart feed); positive control group (K+/ PCOS-IR mice model were given standart feed) and treatmen group (P / PCOS-IR mice model were given diet LCHP) for 48 days. The analysis used was the Anova and Post Hoc tests, the results of the study mean values, K- of 18.21, K + of 12.66 and P 13.7 analysis of ANOVA test $p = 0.001$ showed that there were significant differences between the RKTP diet with insulin levels $p < 0.05$. It was proven that the RKTP diet can reduce insulin levels so that it was expected to reduce the risk of infertility in PCOS patients.

Keywords: LCHP, insulin resistance and insulin levels

Abstrak: Sindrom ovarium polikistik (SOPK) merupakan adanya gangguan metabolik dan sistem endokrin, ditemukan kejadian SOPK pada wanita usia reproduksi 5% - 10% di dunia. Wanita SOPK sering dijumpai pada wanita dengan kelebihan berat badan sebanyak 33% - 38%. Perubahan pola makan mengkonsumsi tinggi kalori memicu resistensi insulin (RI) memperparah keadaan SOPK. Tujuan penelitian ini mengetahui efek diet rendah karbohidrat tinggi protein (RKTP) terhadap penurunan kadar insulin pada model SOPK -RI. Penelitian *true eksperimen* laboratorik *post test only control design* yang dibagi menjadi tiga kelompok; Kelompok kontrol negatif (K- / tikus tanpa perlakuan diberi pakan standar); Kelompok kontrol positif (K+/ tikus model SOPK S-RI diberi pakan standar) dan Kelompok perlakuan (P/ tikus model SOPK diberi RKTP) selama 48 hari. Analisis yang digunakan adalah uji Anova dan *Post Hoc*, hasil penelitian nilai rata-rata, K- sebesar 18,21, K+ sebesar 12,66 dan P 13,7 analisis uji anova $p = 0,001$ menunjukkan ada perbedaan bermakna antara pemberian diet RKTP dengan kadar insulin $p < 0,05$. Hal ini terbukti diet RKTP dapat menurunkan kadar insulin sehingga diharapkan dapat mengurangi resiko infertilitas pada pasien SOPK.

Kata Kunci: RKTP, resistensi insulin dan kadar insulin

PENDAHULUAN

Sindroma ovarium polikistik (SOPK) merupakan kelainan metabolik dan endokrin dengan ditandai amenorrhea, oligomenorrhea, anovulasi, hirsutisme, acantosis nigrican dan infertilitas di dunia di temukan 5%-10% pada wanita usia subur (Azziz, 2006). Kegagalan ovulasi pada SOPK merupakan salah satu penyebab infertilitas dengan karakteristik kegemukan, hiperandrogen dan resistensi insulin.

Diyakini penyebab SOPK sampai saat ini belum jelas, beberapa pendapat menyatakan resistensi insulin sebagai *principal underlying etiologic factor*, hal ini dibuktikan tinggi angka kejadian resistensi insulin pada penderita SOPK S sekitar 50%-80% (Dumitrescu; Mehedintu; Briceag; Purcarea; Hudita, 2014).

Pola konsumsi masyarakat Indonesia pun mengalami perubahan dimana jumlah

asupan kalori berlebih dari kebutuhan tubuh dan rendahnya kegiatan aktivitas bergerak tidak melakukan olah raga sehingga berakibat resiko terjadi obesitas. Pada obesitas mempengaruhi pada jumlah dan distribusi lemak tubuh, obesitas sering terjadi gangguan ovulasi dikarenakan hyperandrogenemia, peningkatan kadar *luteinizing hormone* (LH) dibandingkan *follicle stimulating hormone* (FSH). Tinggi kalori berdasarkan data saat ini, konsumsi makanan kalori termasuk karbohidrat setiap tahun menunjukkan adanya peningkatan (Bibra, et.al., 2014).

Penambahan kalori diketahui dapat menimbulkan gangguan metabolisme, gangguan lipid, gangguan oksidasi dan gangguan penggunaan *fatty acid*. Penelitian sebelumnya terkait upaya preventif, banyak yang fokus pada pembatasan (retriaksi) kalori dalam menunjukkan hasil positif memperbaiki kondisi metabolisme khususnya resistensi insulin. Rekomendasi *Reproductive Medicine American* (RMA) pada pasien SOPK dengan resistensi insulin sebaiknya mengkonsumsi 40% karbohidrat, 30% protein dan 30% lemak, yang akan meningkatkan sensitivitas insulin, uptake glukosa (Łucja, Teresa, Marta, Krystyna, Henryk, 2014). Diet rendah karbohidrat menurunkan kadar insulin, peningkatan *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) dalam hati, menekan produksi androgen ovarium yang akan meningkatkan aromatase di sel granulosa sehingga terjadi folikulogenesis (Rojas, et.al., 2014).

Modifikasi gaya hidup merupakan salah satu terapi non farmakologi terkait gangguan metabolik dan endokrin seperti obesitas, resistensi insulin dan SOPK. Penurunan berat badan terbukti mengurangi androgen dan memiliki efek positif pada kesuburan pada PCOS obesitas (Fleischman, 2005). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek diet rendah karbohidrat tinggi protein terhadap kadar insulin pada tikus model SOPK-resistensi insulin.

METODE

Design yang digunakan true eksperimental laboratorik adalah *post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus betina (*Rattus norvegicus*) dengan berat badan 100-200gr, masing-masing kelompok terdiri 6 ekor sehingga memerlukan 18 ekor. Teknik pembuatan tikus model SOPK - resistensi insulin menggunakan *testosteron propionate* yang diinjeksi intramuscular sehari sekali sebanyak 0,1ml selama 28 hari (Belooskey, 2010). Telah melalui tes kelayakan etis untuk penelitian ini oleh komite etik di Universitas Airlangga Fakultas Kedokteran Hewan dengan no sertifikat 2.KE.062.04.2019. Terdiri tiga kelompok yaitu, kelompok kontrol negatif (K-) sebagai kelompok normal tidak mendapat perlakuan, kelompok kontrol positif (K+) tikus model SOPK-resistensi insulin diberi pakan standar dan kelompok perlakuan (P) tikus model SOPK-resistensi insulin diberi diet rendah karbohidrat tinggi protein (RKTP), mengacu pada RMA (2011) komposisi 40% karbohidrat, 30% protein dan 30% lemak selama 20 hari. Setelah hari ke 48 dilakukan pembedahan dengan pengambilan serum melalui jantung dan mengambil jaringan ovarium tikus. Pemeriksaan serum menggunakan ELISA pada kadar insulin (Kit insulin Termo Scientific USA No. 743021419). Dilakukan di laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Pengukuran Kadar Insulin dengan ELISA. Pengambilan serum dari jantung *Rattus norvegicus* post perlakuan hari ke 48. Pemeriksaan kadar insulin dilakuakn dengan menggunakan ELISA (Termo Scientific, USA No. 743021419). Teknik pemeriksaan ELISA Enzim yang digunakan untuk melabel antibody adalah *Horseadish geroksidase*. Pada ELISA bahan yang dideteksi sebelumnya harus ditempelkan pada fase padat (pada *microtiter well*). Bahan (Ag/Ab) dapat menempel pada *microtiter well* ini telah dilapisi dengan *polysterine* atau

polyvinylchloride. Prinsip dasar ELISA terdiri dari a) Fase coating, b) Fase reaksi Ag-Ab, c) Fase reaksi kimiawi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh diet rendah karbohidrat tinggi protein terhadap penurunan kadar insulin. Variabel kadar insulin dilakukan uji menggunakan analisis normalitas apabila hasilnya berdistribusi normal $p > 0,05$ maka dilanjutkan analisis uji Anova untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang kemudian dilanjutkan dengan uji komparasi post hoc LSD untuk memperjelas perbedaan masing-masing kelompok. Penelitian ini menggunakan tingkat kemaknaan 0,05 (5%) sehingga bila dalam uji statistik didapatkan $p < 0,05$ dikatakan bermakna menunjukkan ada pengaruh, sedangkan bila $p > 0,05$ dikatakan tidak bermakna menunjukkan tidak ada pengaruh.

Tabel 1 Analisis Normalitas Kolmogorov Smirnov

Variabel	Sampel	Mean	Min	Mak	p
Kadar insulin	18	14,87	10,59	23,62	0,200*

Keterangan: p = signifikansi, yang bertanda * berdistribusi normal $p > 0,05$

Pada tabel di atas menunjukkan data berdistribusi normal $p > 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan analisis Anova.

Analisis Kadar Insulin

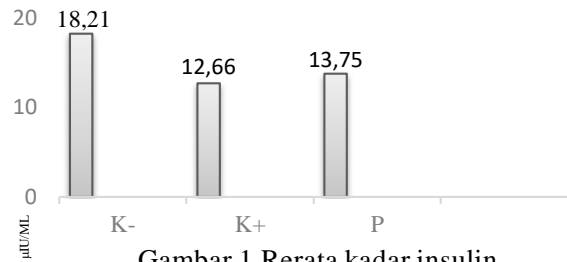
Tabel 2 Analisis Anova Kadar Insulin

Variabel	Kel.	Mean	SD	Tingkat kepercayaan 95%		p
				Batas bawah	Batas atas	
Kadar insulin	K-	18,21	2,71	15,36	21,06	0,001
	K+	12,66	1,99	10,57	14,75	
	P	13,75	0,76	12,95	14,56	

Keterangan: p = signifikansi, SD = standar deviasi

Tabel 2 menunjukkan Kadar insulin serum diambil pada saat *post*, dapat di lihat pada tabel 2 dinyatakan berdistribusi normal dengan $p = 0,200$. Perbedaan bermakna

kadar insulin terjadi pada antar kelompok dengan analisis Anova dengan signifikansi $p = 0,001$.



Gambar 1 Rerata kadar insulin

Pada gambar di atas menunjukkan diagram batang dari rerata kadar insulin yang terendah pada kelompok kontrol positif tidak jauh berbeda dengan kelompok perlakuan, bagaimana pun hal tersebut menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok $p = 0,001$.

Analisis Post Hoc

Dari ketiga kelompok didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) pada kadar insulin. Kemudian dilanjutkan dengan menggunakan analisis *post hoc least significant difference* (LSD) sebagai uji beda antar kelompok pada variabel kadar insulin, dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3 Analisis Post Hoc Least Significant Difference (LSD) Kadar Insulin

Variabel	Kelompok	Sampel	Mean	p
Kadar insulin	K-	2	5,54*	0,000
		3	4,45*	0,002
	K+	1	-5,54*	0,000
		3	-1,09	0,356
	P	1	-4,45*	0,002
		2	1,09	0,356

Keterangan: p = signifikansi, yang bertanda **mean difference* dengan $p < 0,05$

Tabel 3 hasil analisis *post hoc* perbandingan kadar insulin pada kelompok kontrol dan perlakuan terdapat perbedaan bermakna dan yang paling berbeda antara kelompok kontrol negatif sampel 2 dan kelompok kontrol positif 1, dengan signifikansi 0,000, kelompok perlakuan sampel 1 dan kelompok kontrol negatif sampel 3 dengan signifikansi 0,002

didapatkan $p < 0,005$. Pemberian diet rendah karbohidrat tinggi protein memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar insulin pada kelompok perlakuan.

Pembahasan

Kadar insulin diambil setelah akhir perlakuan pada kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok, meskipun rerata pada kelompok kontrol positif lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan. Apabila diamati perbedaan rerata antara kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan tidak berbeda jauh, hal tersebut menunjukkan bahwa diet rendah karbohidrat tinggi protein pada tikus model SOPK - resistensi insulin dapat mengakibatkan perubahan kadar insulin yang lebih besar, oleh karenanya diet rendah karbohidrat tinggi protein mungkin dapat bermanfaat dalam regulasi kadar insulin pada penderita SOPK - resistensi insulin. Selaras dalam Juan (2016) diet tinggi karbohidrat tinggi dapat meningkatkan kadar insulin dan glukosa postprandial. Lipoprotein kaya trigliserida juga meningkat, yang mengganggu transportasi kolesterol terbalik menurunkan LDL. Selain itu, diet kaya karbohidrat dapat memindahkan lemak dari perifer ke endapan sentral dan mengurangi aktivitas adiponektin dalam jaringan adiposa perifer. Hal tersebut dapat diperbaiki dengan diet kaya asam lemak tak jenuh tunggal, dengan peningkatan porsi asam lemak ω -3 dan ω -6 dapat menurunkan kadar trigliserida, dan melengkapi diet sehat yang direkomendasikan pada pasien dengan sindroma metabolik.

Beberapa teori dalam penelitian salah satunya Lisa, Jean, Gilles, Daniel, (2006) kandungan karbohidrat dalam makanan menentukan tingkat aktivitas glukogenik dan adipositas, karbohidrat adalah sekretagog utama insulin yang merangsang penyimpanan lemak. Jika kandungan karbohidrat tinggi akan menyebabkan adipositas dengan mengurangi asupan karbohidrat secara langsung, apabila

karbohidrat dalam makanan rendah maka insulin akan rendah dan oksidasi lipid meningkat yang menekan pengendapan lemak, menurunkan ekspresi dan aktivitas sintesis asam lemak kemudian mengurangi adiposit dan massa lemak. Insulin umumnya mempunyai efek anabolik terhadap metabolisme protein, yaitu merangsang sintesis protein dan menghambat proses penguraian protein. Insulin menstimulasi pengambilan asam amino oleh otot, yaitu suatu efek yang tidak berkaitan dengan pengambilan glukosa atau dengan penyatuan selanjutnya asam amino ke dalam protein. Efek protein terhadap sintesis protein yang umum di dalam otot rangka serta jantung dan di dalam hati diperkirakan terjadi pada tingkat translasi *messenger ribonucleat acid* (mRNA). Sesuai dengan penelitian Sah, Singh, Choudhary, Kumar, (2016) pada resistensi insulin dengan obesitas terjadi penekanan metabolit intraselular *diacylglycerol* (DAG) yang menghambat aktivasi protein kinase C (PKC) dan aktivasi serine kinase yang selanjutnya meningkatkan fosforilasi *tyrosine IRS*, kemudian menekan produksi aktivitas inflamasi melalui jalur aktivasi $\text{NF}\kappa\text{B}$ (Sah et. al., 2016). Perbaikan insulin dengan peningkatan uptake glukosa oleh sel otot skeletal dan adiposit melalui *protein glucose transporter* (GLUT) serta mampu berikatan reseptor insulin di membran plasma sehingga sel target dapat berfungsi. Juan (2016) mengkonsumsi tinggi protein dan rendah indeks glikemik dapat menurunkan akumulasi lemak pada otot dan berdampak pada hilangnya lemak tubuh sehingga dapat mengurangi berat badan.

SIMPULAN DAN SARAN

Diet rendah karbohidrat tinggi protein melalui mekanisme jalur insulin pada mekanisme endokrin mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan menghambat sekresi insulin dan androgen sehingga memperbaiki perkembangan folikel pada ovarium, serta dapat dipertimbangkan sebagai intervensi

pengembangan terapi SOPK-RI yang akan datang.

DAFTAR RUJUKAN

- American Society for Reproductive Medicine., 2012. Medication for inducing ovulation. a guide for patients, diunduh 29 Oktober 2018 <<http://www.reproductivefacts.org/html>>.
- Azziz, R. (2006). Diagnosis of Polycystic Ovarian Syndrome: The Rotterdam Criteria Are Premature. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 91, 781-785.
- Beloosesky, R., Gold, R., Almog, B., Sasson, R., Dantes, A., Land, B.A., Hirsh, L., et.al. (2004). Induction of polycystic ovary by testosterone in immature female rats modulation of opoptosis and attenuation of glucose insulin ratio, *International Journal Molecular Medicine*, 14, 207-215.
- Bibra H.V., Wulf G., John S.M., Pfützner A., Schuster T., Heilmeyer P., 2014. Low carbohydrate/high protein diet improves diastolic cardiac function and the metabolic syndrome in overweight-obese patients with type 2 diabetes.. *J. Metabolic and Endocrine* 2, 11-18.
- Dumitrescu, R., Mehedintu, C., Briceag, I., Purcarea, V., Hudita, D., 2014. The polycystic ovary syndrome: an update on metabolic and hormonal mechanisms. *Journal of Medicine and Life*, 8, 142-145.
- Fleischman A.M., 2005. Diagnosis and treatment of polycystic ovarian syndrome and insulin resistance. *J.Pediatric* 34:733-8, 741-2.
- Juan, A.P, J., 2016. Nutrition, insulin resistance and dysfunctional adipose tissue determine the different components of metabolic syndrome. *World J Diabetes*, 7, 483-514.
- Lisa, P., Jean, F.H., Gilles, F., Daniel, T., 2006. A High-Protein, High-Fat, Carbohydrate-Free Diet Reduces Energy Intake, Hepatic Lipogenesis, and Adiposity in Rats. *American Society for Nutrition*.
- Łucja, C.M., Teresa, G., Marta, K., Krystyna, C., Henryk, W., 2014. The use of low-carbohydrate diet in type 2 diabetes benefits and risks.
- Rojas J., Mervin C., Luis O., Milagros R., Jessenia M., José M., María C., Valmore B., 2014. Polycystic Ovary Syndrome, Insulin Resistance, and Obesity: Navigating the Pathophysiologic Labyrinth. *Hindawi Publishing Corporation International Journal of Reproductive Medicine*, pp.17.
- Sah, S. P., Singh, B., Choudhary, S. & Kumar, A. 2016. Animal Models of Insulin Resistance: a Review. *Pharmacological Reports* 68, 1165–1177.