

**PENGARUH VARIASI KOMPOSISI MAKRONUTRIEN DIET  
TERHADAP KADAR HORMON *INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR*  
(IGF-1) PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY**

**Skripsi**

untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Disusun Oleh:

**Rahmata Almas Sayyida**

**30101900159**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG**

**Semarang**

**2022**

**SKRIPSI**  
**PENGARUH VARIASI KOMPOSISI MAKRONUTRIEN DIET TERHADAP KADAR**  
**HORMON *INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR* (IGF-1) PADA TIKUS SPRAGUE**  
**DAWLEY**

Yang dipersiapkan dan disusun oleh  
**Rahmata Almas Sayyida**  
**30101900159**

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
pada tanggal 10 Oktober 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Susunan Tim Penguji**

Pembimbing I



dr. Nurina Tyagita, M. Biomed

Anggota Tim Penguji

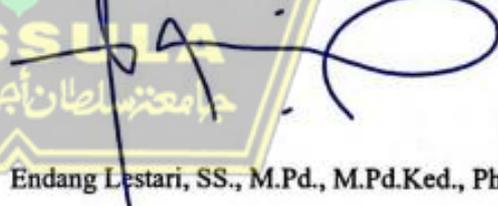


Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc., Sp. GK (K)

Pembimbing II



Azizan Hikma Safitri, S.Si., M.Si



Endang Lestari, SS., M.Pd., M.Pd.Ked., Ph.D

Semarang, 1 November 2022



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H, Sp. KF

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rahmata Almas Sayyida

NIM : 30101900159

Dengan ini menyatakan bahwa karya tulis yang berjudul:

**“PENGARUH VARIASI KOMPOSISI MAKRONUTRIEN DIET  
TERHADAP KADAR HORMON *INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR*  
(IGF-1) PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY”**

Adalah benar hasil karya saya dan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan tindakan plagiasi atau mengambil alih seluruh atau sebagian karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan tindakan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 13 September 2022



(Rahmata Almas Sayyida)

## PRAKATA

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh*

*Alhamdulillah* rabbil'alamin, puji syukur dilimpahkan kepada Allah SWT atas limpahan rahmat, nikmat serta hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul “Pengaruh Variasi Komposisi Makronutrien Diet Terhadap Kadar Hormon *Insulin-Like Growth Factor* (IGF-1) Pada Tikus Sprague Dawley”.

Shalawat serta salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, dan para peengikutnya yang senantiasa menegakkan sunnahnya.

Penelitian ini merupakan bagian dari penelitian payung dosen yang didanai dengan pendanaan internal Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Tujuan dari penyusunan Skripsi ini adalah untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh program pendidikan sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung. Atas selesainya penyusunan Skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S. H., Sp. KF., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. dr. Nurina Tyagita, M. Biomed., selaku dosen pembimbing I dan Ibu Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan serta semangat yang tidak ada habisnya dalam menyelesaikan Skripsi ini.

3. Dr. dr. Minidian Fasitasari, M.Sc., Sp. GK (K) dan Dr. Endang Lestari, SS., M.Pd., M.Pd.Ked., selaku penguji Skripsi ini yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam menyelesaikan Skripsi ini.
4. Bapak Yuli Yanto dan Staf Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini.
5. Kedua orangtua saya, Bapak Sugiyono dan Ibu Rumiwati serta keluarga besar yang tidak pernah lelah memberikan doa, dukungan serta semangat dalam menyelesaikan Skripsi ini.
6. Serta semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu, yang berperan penting dalam terselesaikannya Skripsi ini, terimakasih atas dukungan dan bantuannya dalam penyelesaian Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis sangat berterimakasih atas kritik dan saran yang berifat membangun. Besar harapan saya Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di semua disiplin ilmu serta bermanfaat bagi pembaca.

*Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

Semarang, 13 September 2022



(Rahmata Almas Sayyida)

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH.....	xii
INTISARI.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Hormon <i>Insulin Like Growth Factor-1</i> (IGF-1).....	7
2.2. Diet Tinggi Karbohidrat.....	16
2.3. Diet Gizi Seimbang.....	20
2.4. Diet Tinggi Protein.....	24
2.5. Diet Tinggi Lemak.....	28
2.6. Tikus Sprague Dawley.....	30
2.7. Hubungan antara Variasi Komposisi Makronutrien Diet dan Hormon IGF-1.....	32

2.8. Kerangka Teori.....	36
2.9. Kerangka Konsep .....	37
2.10. Hipotesis.....	37
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>38</b>
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian .....	38
3.2. Variabel dan Definisi Operasional .....	39
3.3. Subjek Uji.....	41
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	42
3.5. Cara Penelitian .....	43
3.6. Tempat dan Waktu.....	46
3.7. Alur Penelitian.....	47
3.8. Analisis Hasil .....	48
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>49</b>
4.1. Hasil Penelitian .....	49
4.2. Pembahasan.....	52
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>62</b>
5.1. Kesimpulan.....	62
5.2. Saran.....	63
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>64</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>71</b>
Lampiran 1. Hasil Analisis Statistik Kadar Hormon IGF-1 .....	71
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i> .....	73
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian di Pusat Studi Pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada .....	74
Lampiran 4. Surat Keterangan Bebas Penelitian .....	75

Lampiran 5. Dokumentasi ..... 76



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Kerangka Teori Penelitian.....	36
Gambar 2. 2 Kerangka Konsep Penelitian .....	37
Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian .....	38
Gambar 3. 2 Alur Penelitian.....	47



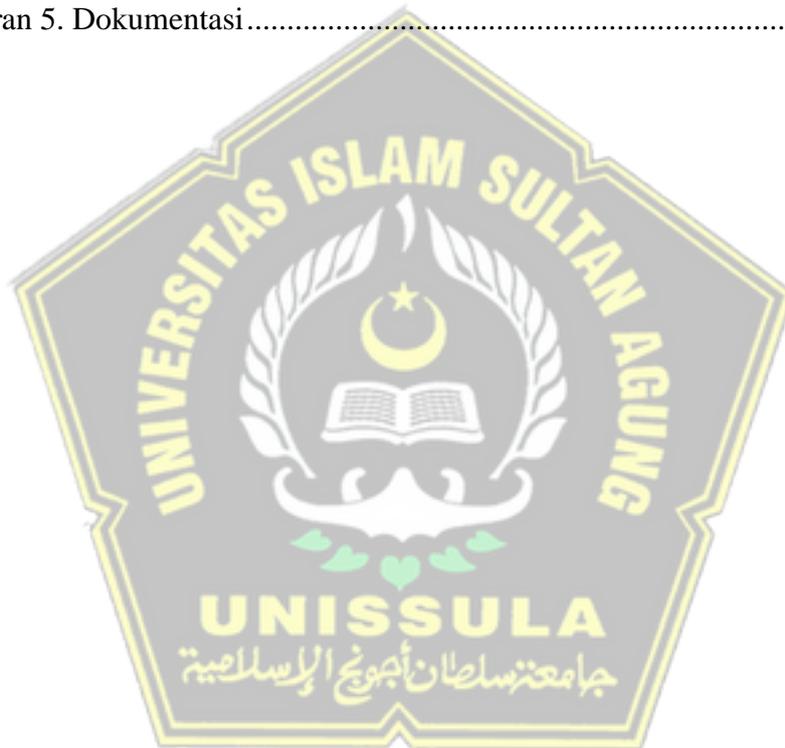
## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Formulasi Pakan Standar AIN-93M .....	31
Tabel 3.1 Modifikasi Formulasi AIN-93M.....	43
Tabel 4. 1 Hasil Perhitungan <i>Lee Index</i> di Akhir Perlakuan pada Seluruh Kelompok .....	50
Tabel 4. 2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> , Uji Homogenitas <i>Levene Test</i> , dan Uji <i>One Way Anova</i> Kadar Hormon IGF-1.....	51
Tabel 4. 3 Perbedaan Rerata Antar Kelompok Setelah Perlakuan.....	52



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Analisis Statistik Kadar Hormon IGF-1.....	71
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i> .....	73
Lampiran 3. Surat Izin Penelitian di Pusat Studi Pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada .....	74
Lampiran 4. Surat Keterangan Bebas Penelitian.....	75
Lampiran 5. Dokumentasi.....	76



## DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
BMD	: <i>Bone Mineral Density</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
FIA	: <i>Fluoroimmunoassays</i>
GH	: <i>Growth Hormone</i>
GHR	: <i>Growth Hormone Receptor</i>
GHRH	: <i>Growth Hormone Releasing Hormone</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IGF-1R	: <i>Insulin-like Growth Factor-1 Receptor</i>
IGFBP3	: <i>Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3</i>
IGFBPs	: <i>Insulin-like Growth Factor Binding Protein</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
IRMA	: <i>Immunoradiometric Assay</i>
PPAR	: <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor</i>
RIA	: <i>Radioimmunoassays</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
VO <sub>2</sub>	: <i>Volume Maksimal Oksigen</i>

## INTISARI

Hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) merupakan hormon anabolik yang berperan dalam regulasi metabolisme dan pertumbuhan, sehingga kadarnya dalam sirkulasi dipertahankan tetap stabil. Beberapa faktor dapat memengaruhi kadar hormon IGF-1, antara lain asupan makanan dan status nutrisi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi komposisi makronutrien diet terhadap kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada tikus Sprague Dawley.

Penelitian menggunakan *post-test only control group design*. Sebanyak 24 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley, usia 12 minggu, berat 200-250 gram dibagi secara random menjadi 4 kelompok yaitu kelompok diet gizi seimbang (DGS), kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK), kelompok diet tinggi protein (DTP), dan kelompok diet tinggi lemak (DTL). Setiap kelompok diberikan pakan modifikasi AIN-93M secara *ad libitum* selama 28 hari. Berat badan diukur pada masa adaptasi, dan setiap akhir pekan selama penelitian sedangkan panjang badan diukur pada akhir perlakuan untuk perhitungan *Lee index*. Kadar hormon IGF-1 diukur pada hari ke-29 dengan metode ELISA.

Hasil perhitungan *Lee index* didapatkan kelompok DTK dan DTL mengalami obesitas (indeks > 300). Hasil rerata kadar hormon IGF-1 kelompok DGS  $17,84 \pm 0,55$  pg/mL, DTK  $7,0 \pm 0,23$  pg/mL, DTP  $17,09 \pm 0,13$  pg/mL dan DTL  $10,80 \pm 0,57$  pg/mL. Data yang diperoleh, dianalisis dengan uji *One Way Anova*, hasilnya paling tidak terdapat dua kelompok dengan perbedaan rerata kadar IGF-1 ( $p < 0,05$ ). Uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan rerata kadar hormon IGF-1 antar kelompok ( $p < 0,05$ ). Masing-masing data dibandingkan dengan kelompok kontrol dengan rerata kadar hormon IGF-1  $19,0 \pm 0,08$  pg/mL.

Penelitian ini menunjukkan bahwa variasi komposisi makronutrien diet berpengaruh terhadap kadar hormon IGF-1 pada tikus Sprague Dawley.

**Kata kunci:** diet gizi seimbang, diet tinggi protein, diet tinggi karbohidrat, diet tinggi lemak, hormon IGF-1.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Makronutrien merupakan zat yang diperlukan tubuh untuk menghasilkan energi dan mencegah timbulnya suatu penyakit. Beberapa macam pengaturan komposisi makronutrien diketahui dapat meningkatkan kualitas hidup yang baik di usia lanjut, antara lain diet gizi seimbang, diet dengan tinggi karbohidrat, diet tinggi protein dan diet tinggi lemak. Masing-masing komposisi makronutrien tersebut dilaporkan dapat mempengaruhi beberapa hormon, antara lain adalah *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) (Lee *et al.*, 2015; Kazemi *et al.*, 2020). IGF-1 merupakan hormon anabolik yang disintesis di hepar dan berperan penting dalam metabolisme tulang dan menjaga *peak bone mass* (Maggio *et al.*, 2013; Locatelli dan Bianchi, 2014). Penurunan kadar hormon IGF-1 dalam sirkulasi dapat meningkatkan risiko osteoporosis dan fraktur pada usia lanjut. (Barclay *et al.*, 2019). Penurunan kadar IGF-1 juga dapat ditemukan pada penderita obesitas karena sekresi GH yang dihambat oleh peningkatan insulin (Lewitt *et al.*, 2014; Primariayu *et al.*, 2018). Pengaturan komposisi makanan yang tepat sangat dibutuhkan karena dapat memengaruhi kadar hormon IGF-1 yang berhubungan dengan risiko terkena osteoporosis dan obesitas. Sejauh ini masih sangat terbatas penelitian yang mengkaji mengenai variasi komposisi makronutrien diet terhadap kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1).

IGF-1 merupakan hormon anabolik yang berperan penting dalam regulasi metabolisme dan pertumbuhan, sehingga kadar IGF-1 dalam sirkulasi harus stabil. Beberapa faktor diketahui dapat mempengaruhi kadar hormon IGF-1, antara lain adalah asupan makanan, kadar hormon GH, kadar hormon insulin, usia dan status nutrisi (Calvez *et al.*, 2012; Blum *et al.*, 2018; Primariayu *et al.*, 2018). Yumani (2020) menyatakan, asupan tinggi protein, tinggi lemak dan tinggi karbohidrat berkorelasi positif dengan kadar IGF-1 (Yumani, Calor dan van Weissenbruch, 2020). Beberapa penemuan lain juga menjelaskan bahwa variasi komposisi makronutrien pada asupan makanan akan memengaruhi kadar IGF-1, sehingga diperlukan pengaturan komposisi makronutrien yang tepat agar kadar hormon IGF-1 tetap stabil (Primariayu *et al.*, 2018). Pengaturan komposisi makronutrien yang kurang tepat seperti pada individu dengan malnutrisi dilaporkan dapat menghambat aktivitas GH sehingga terjadi penurunan kadar IGF-1. Efek penurunan kadar IGF-1 dilaporkan dapat meningkatkan risiko terkena osteoporosis dan penyakit jantung (Livingstone, 2013; Blum *et al.*, 2018). Sampai saat ini penelitian tentang hubungan nutrisi dengan IGF-1 masih terbatas, hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi memberikan keterangan yang lebih jelas terkait hubungan IGF-1 dengan komposisi nutrisi.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, pengaturan komposisi makanan mempengaruhi kadar hormon IGF-1 dan berkorelasi terhadap perubahan massa dan kepadatan tulang (Maggio *et al.*, 2013; Primariayu *et al.*, 2018). Pengaturan komposisi makronutrien seperti diet gizi seimbang, diet dengan

tinggi karbohidrat, diet tinggi protein dan diet tinggi lemak diketahui belakangan ini populer karena efek yang ditimbulkan khususnya terhadap kadar hormon IGF-1. Diet dengan tinggi karbohidrat dapat meningkatkan efek metabolik seperti glukosa dan insulin di sirkulasi, yang berperan meregulasi sintesis IGF-1 di hepar. Apabila insulin meningkat, maka akan meningkatkan stimulasi GH yang berefek terhadap gen transkripsi dari IGF-1 sehingga IGF-1 akan meningkat (Primariayu *et al.*, 2018). Diketahui diet dengan gizi seimbang dapat meningkatkan sekresi hormon IGF-1 dan menurunkan risiko terkena malnutrisi ataupun obesitas, dimana dalam dalam kondisi obesitas dan malnutrisi kadar dan aktivitas biologis IGF-1 mengalami penurunan (Ban, 2018). Diet tinggi lemak diketahui mempengaruhi hormon IGF-1 dengan meningkatkan asam lemak bebas di dalam darah yang dapat menghambat sekresi hormon GH, sehingga total kadar IGF-1 juga mengalami penurunan (Primariayu *et al.*, 2018). Diet tinggi protein dapat meningkatkan kadar IGF-1 yang merupakan *bone growth promoting factor* sehingga massa tulang dapat dipertahankan pada usia lanjut dan mengurangi risiko terjadinya osteoporosis (Locatelli dan Bianchi, 2014).

Konsumsi karbohidrat dapat berefek secara tidak langsung ke IGF-1 melalui insulin, karena insulin akan meregulasi sintesis IGF-1 di hepar. Insulin yang tinggi akan meningkatkan stimulasi GH sehingga terdapat peningkatan sekresi dari IGF-1 (Lewitt *et al.*, 2014; Primariayu *et al.*, 2018). Protein juga mempunyai efek yang baik terhadap kadar IGF-1 karena akan menyediakan asam amino dan meningkatkan absorpsi kalsium sehingga kadar IGF akan

meningkat, yang kemudian dapat mempertahankan massa tulang pada usia lanjut, karena proses *bone turnover* lebih sering terjadi (Cuenca-Sánchez, Navas-Carrillo dan Orenes-Piñero, 2015). Berbeda halnya dengan lemak, adanya asupan lemak yang tinggi dapat meningkatkan asam lemak bebas di darah, sehingga dapat menghambat sekresi GH, yang menyebabkan penurunan sekresi dari IGF-1 (Primariayu *et al.*, 2018). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui variasi komposisi makronutrien yang memiliki efek paling baik terhadap kadar hormon IGF-1 yang kemudian akan menurunkan risiko terkena osteoporosis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh variasi komposisi makronutrien diet terhadap kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada tikus Sprague Dawley?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh variasi komposisi makronutrien diet terhadap kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada tikus Sprague Dawley.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada kelompok tikus yang mendapatkan diet gizi seimbang.

- b. Untuk mengetahui rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi karbohidrat.
- c. Untuk mengetahui rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi protein.
- d. Untuk mengetahui rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) pada kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi lemak.
- e. Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) antara kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi karbohidrat dengan yang mendapat diet gizi seimbang.
- f. Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) antara kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi protein dengan yang mendapat diet diet gizi seimbang.
- g. Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) antara kelompok tikus yang mendapatkan diet tinggi lemak dengan yang mendapat diet diet gizi seimbang.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan dan dasar penelitian lanjut mengenai pengaruh diet gizi seimbang, diet tinggi karbohidrat, diet tinggi protein, dan diet tinggi lemak terhadap kadar hormon IGF-1.

#### **1.4.2 Manfaat Praktis**

Memberikan informasi tentang pengaruh diet gizi seimbang, diet tinggi karbohidrat, diet tinggi protein dan diet tinggi lemak terhadap kadar hormon IGF-1 sehingga dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan untuk untuk mencegah dan mengurangi risiko terkena osteoporosis pada usia tua.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Hormon Insulin Like Growth Factor-1 (IGF-1)

##### 2.1.1. Definisi

Hormon *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) merupakan hormon anabolik yang utamanya disintesis di hepar dibawah kontrol dari *growth hormone* (GH) dan dahulu dikenal sebagai somatomedin C (Maggio *et al.*, 2013). IGF-1 merupakan protein yang terdiri dari 70 asam amino residu, yang juga dapat diproduksi di otot, tulang, dan otak yang beraksi secara parakrin dan autokrin (Yakar dan Adamo, 2017). IGF-1 memiliki 2 rantai yang dihubungkan dengan gugus sulfida, sama seperti insulin. Secara umum, GH mengatur efek IGF-1 sekaligus menjadi regulator utama sekresi IGF-1 di sel hepatosit hepar. Di samping itu, *tissue specific factor* dan GH akan meregulasi produksi IGF-1 di luar sel hepar (Lewitt, Dent dan Hall, 2014; Yakar dan Adamo, 2017). Rerata kadar hormon IGF-1 tikus Sprague Dawley yang berusia 12 minggu dengan kisaran berat badan 200-220 gram pada kelompok kontrol penelitian lain yaitu sebesar 19 pg/mL (Tyagita dan Safitri, tanpa tanggal).

##### 2.1.2. Faktor yang Memengaruhi *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1)

IGF-1 merupakan salah satu hormon yang berperan penting di dalam tubuh, sehingga konsentrasinya harus dipertahankan agar tetap stabil. Beberapa faktor diketahui dapat mempengaruhi kadar hormon IGF-1, di antaranya adalah pengaturan variasi komposisi makronutrien, pre dan *post-prandial*, kadar hormon GH, kadar hormon insulin, usia, status nutrisi, dan jenis kelamin (Cao dan Nielsen, 2010; Calvez *et al.*, 2012; Blum *et al.*, 2018; Primariayu *et al.*, 2018). Beberapa penelitian menjelaskan bahwa variasi komposisi makronutrien seperti asupan tinggi protein, tinggi lemak dan tinggi karbohidrat akan memengaruhi kadar IGF-1, sehingga diperlukan pengaturan komposisi makronutrien yang tepat agar kadar hormon IGF-1 tetap stabil (Primariayu *et al.*, 2018; Yumani, Calor dan van Weissenbruch, 2020). IGF-1 akan berikatan dengan sebuah protein yang disebut *insulin-like growth factor binding proteins* (IGFBPs) untuk menurunkan kadar IGF-1 bebas di dalam darah, dimana IGFBPs juga dapat diregulasi oleh nutrisi (Kazemi *et al.*, 2020). Beberapa penelitian juga menyebutkan bahwa terdapat perbedaan konsentrasi hormon IGF-1 baik pada keadaan sebelum maupun sesudah makan, pada keadaan sesudah makan ditemukan peningkatan kadar hormon IGF-1 diikuti dengan peningkatan kadar hormon insulin dan GH (Crosby *et al.*, 2019).

Hormon GH merupakan regulator utama hormon IGF-1 yang berada di hepar, sehingga adanya perubahan pada hormon GH akan

mempengaruhi kadar hormon IGF-1 (Maggio *et al.*, 2013). IGF-1 dilaporkan berhomolog dengan insulin, sehingga terdapat kompleks interaksi antara IGF-1 dan insulin, sehingga insulin juga dapat berikatan dengan IGF-1R. Tidak hanya berhomolog dengan hormon IGF-1, hormon insulin juga turut meregulasi aksi hormon IGF-1 di dalam hepar, sehingga apabila terjadi peningkatan insulin di dalam sirkulasi, maka akan berefek ke gen transkripsi IGF-1 sehingga kadar hormon IGF-1 akan meningkat (Primariayu *et al.*, 2018).

Usia lanjut merupakan onset awal terjadinya penurunan fungsi di berbagai organ, salah satunya penurunan kadar IGF-1. Diketahui individu dengan usia diatas 30 tahun akan mengalami penurunan kadar IGF-1 yang diikuti dengan kenaikan leptin, sehingga kepadatan tulang akan berkurang dan meningkatkan risiko terkena osteoporosis (Mishra *et al.*, 2015; Upadhyay, Farr dan Mantzoros, 2015). Peningkatan risiko osteoporosis juga terjadi pada penderita obesitas karena rendahnya kadar IGF-1 (Utami dan Kusumastuti, 2014).

Nutrisi menjadi salah satu regulator utama IGF-1 dalam sirkulasi, sehingga apabila terdapat asupan nutrisi yang tidak optimal maka akan memberikan efek negatif terhadap bioaktifitas hormon IGF-1 (Maggio *et al.*, 2013). Total kalori diketahui dapat memengaruhi kadar hormon IGF-1. Hal ini diperkuat oleh penelitian Hawkes dan Grimberg (2015) bahwa total kalori memiliki hubungan

positif terhadap kadar hormon IGF-1 karena nutrisi dapat meregulasi sintesis, sekresi serta konsentrasi IGF-1, sehingga apabila terdapat peningkatan total kalori karena asupan nutrisi yang meningkat dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi IGF-1 (Hawkes dan Grimberg, 2015). Penurunan asupan kalori terutama pada individu dengan kalori restriksi diketahui dapat mengakibatkan penurunan IGF-1 dalam sirkulasi yang ditandai dengan penurunan konsentrasi serum IGFBP-3 yang merupakan reseptor utama hormon IGF-1 (Maggio *et al.*, 2013).

Dilaporkan bahwa pada produksi IGF-1 bebas di hepar dan jaringan adiposa meningkat pada penderita obesitas, yang diikuti dengan peningkatan produksi insulin. Peningkatan produksi IGF-1 bebas akan merangsang *feedback negatif* GH sehingga menurunkan produksi IGF-1 juga. Asam lemak bebas yang meningkat di dalam darah juga berperan dalam penurunan IGF-1 karena akan menurunkan aktivitas hormon GH. Adanya penurunan kadar IGF-1 merupakan sebuah marker yang membuktikan bahwa risiko terkena osteoporosis berhubungan dengan obesitas (Primariayu *et al.*, 2018). Tidak hanya obesitas, malnutrisi pada individu juga dapat mempengaruhi kadar IGF-1. Melaporkan bahwa didapatkan peningkatan konsentrasi serum hormon GH dan penurunan produksi hormon IGF-1 yang berada di hepar pada individu dengan

malnutrisi, yang menunjukkan adanya resistensi hormon GH (Ban, 2018).

Jenis kelamin, menurut beberapa penelitian dilaporkan berhubungan dengan kadar IGF-1. Sekresi GH pada laki-laki berkaitan erat dengan kadar hormon testosteron, sehingga pada individu dengan hipogonadisme diperkirakan terdapat perubahan kadar hormon testosteron sehingga dapat meningkatkan serum IGF-1 dan GH secara signifikan. Remaja perempuan diketahui memiliki konsentrasi serum GH dua hingga tiga kali lipat dibandingkan dengan pria seusianya, sehingga ketika konsentrasi GH meningkat maka konsentrasi serum IGF-1 juga ikut meningkat. Di sisi lain dilaporkan bahwa estrogen ternyata dapat menurunkan produksi IGF-1 di hepar sebagai respon terhadap GH, karena IGF-1 mempunyai umpan balik negatif terhadap GH apabila produksi kadar hormon GH berlebihan (Bleach *et al.*, 2021).

### **2.1.3. Prinsip Kerja *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1)**

Prinsip aksi dari IGF-1 adalah mengontrol pertumbuhan dan homeostasis pada masa anak-anak hingga dewasa. IGF-1 berperan mempertahankan kepadatan tulang sehingga dikenal sebagai *bone growth promoting factor*. Sebuah penelitian melaporkan apabila kadar IGF-1 rendah di usia lanjut maka akan berhubungan dengan kejadian fraktur dan meningkatkan risiko terkena osteoporosis (Locatelli dan Bianchi, 2014). Konsentrasi hormon IGF-1 juga

dipengaruhi oleh irama sirkadian, penelitian oleh Wang (2021) melaporkan bahwa konsentrasi IGF-1 paling tinggi dalam serum adalah ketika siang hari, dan konsentrasi IGF-1 pada hepar paling tinggi adalah selama malam hari (Wang *et al.*, 2021). Penelitian lain juga menyampaikan bahwa makan dapat menstimulasi peningkatan kadar insulin pada sirkulasi dan konsentrasi IGF-1 bebas (Crosby *et al.*, 2019).

IGF-1 dalam mengekspresikan efeknya harus berikatan dengan reseptor, antara lain adalah *insulin-like growth factor binding protein* (IGFBPs), *insulin-like growth factor-1 receptor* (IGF-1R), dan insulin reseptor yang afinitasnya tidak sekuat IGF-1R dan IGFBPs. IGFBPs merupakan reseptor IGF-1 yang berada di plasma yang kemudian akan diedarkan ke jaringan dan diketahui mempunyai enam macam reseptor. IGFBP-3 merupakan salah satu reseptor yang diregulasi oleh GH mengikat 80% IGF-1 yang berada di sirkulasi, daripada reseptor IGF-1 lainnya. IGF-1R juga merupakan reseptor IGF-1 yang diekspresikan oleh semua jaringan dan sel selama embryogenesis. IGF-1R dalam mencetuskan sebuah efek harus berubah menjadi bentuk yang aktif dengan menginduksi autofosforilasi substrat tirosin dan melanjutkan kaskade aktivasi protein.

Insulin mempunyai keterkaitan dengan IGF-1 sehingga terdapat kompleks interaksi antara IGF-1 dan insulin yang

mengakibatkan insulin juga dapat berikatan dengan IGF-1R (Soto *et al.*, 2019). Tidak hanya insulin, namun hormon sistem gastrointestinal juga berhubungan dengan IGF-1, salah satunya adalah ghrelin. Ghrelin terlibat dalam GH/IGF-1 aksis yang merupakan suatu aksis atau sumbu endokrin yang terlibat dalam pertumbuhan somatik. Ghrelin disekresikan selama puasa dan akan memicu hormon GH melalui GHS-R yang selanjutnya dapat memicu sintesis dan sekresi IGF-1. Sekresi ghrelin diregulasi oleh hormon IGF-1 melalui umpan balik negatif (Hara *et al.*, 2014).

#### **2.1.4. Peran *insulin like growth factor-1* (IGF-1)**

IGF-1 seperti yang sudah dijelaskan sebelumnya, berperan dalam pertumbuhan tulang. GH sebagai regulator utama dari IGF-1 akan menstimulasi prekondrosit di kartilago secara langsung dan IGF-1 akan mulai menstimulasi sel setelah maturasi. Di sisi lain, GH akan menstimulasi sel progenitor di jaringan adiposa dan osteoblast untuk memproduksi matriks tulang melalui IGF-1. Setelah membentuk matriks tulang, osteoblast akan mengalami apoptosis dan menjadi osteosit yang akan merangsang proliferasi dan diferensiasi sel tulang. IGF-1 diketahui dapat menurunkan apoptosis dari osteoblast sehingga meningkatkan proses osteoblastogenesis. Berdasarkan sumber lain, hormon IGF-1 disebut sebagai *bone turnover* sehingga dapat menyeimbangkan antara resorpsi dengan

formasi tulang, namun peran IGF-1 dalam proses resorpsi belum diketahui dengan jelas (Locatelli dan Bianchi, 2014).

Peran hormon IGF-1 dapat dipengaruhi oleh konsentrasi dari hormon IGF-1 itu sendiri, adanya konsentrasi yang berlebihan atau bahkan kekurangan akan mengakibatkan efek yang berbeda. IGF-1 yang diproduksi secara berlebihan akan mengakibatkan keadaan yang disebut sebagai akromegali. Akromegali merupakan suatu penyakit dengan progresivitas yang lambat karena produksi hormon GH dan hormon IGF-1 yang berlebihan di sirkulasi (Akirov *et al.*, 2021). Kekurangan hormon IGF-1 juga akan menyebabkan beberapa efek yang dapat menurunkan kualitas kehidupan, salah satunya adalah osteoporosis. Locatelli (2014) menyebutkan, adanya kadar hormon IGF-1 yang rendah pada lanjut usia berhubungan dengan risiko terjadinya fraktur dan osteoporosis karena terjadi penurunan pembentukan matriks tulang (Locatelli dan Bianchi, 2014).

#### **2.1.5. Pengukuran kadar hormon IGF-1**

Hormon *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) merupakan hormon yang berperan meregulasi pertumbuhan dan perkembangan, sehingga pengukuran kadar IGF-1 dapat dimanfaatkan untuk mengetahui adanya gangguan yang berhubungan dengan pertumbuhan dan perkembangan. Teknik pengukuran IGF-1 mengalami perkembangan dari tahun ke tahun, namun *immunoassay*

masih menjadi metode utama dalam pengukuran kadar hormon (Stoeva *et al.*, 2015).

Pengukuran kadar hormon IGF-1 yang sering digunakan antara lain *radioimmunoassays* (RIA), *immunoradiometric assays* (IRMA), *fluoroimmunoassays* (FIA), dan *enzyme immunoassays* (EIA) atau *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Beberapa metode ini cukup bervariasi dalam karakteristik pengujian, sehingga sering terjadi perubahan nilai referensi karena perubahan karakteristik pada masing-masing metode dan masih menjadi kontroversi dalam penafsiran konsentrasi hormon IGF-1 yang akurat (Bedogni *et al.*, 2012).

Prinsip pengukuran kadar hormon IGF-1 dengan menggunakan *immunoassay* yaitu penempelan *epitope* pada permukaan spesifik antibodi yang akan diterjemahkan menjadi suatu sinyal yang akan terukur. Berdasarkan mengekspresikan efek IGF-1, hormon tersebut akan berikatan dengan reseptor IGF-BPs. Aanya IGF-BPs yang berikatan dengan IGF-1 akan menutupi pengenalan *epitope* oleh spesifik antibodi pada *assay* sehingga dapat menyebabkan nilai negatif palsu. Dua tahap yang harus dilakukan sebelum pengukuran IGF-1 yaitu memisahkan IGF-1 dengan IGF-BPs dan menghilangkan IGBPs untuk mencegah penempelan kembali. *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) dikembangkan untuk menggantikan metode *radioimmunoassays*

(RIA) karena memiliki sensitivitas yang lebih tinggi serta lebih aman dibandingkan RIA. Diketahui ELISA kemampuan dalam menghilangkan ikatan IGFBPs dan IGF-1 serta menghilangkan IGFBPs secara lengkap sehingga *epitope* dapat berikatan dengan antibodi spesifik. Menurut Stoeva (2015), nilai rerata IGF-1 yang diperoleh dengan metode ELISA lebih tinggi daripada IRMA (Stoeva *et al.*, 2015)

Prosedur ELISA dimulai dengan proses *coating*, yaitu antigen atau antibodi dimobilisasi dalam 96-well polystyren plate dan dilanjutkan dengan proses *blocking*. Proses *blocking* dilakukan untuk menutupi bagian yang tidak terdapat antigen atau antibodi dengan menggunakan reagen *blocking*. *Plate* diinkubasi dengan antibodi yang terkonjugasi dengan enzim, selanjutnya *plate* dicuci untuk menghilangkan antibodi yang tidak berikatan. Substrat ditambahkan kedalam *plate* yang menyebabkan perubahan warna pada cairan, lalu dibaca dengan menggunakan *microplate reader* atau *ELISA reader* (Kumar *et al.*, 2014; Stoeva *et al.*, 2015).

## 2.2. Diet Gizi Seimbang

### 2.2.1. Definisi

Makanan sehari-hari yang dikonsumsi oleh seseorang terdiri atas berbagai macam tipe nutrisi. Sarwar (2015) melaporkan terdapat 2 tipe nutrisi secara garis besar, yaitu makronutrien yang dibutuhkan

dalam jumlah yang relatif besar dan mikronutrien yang dibutuhkan dalam jumlah kecil (Sarwar, M. H., et al., 2015). Terlalu banyak mengonsumsi salah satu jenis nutrisi dan mengesampingkan jumlah nutrisi yang lain, akan mengakibatkan ketidakseimbangan diet pada seseorang.

Berbagai efek buruk seperti anemia dan beberapa penyakit kronik diketahui dapat ditimbulkan dari diet yang tidak seimbang, sehingga dibutuhkan salah satu intervensi yaitu menyeimbangkan asupan nutrisi dalam tubuh atau dengan mengonsumsi gizi yang seimbang. Gizi seimbang diperoleh berdasarkan jumlah nutrisi yang direkomendasikan oleh ahli kesehatan yang harus dikonsumsi dalam jumlah yang cukup (Sarwar, 2013). Pemerintah Indonesia menetapkan pedoman konsumsi makanan bagi masyarakat umum sehingga dapat mencapai gizi seimbang yang disusun dalam Pedoman Umum Gizi Seimbang (PUGS). Menurut PUGS anjuran sumber energi yang tepat atau seimbang adalah sekitar 60-75% berasal dari karbohidrat, sekitar 10-15% bersumber dari protein, dan sekitar 10-25% berasal dari lemak (Magdalena dan Suryani, 2016). Sejalan dengan PUGS, Lim Soo (2018) melaporkan bahwa gizi seimbang terdiri atas 55% karbohidrat, 20% protein dan 25% lemak yang berperan dalam pencegahan penyakit kronik (Lim, 2018). Penelitian ini sendiri akan menggunakan diet gizi seimbang dengan

komposisi karbohidrat sebesar 60%, protein 15%, dan lemak sebesar 25%.

### **2.2.2. Efek Diet Gizi Seimbang secara Umum**

Menurut *Korean Nutrition Society*, kebiasaan diet harus diperbaiki sesuai dengan diet gizi seimbang yaitu harus mencakup 55-65% karbohidrat, 7-20% protein dan 15-30% lemak bagi dewasa. Ditambahkan oleh *Korean Dietary Reference Intake*, bahwa diet gizi seimbang tidak hanya menekankan pada kuantitas serta kualitas gizi, namun juga asupan cairan yang cukup serta aktivitas fisik yang reguler sehingga dapat mempertahankan kesehatan (Lim, 2018). Diketahui diet gizi seimbang mempunyai manfaat, salah satunya dapat membantu mengontrol obesitas, hipertensi dan dislipidemia (Solon-Biet *et al.*, 2015).

Diet yang tidak seimbang seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, diketahui mengakibatkan beberapa efek buruk bagi tubuh, diantaranya adalah anemia, bayi dengan kelahiran prematur, kebutaan dan beberapa penyakit yang mengancam kesehatan seperti diabetes, penyakit jantung dan osteoporosis (Sarwar, M. H., et al., 2015).

### **2.2.3. Efek Diet Gizi Seimbang terhadap Kadar IGF-1**

Sejalan dengan efek baik yang ditimbulkan oleh diet gizi seimbang, pada penelitian Ban dan Zhao (2018) juga menyebutkan terdapat korelasi positif antara diet gizi seimbang dengan kadar

hormon IGF-1 (Ban, 2018). Disatu sisi, diketahui diet yang tidak seimbang dapat mengakibatkan malnutrisi bahkan overnutrisi atau obesitas. Beberapa penelitian pada individu dengan malnutrisi didapatkan adanya peningkatan konsentrasi serum GH dan penurunan produksi hormon IGF-1 di hepar, hal ini menunjukkan adanya resistensi hormon GH (DeBoer *et al.*, 2017; Chouliaras *et al.*, 2018). Diketahui dalam keadaan malnutrisi terdapat perubahan aksis GH/IGF-1 termasuk terjadi penurunan ekspresi *growth hormone receptor* (GHR) dan IGF-1 yang berada di hepar, yang mengakibatkan dekomposisi IGF-1 yang cepat sehingga terjadi penurunan aktivitas biologis IGF-1 (Fuentes *et al.*, 2012; Bilen *et al.*, 2014).

Overnutrisi atau obesitas dilaporkan juga menjadi salah satu efek diet yang tidak seimbang. Individu dengan obesitas diketahui mempunyai kadar GH yang rendah karena peningkatan indeks massa tubuh (IMT) dapat menurunkan sekresi hormon GH sekitar 6%. Mekanisme lain menyebutkan obesitas dapat meningkatkan regulasi hormon somatostatin dan melemahkan regulasi *growth hormone releasing hormone* (GHRH), selain itu diketahui juga terdapat resistensi insulin yang berpengaruh terhadap penurunan sekresi hormon GH (Ban, 2018). Efek nutrisi terhadap kadar hormon IGF-1 pada individu dengan obesitas masih terus dikaji karena dilaporkan kadar IGF-1 dapat rendah, atau normal dan bahkan tinggi.

## 2.3. Diet Tinggi Karbohidrat

### 2.3.1. Definisi

Karbohidrat merupakan salah satu sumber nutrisi yang paling banyak dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Karbohidrat dalam makanan diserap ke dalam aliran darah sebagai glukosa yang dibentuk melalui hidrolisis pati, yang selanjutnya dicerna dan beredar di sirkulasi (Rodwell *et al.*, 2015). Buyken (2018) mengemukakan bahwa rekomendasi asupan sehari-hari untuk karbohidrat adalah antara 45-65% dari total energi pada orang dewasa (Buyken *et al.*, 2018). Beberapa penelitian tentang diet tinggi karbohidrat diketahui menggunakan komposisi makronutrien 50-70% untuk karbohidrat (Kaklamani *et al.*, 2016). Sementara dalam penelitian ini akan menggunakan diet tinggi karbohidrat dengan komposisi makronutrien 70% karbohidrat, 20% protein dan 10% lemak, dengan pertimbangan bahwa masyarakat Indonesia secara umum mengonsumsi karbohidrat yang tinggi.

### 2.3.2. Efek Diet Tinggi Karbohidrat secara Umum

Penelitian yang dilakukan oleh Mutiyani (2014) melaporkan bahwa pemberian diet tinggi karbohidrat dengan komposisi 50% karbohidrat dan 24% lemak serta diet tinggi lemak selama 8-16 minggu dapat menginduksi terjadinya obesitas, dislipidemia, hipertensi, gangguan glukosa dan disfungsi endotel. Semakin tinggi

konsumsi karbohidrat maka akan semakin banyak glukosa yang diangkut oleh hepar sehingga terjadi peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah. Konsentrasi glukosa dalam darah yang tinggi akan menstimulasi sel beta pankreas untuk menghasilkan insulin dan menghambat pelepasan glukagon oleh sel alfa pancreas (M. Mutiyani *et al.*, 2014). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Seidelmann (2018), yang menyatakan diet tinggi karbohidrat dan tinggi lemak menstimulasi terjadinya sindrom metabolik (Seidelmann *et al.*, 2018). Hasil yang kontras ditemukan oleh Genton (2011) bahwa diet tinggi karbohidrat dilaporkan mempunyai kemampuan menginduksi sekresi insulin, menurunkan glikogenolisis dan lipolisis, serta menstimulasi pelepasan *counter regulatory hormones* yang digunakan untuk meningkatkan katabolisme *fat free mass*, sehingga dapat menurunkan berat badan dan menurunkan risiko sindrom metabolik (Genton, 2011).

Efek samping yang ditimbulkan oleh diet tinggi karbohidrat menyebabkan diet rendah karbohidrat akhir-akhir ini menjadi populer karena dapat menginduksi penurunan berat badan secara cepat, meskipun masih belum diketahui efek jangka panjang bagi kesehatan (Seidelmann *et al.*, 2018). Diet rendah karbohidrat (<100g/hari) diketahui dapat memicu ketosis sehingga terjadi penurunan berat badan dalam jangka pendek (Nurseto *et al.*, 2019). Meskipun begitu, pada individu dengan obesitas masih belum

ditemukan variasi komposisi diet yang dapat mempertahankan dan mengendalikan respon hormon kenyang (Rizi *et al.*, 2018).

### **2.3.3. Efek Diet Tinggi Karbohidrat terhadap Kadar IGF-1**

Karbohidrat merupakan salah satu bahan makanan utama yang diperlukan tubuh dan mempunyai banyak manfaat, antara lain sebagai bahan bakar metabolik utama terutama bagi otak dan otot dalam bentuk glukosa, mencegah pembentukan badan keton yang mengakibatkan ketosis dan mempertahankan stabilitas kadar IGF-1 (Giovannucci *et al.*, 2003; Genton, 2011; Geng *et al.*, 2021).

Diet tinggi karbohidrat kemudian digunakan karena dipercaya dapat mempertahankan sensitivitas GH yang berada di liver, sehingga kadar IGF-1 juga ikut stabil (Primariayu *et al.*, 2018). Primariayu (2018) kembali menyampaikan bahwa diet tinggi karbohidrat juga dapat meningkatkan efek metabolik seperti glukosa dan insulin, sehingga kadar IGF-1 dapat dipertahankan dan bahkan meningkat. Perubahan asupan karbohidrat secara tidak langsung dapat berefek ke kadar hormon IGF-1 melalui insulin, karena sintesis IGF-1 juga diregulasi oleh hormon insulin yang berada di hepar. Oleh karena itu, adanya peningkatan asupan karbohidrat akan meningkatkan kadar insulin di sirkulasi yang juga akan meningkatkan stimulasi hormon GH, sehingga kadar IGF-1 meningkat. Di sisi lain, karbohidrat yang dikonsumsi secara berlebih akan mengakibatkan efek yang kurang baik bagi tubuh, meskipun

diketahui banyak manfaat yang dihasilkan terutama bagi IGF-1 (Primariayu *et al.*, 2018).

Hasil yang kontras ditunjukkan oleh Kasprzak (2021) bahwa kadar hormon IGF-1 dapat mengalami peningkatan pada individu dengan diet tinggi protein dan diet tinggi lemak, sebaliknya mengalami penurunan pada individu dengan diet tinggi karbohidrat (Kasprzak, 2021). Takahashi (2017) menambahkan bahwa diet tinggi karbohidrat berhubungan erat dengan kadar glukosa di dalam darah. Hal ini berhubungan dengan peran hormon IGF-1 dalam mempertahankan homeostasis glukosa, termasuk dalam menghambat terjadinya intoleransi glukosa (Takahashi, 2017). Salah satu contohnya yaitu individu obesitas atau individu yang mengonsumsi diet tinggi karbohidrat dalam jangka panjang akan mengalami kondisi hipernutrisi dan hiperinsulinemia, dimana keadaan ini mengakibatkan pengeluaran hormon IGF-1 oleh hepar dan menghambat sekresi GH, namun apabila hal ini terjadi dalam jangka panjang maka hormon IGF-1 akan bekerja secara berlebihan sehingga dapat mengalami kegagalan sintesis yang pada akhirnya akan terjadinya penurunan kadar hormon IGF-1 (Dogansen *et al.*, 2018). Di sisi lain, hormon IGF-1 berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan sensitivitas insulin, maka ketika terjadi penurunan kadar hormon IGF-1, kadar glukosa di dalam darah mengalami peningkatan dan terjadi resistensi insulin yang

kemudian dapat meningkatkan risiko terjadinya penyakit diabetes melitus tipe II (Faerch *et al.*, 2012; Friedrich *et al.*, 2012).

## 2.4. Diet Tinggi Protein

### 2.4.1. Definisi

Protein adalah makromolekul yang kompleks secara fisik dan fungsional. Peran protein dalam tubuh sangat banyak dan penting antara lain untuk mempertahankan bentuk sel dan integritas fisik, menyusun filamen aktin miosin yang berperan dalam kontraktilitas otot serta menyusun hemoglobin sebagai pengangkut oksigen (Rodwell *et al.*, 2015). Protein sebagai salah satu nutrisi esensial yang memfasilitasi pertumbuhan dan perkembangan, harus diperhatikan asupannya untuk mencegah defisiensi protein. Rekomendasi asupan protein yang diizinkan bagi dewasa adalah 0,80 g/kgBB/hari (Loss, 2020). Penelitian dengan diet tinggi protein yang akan dilakukan bersumber dari beberapa penelitian diet tinggi protein sebelumnya yang menggunakan komposisi makronutrien 20-30% untuk protein, sehingga komposisi makronutrien yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30% karbohidrat, 45% protein dan 25% lemak (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015; Loss, 2020).

Protein tersusun atas L-asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida dan terdiri atas unsur-unsur karbon, hydrogen, oksigen dan nitrogen. Unsur nitrogen merupakan unsur utama

protein karena menyusun 16% dari total berat protein. Sebagian besar protein sangat resisten terhadap pencernaan, namun setelah protein mengalami denaturasi oleh pajanan panas atau asam, kekuatan yang mempertahankan struktur protein menjadi lemah sehingga protein dapat dicerna. Proses pencernaan dan kondisi asam lambung juga mempermudah proses pencernaan protein yang selanjutnya akan diabsorpsi oleh usus halus dan akan berubah menjadi asam-asam amino yang akan masuk ke peredaran darah melalui vena porta dan dibawa ke hepar. Sebagian asam amino digunakan oleh hepar dan sebagian sisanya akan dibawa ke sel-sel jaringan melalui sirkulasi (Enny, 2019).

#### **2.4.2. Efek Diet Tinggi Protein secara Umum**

Diet tinggi protein belakangan ini menjadi populer karena dapat menurunkan dan mempertahankan berat badan, meskipun masih menjadi kontroversi dan masih belum diketahui efek metabolik dalam jangka panjang. Efek penurunan berat badan pada diet tinggi protein diketahui karena efek kenyang yang dihasilkan lebih lama karena asupan protein menginduksi pensinyalan yang kompleks antara hormon peptida yang disekresi oleh system gastrointestinal dan asam amino darah. Efek kenyang juga dihasilkan oleh asupan protein dengan menstimulasi hormon metabolik yang memberikan status energi ke otak, tepatnya dalam

pusat penghargaan dan motivasi yaitu sistem mesolimbik dan *nucleus accumbens* (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015).

#### **2.4.3. Efek Diet Tinggi Protein terhadap Kadar IGF-1**

Asupan nutrisi seperti yang telah disampaikan sebelumnya mempunyai efek secara langsung terhadap kadar hormon IGF-1, termasuk di dalamnya adalah asupan protein. Berdasarkan penelitian David (2012), total asupan kalori dan asupan protein merupakan regulator penting kadar hormon IGF-1. David (2012) menambahkan bahwa asupan protein mempunyai pengaruh yang lebih signifikan karena setiap pengurangan 25% dalam asupan protein sudah dapat mengakibatkan penurunan kadar hormon IGF-1 (David, 2012).

Diet tinggi protein selain efektif dalam menurunkan berat badan, tentunya juga berperan dalam kesehatan tulang dan otot, namun harus tetap diperhatikan kuantitas protein yang harus dikonsumsi agar mencapai kesehatan tulang dan otot yang optimal (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015). Beberapa efek diet tinggi protein pada tulang, yaitu menyediakan asam amino dan meningkatkan absorbs kalsium sehingga sirkulasi IGF-1 meningkat. Sejalan dengan penelitian Cuenca (2015), bahwa peningkatan asupan protein terutama pada lansia sangat bermanfaat karena pemanfaatan protein yang kurang efisien sehingga dapat meningkatkan risiko osteoporosis dan fraktur (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015). Diet tinggi protein mempunyai efek positif terhadap kalsium dan homeostasis

tulang karena efeknya dalam *bone turnover*, produksi IGF-1, dan absorpsi kalsium intestinal yang berhubungan dengan jumlah sekresi *parathyroid hormone* (PTH) yang dapat menghambat resorpsi tulang dan menjaga kesehatan tulang. Seperti dijelaskan sebelumnya, diet tinggi protein berefek pada produksi IGF-1 yang menstimulasi homeostasis tulang dengan meningkatkan aktivitas osteoblast dan menstimulasi resorpsi fosfat. Kualitas dan kuantitas protein tentunya harus diperhatikan karena dapat mempengaruhi konsentrasi serum IGF-1 (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015).

Hasil yang kontras ditunjukkan oleh Calvez (2012) bahwa diet tinggi protein dapat meningkatkan resorpsi tulang dan berperan sebagai *buffer* dengan meningkatkan muatan asam yang ada di dalam tubuh. Beberapa peneliti setuju bahwa diet tinggi protein dapat meningkatkan risiko fraktur dan osteoporosis karena dapat meningkatkan resorpsi tulang dan sekresi kalsium urin (Calvez *et al.*, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Groenendijk (2019) menunjukkan bahwa asupan protein berkorelasi negatif terhadap penurunan massa tulang (Groenendijk *et al.*, 2019). Berbeda halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Loss (2020) bahwa diet tinggi protein pada individu sehat tidak memiliki efek buruk terhadap fungsi ginjal, namun dapat berdampak buruk pada individu dengan penyakit ginjal (Loss, 2020).

## 2.5. Diet Tinggi Lemak

### 2.5.1. Definisi

Lemak merupakan suatu senyawa organik yang larut dalam pelarut non polar namun tidak larut dalam air. Lemak berperan sebagai salah satu bahan bakar dalam tubuh, memberikan bantalan dan melindungi organ vital dari benturan mekanik, serta memproduksi asam lemak esensial atau asam lemak yang tidak dapat dibuat oleh tubuh. Asam lemak esensial ini berperan dalam merawat kulit agar tetap sehat, serta meningkatkan fungsi sistem imun (Magdalena dan Suryani, 2016).

Lemak dalam tubuh individu sehat sangat bervariasi, yaitu antara 10-30%, 90% diantaranya berada di jaringan adiposa utamanya di jaringan subkutan. Rekomendasi asupan lemak bagi dewasa adalah sekitar 20-35% dari total kalori (Genton, 2011). Diet tinggi lemak belakangan ini sering digunakan, salah satunya oleh Guerra-Cantera (2020), yang menggunakan komposisi karbohidrat sebesar 20%, protein sebesar 18% dan lemak sebesar 62% (Guerra-Cantera *et al.*, 2020). Penelitian ini kemudian akan menggunakan diet tinggi lemak dengan komposisi masing-masing makronutrien untuk karbohidrat sebesar 30%, protein 25% dan lemak 45%.

### 2.5.2. Efek Diet Tinggi Lemak secara Umum

Kepadatan kalori yang besar mengakibatkan diet tinggi lemak disebut sebagai diet yang tidak sehat. Adanya peningkatan

asupan lemak jenuh pada diet tinggi lemak dilaporkan berhubungan erat dengan risiko terkena penyakit kardiovaskuler, obesitas, dan peningkatan konsentrasi *low density lipoprotein* (LDL) dan apolipoprotein B sehingga beberapa pedoman menyebutkan untuk mengurangi asupan lemak jenuh (Mente *et al.*, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Genton (2011) melaporkan bahwa konsumsi lemak yang berlebih dapat meningkatkan kadar trigliserida intramuskular dan dapat menyebabkan penyimpanan glikogen, sehingga konsumsi diet tinggi lemak selama 5 hari dilaporkan dapat menurunkan penggunaan glikogen otot secara signifikan selama olahraga dibandingkan diet tinggi karbohidrat (Genton, 2011). Beberapa penelitian menyebutkan terdapat hubungan antara obesitas dengan diet tinggi lemak karena adanya hiperplasia dan hipertrofi dari sel adiposa (Burchfield *et al.*, 2018). Resistensi insulin dan intoleransi glukosa juga merupakan efek diet tinggi lemak yang sering dilaporkan pada beberapa penelitian (Wali *et al.*, 2020).

### **2.5.3. Efek Diet Tinggi Lemak terhadap Kadar IGF-1**

Obesitas diketahui menjadi salah satu efek dari diet tinggi lemak. Individu dengan obesitas mengalami peningkatan asam lemak bebas di dalam darah karena sel adiposa yang membesar. Adanya pembesaran sel adiposa menyebabkan sekresi asam lemak bebas yang berlebihan namun pembersihannya mengalami penurunan, sehingga mengakibatkan sekresi hormon GH menurun.

Penurunan sekresi hormon GH mengakibatkan konsentrasi total hormon IGF-1 ikut mengalami penurunan (Primariayu *et al.*, 2018).

Guerra-Cantera (2020) melaporkan dalam penelitiannya bahwa diet tinggi lemak dapat meningkatkan ekspresi IGF-2 dalam jaringan adiposa dan menghambat efek IGF-1 yang berada di kondrosit, meskipun diketahui IGF-1 dapat memstimulasi proliferasi jaringan adiposa (Guerra-Cantera *et al.*, 2020). Penelitian lain yang menggunakan diet tinggi lemak dengan komposisi lemak 60% selama 20 minggu juga melaporkan adanya penurunan 40% kadar IGF-1 pada kartilago dan menstimulasi degradasi kartilago sehingga meningkatkan risiko terkena osteoarthritis (Nazli *et al.*, 2017).

## **2.6. Tikus Sprague Dawley**

### **2.6.1. Definisi**

Tikus merupakan salah satu model penelitian yang sering digunakan karena masa hidup yang relative singkat, jinak dan masa gestasi singkat (Husna *et al.*, 2019). Otto *et al.*, (2020) menyampaikan bahwa genom tikus diketahui mempunyai kemiripan dengan genom manusia sehingga adanya manipulasi pada genom tikus dapat menghasilkan model hewan percobaan yang fenotipnya mirip dengan penyakit manusia (Otto, Franklin dan Clifford, 2015). Tikus Sprague Dawley merupakan salah satu model penelitian yang belakangan ini sering digunakan terutama dalam studi toksikologi

reproduktif, perkembangan embrio dan nutrisi (Harnischfeger *et al.*, 2021). Sprague Dawley diketahui merupakan tikus yang cepat berkembang, jinak dan mudah dipelihara, sehingga sering digunakan sebagai model penelitian tentang obesitas, diabetes, kanker dan penyakit kardiovaskuler (Type dan Ageing, 2011).

### 2.6.2. Pakan yang Digunakan

Pakan yang digunakan adalah pakan standar AIN-93M, dengan komposisi seperti yang tercantum dalam Tabel 2.1.

Tabel 2. 1. Formulasi Pakan Standar AIN-93M (Reeves dan Suppl, 1997)

<b>BAHAN</b>	<b>(g/kg diet)</b>
Cornstarch	465.692
Casein (>85% protein)	140.000
Dextrinized cornstarch (90-94% tetrasaccharides)	155.000
Sucrose	100.000
Soybean oil (no additives)	40.000
Fiber	50.000
Mineral mix (AIN-93G-MX)	35.000
Vitamin mix (AIN-93-VX)	10.000
L-cystine	1.800
Choline Bitartrate (41.1% choline)	2.500
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ), mg	8.0

Persentase nutrisi pada formulasi pakan standar Ain-93M diantaranya 67,5% karbohidrat, 12,6% protein dan 4,1% lemak (Reeves dan Suppl, 1997). Komposisi makronutrien dalam penelitian ini menggunakan standar formula AIN-93M yang disesuaikan dengan variasi komposisi makronutrien dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok DTK, DGS, DTP, dan DTL. Kelompok DGS atau diet gizi seimbang merupakan tikus dengan diet 60%

karbohidrat, 15% protein dan 25% lemak. Kelompok DTK atau diet tinggi karbohidrat merupakan tikus dengan diet 70% karbohidrat, 20% protein dan 10% lemak. Kelompok DTP atau diet tinggi protein yaitu tikus dengan 30% karbohidrat, 45% protein dan 25% lemak. Terakhir yaitu kelompok DTL atau diet tinggi lemak yang menggunakan komposisi 30% karbohidrat, 25% protein dan 45% lemak.

## 2.7. Hubungan antara Variasi Komposisi Makronutrien Diet dan Hormon IGF-1

Hormon *insulin like growth factor-1* (IGF-1) memegang peranan penting dalam mengontrol pertumbuhan dan homeostasis sehingga dikenal sebagai *bone growth promoting factor* yang berperan dalam mempertahankan kepadatan tulang (Locatelli dan Bianchi, 2014). Kadar IGF-1 tentunya harus dipertahankan dalam keadaan stabil mengingat peran penting hormon tersebut di dalam tubuh. Beberapa faktor diketahui dapat mempengaruhi kadar hormon IGF-1, antara lain adalah asupan makanan (Blum *et al.*, 2018; Primariayu *et al.*, 2018).

Diet gizi seimbang, diet tinggi karbohidrat, diet tinggi protein dan diet tinggi lemak sedang menjadi perbincangan belakangan ini karena beberapa efek yang ditimbulkan oleh diet tersebut, termasuk efek terhadap kadar IGF-1. Diet gizi seimbang diketahui dapat meningkatkan kualitas hidup seseorang serta berkorelasi positif terhadap kadar IGF-1. Adanya diet gizi

seimbang dapat menghindarkan individu dari ketidakseimbangan nutrisi, seperti malnutrisi dan overnutrisi atau obesitas yang dapat mempengaruhi kadar IGF-1 (Ban, 2018). Keadaan malnutrisi dapat mengakibatkan perubahan aksis GH/IGF-1 sehingga terjadi penurunan ekspresi GHR dan IGF-1 di hepar yang mengakibatkan penurunan kadar serta aktivitas biologis IGF-1 (Fuentes *et al.*, 2012; Bilen *et al.*, 2014). Diet yang tidak seimbang juga mengakibatkan obesitas yang akan menghambat sekresi hormon GH sehingga kadar IGF-1 pada individu dapat menurun. Efek nutrisi yang dikonsumsi pada keadaan obesitas terhadap kadar IGF-1 masih terus dikaji karena didapatkan efek yang bervariasi antara lain dapat meningkatkan, menurunkan bahkan tidak ada efek sama sekali terhadap kadar IGF-1 (Ban, 2018).

Di sisi lain, Primariayu (2018) menyebutkan bahwa diet tinggi karbohidrat dapat meningkatkan efek metabolik seperti glukosa dan insulin yang kemudian berhubungan dengan IGF-1. Perubahan asupan karbohidrat mempunyai efek secara tidak langsung terhadap IGF-1 melalui insulin sebab insulin ikut meregulasi sintesis IGF-1 di hepar, sehingga apabila terjadi peningkatan konsumsi karbohidrat maka akan terjadi peningkatan insulin di dalam sirkulasi. Proses ini kemudian akan memicu peningkatan stimulasi GH yang selanjutnya berefek ke gen transkripsi IGF-1 sehingga kadar IGF-1 meningkat (Primariayu *et al.*, 2018).

Diet tinggi protein diketahui mempunyai efek yang positif terhadap kadar IGF-1. Adanya asupan protein yang tinggi dapat meningkatkan kadar

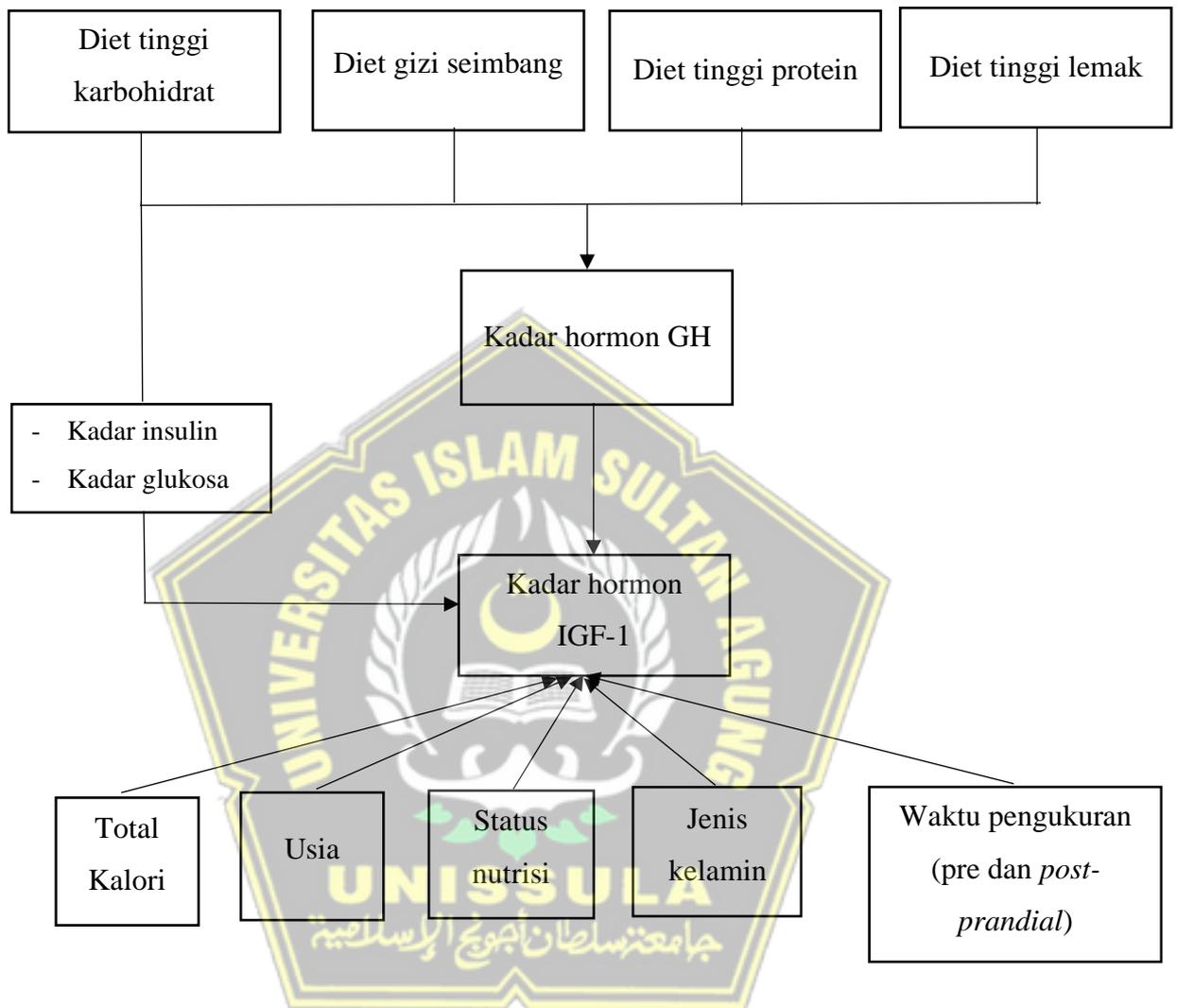
IGF-1 yang merupakan *bone growth promoting factor* sehingga dapat menyediakan asam amino dan meningkatkan kalsium yang bermanfaat bagi massa tulang (Locatelli dan Bianchi, 2014). Beberapa penelitian terdahulu mendapatkan hasil yang berbeda bahwa adanya asupan protein yang tinggi akan mengakibatkan asidosis metabolik kronik yang akan meningkatkan ekskresi kalsium urin sehingga terjadi peningkatan *bone loss* (Cao dan Nielsen, 2010). Hal ini kemudian diteliti kembali oleh Calvez (2012) bahwa peningkatan ekskresi kalsium urin tidak berefek terhadap massa tulang karena diimbangi dengan peningkatan absorpsi di dalam usus dengan adanya asupan protein (Calvez *et al.*, 2012).

Diet tinggi lemak diketahui juga dapat mempengaruhi kadar IGF-1. Menurut Nazli (2017), diet tinggi lemak dapat menstimulasi degradasi kartilago yang akan meningkatkan risiko terkena osteoarthritis. Diet tinggi lemak dalam hubungannya dengan hormon IGF-1 berkorelasi dengan *free fatty acid* (FFA) palmitat, yang dapat meningkatkan stress retikulo-endothelial dan kemudian menghambat fungsi IGF-1 pada kondrosit (Nazli *et al.*, 2017). Ditambahkan oleh Primariayu (2018) bahwa diet tinggi lemak berkorelasi negatif terhadap kadar IGF-1 karena akan menyebabkan peningkatan asam lemak bebas di dalam darah sehingga menghambat sekresi hormon GH, yang pada akhirnya akan menurunkan sekresi kadar hormon IGF-1 (Primariayu *et al.*, 2018). Efek yang berbeda pada kadar hormon IGF-1 dilaporkan kembali oleh Guerra-Cantera (2020), yang menyatakan bahwa diet tinggi lemak pada individu obesitas akan

meningkatkan sirkulasi IGF-1 bebas dan IGF-1 total, meskipun beberapa studi tidak menemukan adanya perubahan pada IGF-1 total (Guerra-Cantera, 2020).

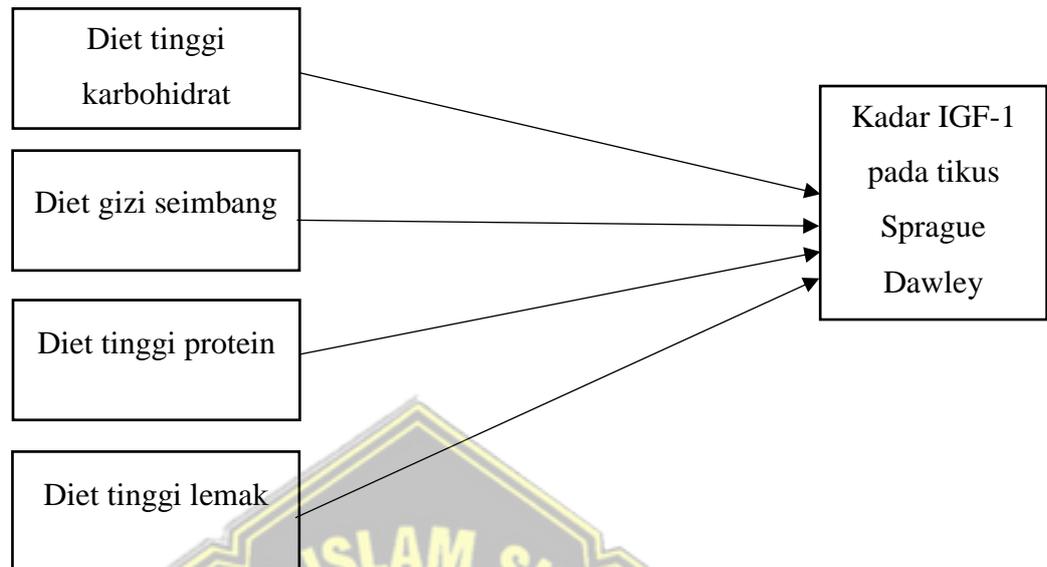


## 2.8. Kerangka Teori



Gambar 2. 1 Kerangka Teori Penelitian

## 2.9. Kerangka Konsep



Gambar 2. 2 Kerangka Konsep Penelitian

## 2.10. Hipotesis

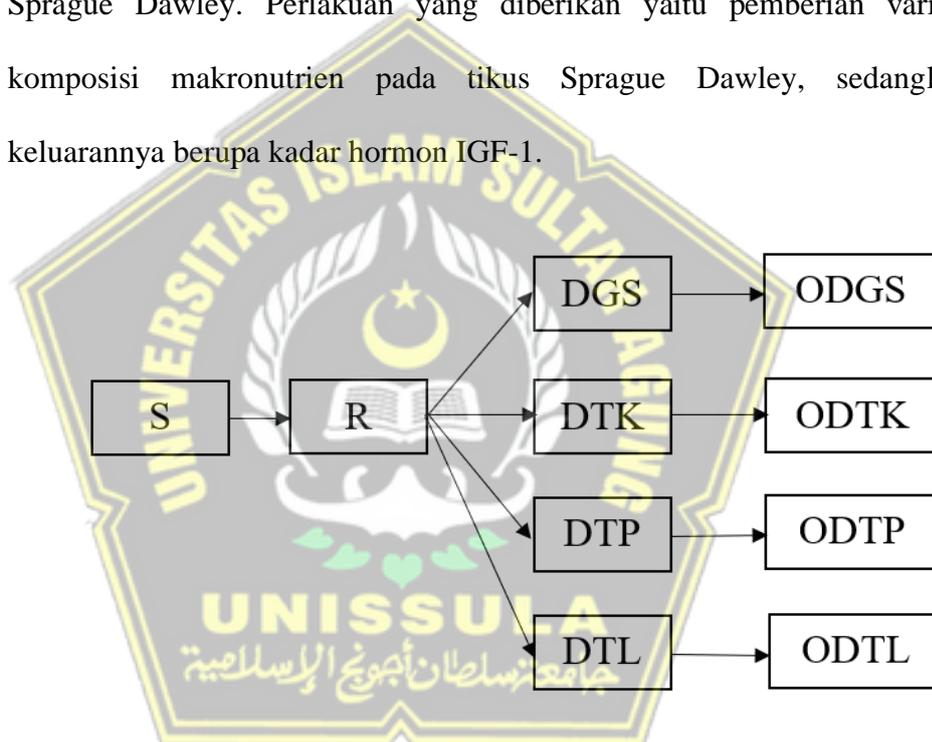
Variasi komposisi makronutrien berupa diet tinggi karbohidrat, diet gizi seimbang, diet tinggi protein dan diet tinggi lemak berpengaruh terhadap kadar hormon IGF-1 pada tikus Sprague Dawley.

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test only control group design* terhadap tikus Sprague Dawley. Perlakuan yang diberikan yaitu pemberian variasi komposisi makronutrien pada tikus Sprague Dawley, sedangkan keluarannya berupa kadar hormon IGF-1.



Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S : Sampel berupa tikus jantan galur Sprague Dawley

R : Randomisasi

DGS : Kelompok perlakuan yang diberikan pakan sesuai modifikasi AIN-93M berupa 60% karbohidrat, 15% protein dan 25% lemak secara *ad libitum* setiap hari selama 28 hari.

- DTK : Kelompok perlakuan yang diberikan pakan sesuai modifikasi AIN-93M berupa 70% karbohidrat, 20% protein dan 10% lemak dengan menggunakan *ad libitum* setiap hari selama 28 hari
- DTP : Kelompok perlakuan yang diberikan pakan sesuai modifikasi AIN-93M berupa 30% karbohidrat, 45% protein dan 25% lemak selama 28 hari.
- DTL : Kelompok perlakuan yang diberikan pakan sesuai modifikasi AIN-93M berupa 30% karbohidrat, 25% protein dan 45% lemak secara *ad libitum* setiap hari selama 28 hari.
- ODGS : Kadar hormon IGF-1 kelompok DGS
- ODTK : Kadar hormon IGF-1 kelompok DTK
- ODTP : Kadar hormon IGF-1 kelompok DTP
- ODTL : Kadar hormon IGF-1 kelompok DTL

### 3.2. Variabel dan Definisi Operasional

#### 3.2.1 Variabel

##### 3.2.1.1 Variabel bebas

Variasi komposisi makronutrien diet.

##### 3.2.1.2 Variabel tergantung

Kadar hormon *insulin like growth factor-1* (IGF-1).

### 3.2.2 Definisi Operasional

#### 3.2.2.1 Variasi Komposisi Makronutrien

Variasi komposisi makronutrien diperoleh dengan memodifikasi formula AIN-93M:

##### a. Diet Gizi Seimbang

Diet gizi seimbang diberikan kepada hewan coba dengan komposisi makronutrien pakan sebesar 60% untuk karbohidrat, 15% protein dan 25% lemak yang diberikan setiap hari selama 28 hari secara *ad libitum*.

Skala: Nominal

##### b. Diet Tinggi Karbohidrat

Diet tinggi karbohidrat diperoleh dari penambahan cornstarch sehingga komposisi makronutrien pakan karbohidrat sebesar 70%, protein 20% dan lemak 10%. Diet tinggi karbohidrat diberikan setiap hari kepada hewan coba selama 28 hari secara *ad libitum*.

Skala: Nominal

##### c. Diet Tinggi Protein

Diet tinggi protein diperoleh dengan penambahan *casein* sehingga didapatkan komposisi 30% karbohidrat, 45% protein dan 25% lemak yang diberikan secara *ad libitum* selama 28 hari

Skala: Nominal

#### d. Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak diperoleh dengan penambahan *soybean oil* sehingga didapatkan komposisi karbohidrat 30%, protein 25% dan lemak 45%. Diet tinggi lemak diberikan setiap hari pada kelompok hewan coba selama 28 hari secara *ad libitum*.

Skala: Nominal

#### 3.2.2.2 Hormon *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1)

Kadar IGF-1 diperoleh melalui sampel darah yang diambil di hari ke-29 pada sinus orbital tikus Sprague Dawley kemudian diperiksa dengan menggunakan *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay/ELISA*.

Skala: Rasio

### 3.3. Subjek Uji

Penelitian ini menggunakan subjek uji tikus jantan galur Sprague Dawley. Besar sampel ditentukan berdasarkan kriteria WHO, yaitu jumlah minimal 5 ekor tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 6 ekor tikus pada setiap kelompok perlakuan sebagai antisipasi apabila terdapat *drop out* selama adaptasi dan perlakuan. Perlakuan pada penelitian ini dilakukan pada 4 kelompok, sehingga berdasarkan ketentuan tersebut didapatkan jumlah sampel keseluruhan adalah 24 sampel.

### 3.3.1. Kriteria Inklusi

- Tikus Sprague Dawley jantan
- Berat badan tikus 200-220 gram
- Usia tikus 12 minggu

### 3.3.2. Kriteria Eksklusi

- Kelainan anatomi pada tikus

### 3.3.3. Kriteria Drop Out

- Tikus sakit saat penelitian
- Tikus mati saat penelitian

## 3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

### 3.4.1. Instrumen Penelitian

- a. Kandang tikus individu
- b. Timbangan
- c. Ekstruder
- d. Mesin sentrifugasi
- e. Tabung sentrifuse mini
- f. Rak tabung
- g. *Disposable syringes*
- h. *ELISA kit*
- i. *ELISA reader*

### 3.4.2. Bahan Penelitian

- a. Tikus jantan

- b. Ransum pakan standar
- c. Akuades
- d. Pakan sesuai modifikasi berdasarkan AIN-93M

Bahan yang digunakan berupa modifikasi variasi komposisi makronutrien berdasarkan AIN-93M yang diberikan sesuai dengan kelompok masing-masing secara *ad libitum*.

Tabel 3.1. Modifikasi Formulasi AIN-93M

BAHAN	DTK (%)	DGS (%)	DTP (%)	DTL (%)
Cornstarch (K)				
Dextrinized cornstarch (90-94% tetrasaccharides) (K)	56,04	48,03	24,02	24,02
Casein (>85% protein) (P)	16,01	12,01	36,02	20,01
Soybean oil (no additives) (L)	8,01	20,02	20,01	36,02
Sucrose	10	10	10	10
Fiber	5	5	5	5
Mineral mix (AIN-93G-MX)	3,5	3,5	3,5	3,5
Vitamin mix (AIN-93-VX)	1	1	1	1
L-cystine	0,18	0,18	0,18	0,18
Choline Bitartrate (41.1% choline)	0,25	0,25	0,25	0,25
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ), mg	0,008	0,008	0,008	0,008
TOTAL	100	100	100	100

### 3.5. Cara Penelitian

#### 3.5.1 Pembuatan Variasi Komposisi Makronutrien Diet

Variasi komposisi makronutrien terdiri dari 4 kelompok diet, diantaranya diet gizi seimbang (DGS), diet tinggi karbohidrat (DTK), diet tinggi protein (DTP), dan diet tinggi lemak (DTL). Bahan diet yang digunakan untuk karbohidrat adalah *cornstarch*, *casein* untuk protein dan *soybean oil* untuk lemak. Diet tinggi karbohidrat memodifikasi formulasi AIN-93M dengan *cornstarch*

70%, *casein* 20%, dan *soybean oil* sebesar 10%. Diet gizi seimbang dengan *cornstarch* 60%, *casein* 15%, dan *soybean oil* sebesar 25%. Diet tinggi protein memodifikasi formulasi AIN-93M dengan *cornstarch* sebesar 30%, *casein* 45%, dan *soybean oil* sebesar 25%. Diet tinggi lemak dengan *cornstarch* 30%, *casein* 25%, dan *soybean oil* sebesar 45%.

### 3.5.2 Penyiapan Hewan Coba

Subjek yang digunakan adalah 24 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley usia 12 minggu dengan berat 200 hingga 220 gram. Setiap kelompok berisi 6 ekor tikus yang dialokasikan secara random dan selanjutnya diaklimatisasi dalam kandang individu. Tikus diadaptasikan selama 7 hari yaitu pada hari pertama hingga hari ke-7 penelitian dengan diberi pakan standar dan air secara *ad libitum*.

### 3.5.3 Perlakuan Hewan Coba

Setiap kelompok akan diberi pakan yang berasal dari modifikasi AIN-93M secara *ad libitum* sesuai dengan variasi komposisi makronutrien. Pakan diberikan secara *ad libitum* setiap hari sebanyak 20 gram/hari sesuai dengan kelompok perlakuan. DGS memperoleh pakan dengan komposisi 60% karbohidrat, 15% protein dan 25% lemak. DTK memperoleh pakan 70% karbohidrat, 20% protein dan 10% lemak. DTP mendapatkan pakan dengan komposisi 30% karbohidrat, 45% protein dan 25% lemak. DTL

dengan komposisi 30% karbohidrat, 25% protein dan 45% lemak. Pengukuran berat badan tikus dilakukan pada masa adaptasi yaitu hari ke-0, 7, 14, 21, dan terakhir pada hari ke-28.

Hewan coba pada hari ke-29 akan dilakukan pengambilan sampel darah pada sinus orbitalis. Pada akhir penelitian, hewan coba dilakukan euthanasia kimia yaitu dengan memasukkan agen toksin dengan inhalasi. Agen toksin inhalasi yang diberikan contohnya dietil eter, isofluren, halotan, dinitrogen monoksida, namun yang biasa digunakan adalah karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) meskipun beberapa pendapat menyebutkan bahwa penggunaan karbon dioksida dapat mengakibatkan rasa nyeri dan tidak nyaman pada hewan coba. Euthanasia inhalasi dilakukan dengan meletakkan hewan coba pada kotak yang tertutup plastik yang dialiri oleh gas karbon dioksida secara bertahap, atau agen inhalasi dapat diletakkan di dalam kotak sampai hewan tidak sadar dan mati (Valentim *et al.*, 2016).

#### **3.5.4 Pengukuran Variabel Penelitian**

Hari ke-29 penelitian dilakukan pengambilan sampel darah pada sinus orbitalis untuk mengukur kadar IGF-1 pada masing-masing kelompok perlakuan. Sampel darah yang diperoleh kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit pada suhu 5-10°C untuk mengukur kadar IGF-1 dan selanjutnya diperiksa dengan menggunakan kit ELISA. Hasil yang didapatkan berdasarkan nilai *optical density* (OD) dan konsentrasi

log dari pemeriksaan ELISA kemudian dibaca dengan menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm selama 30 menit setelah penambahan *stop solution* dan dilanjut dengan pembuatan kurva standar pada *Ms. Excel curve fitting*.

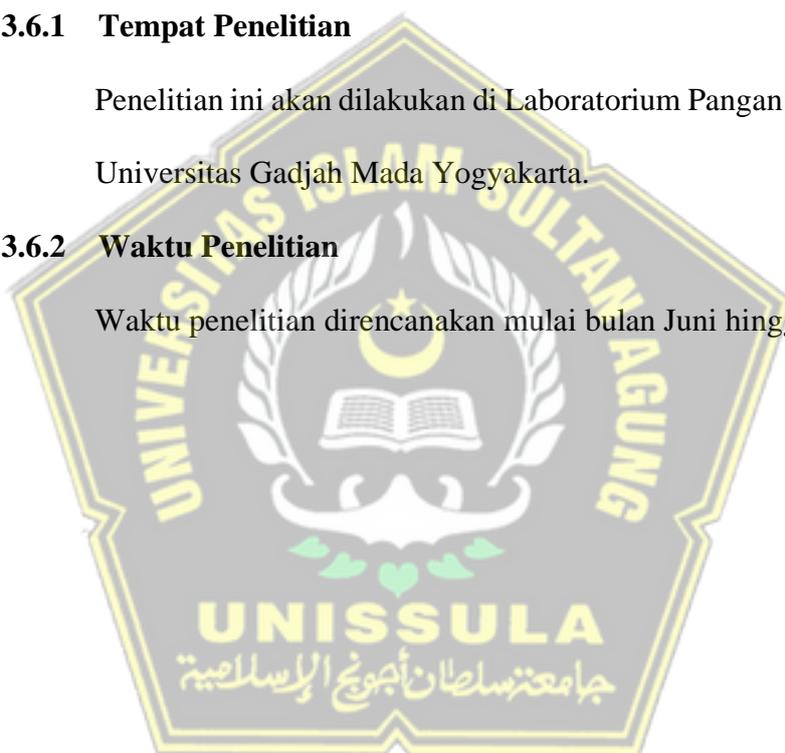
### **3.6. Tempat dan Waktu**

#### **3.6.1 Tempat Penelitian**

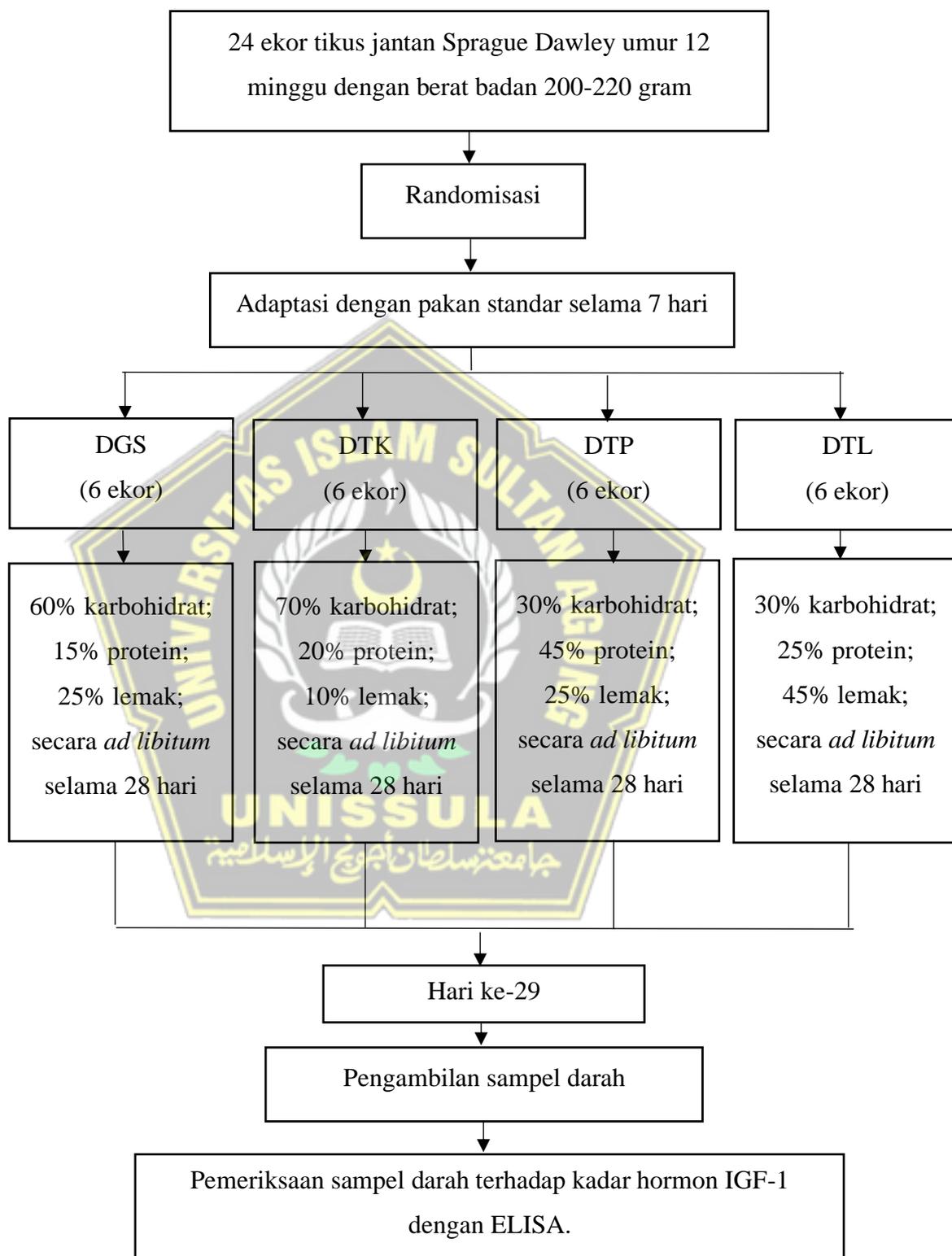
Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

#### **3.6.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian direncanakan mulai bulan Juni hingga Juli 2022.



### 3.7. Alur Penelitian



Gambar 3. 2 Alur Penelitian

### 3.8. Analisis Hasil

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS Ver. 16.0 for Windows. Data yang didapatkan pada penelitian ini diuji normalitas dengan uji *Shapiro-Wilk* karena sampel yang digunakan kurang dari 30 sampel. Hasil menunjukkan bahwa data berdistribusi normal dengan nilai signifikan  $p \geq 0,05$ . Uji homogenitas dilakukan berdasarkan tabel *Test of Homogeneity of Variance* didapatkan nilai signifikansi 0,066 ( $p > 0,05$ ) yang menunjukkan bahwa antar kelompok memiliki data homogen.

Data rerata kadar hormon IGF-1 didapatkan berdistribusi normal dan homogen, sehingga analisis data dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One Way Anova*. Hasil uji analisis *One Way Anova* menunjukkan hasil nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) artinya paling tidak terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar hormon IGF-1. Uji analisis *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan rerata kadar hormon IGF-1. Hasil uji *Post-Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok ( $p < 0,05$ ).

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh variasi komposisi makronutrien diet terhadap kadar hormon *insulin-like growth factor* (IGF-1) telah dilakukan di Laboratorium Pangan dan Gizi PAU Universitas Gadjah Mada selama 28 hari terhadap 24 ekor tikus jantan galur Sprague Dawley. Hewan coba dibagi sama rata pada 4 kelompok diet yaitu kelompok diet gizi seimbang (DGS), kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK), kelompok diet tinggi protein (DTP), dan kelompok diet tinggi lemak (DTL) sehingga masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor hewan coba. Seluruh hewan coba tidak mengalami *drop out* selama penelitian berlangsung sehingga dapat dianalisis hingga akhir perlakuan.

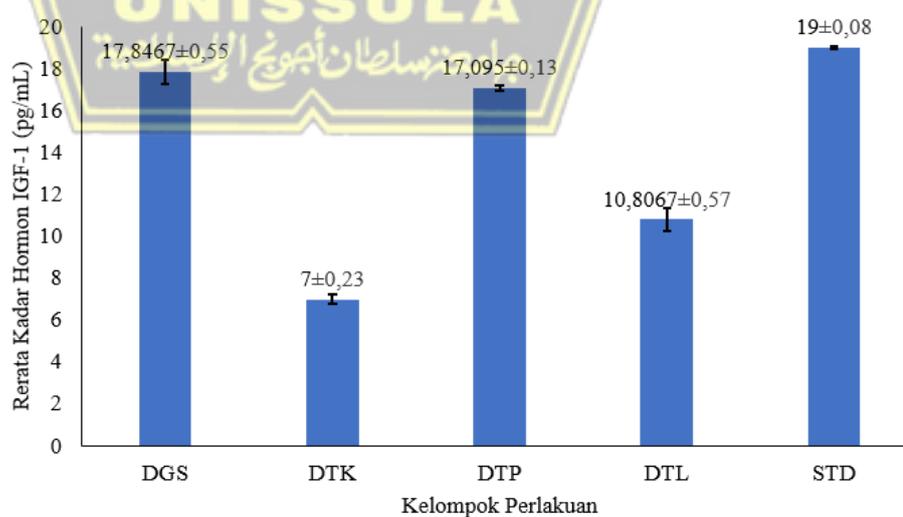
Sebelum dilakukan perlakuan, dilakukan perhitungan berat badan tikus pada masa adaptasi, yaitu hari ke-0. Berat badan kemudian ditimbang kembali setiap 1 minggu yaitu di hari ke-7, 14, 21, dan penimbangan terakhir sekaligus pengukuran panjang badan tikus dilakukan pada hari ke-28 perlakuan. Hasil pengukuran panjang badan dan berat badan selanjutnya digunakan dalam perhitungan *Lee index* untuk mengetahui apakah pemberian variasi komposisi makronutrien diet dapat mengakibatkan terjadinya obesitas, hewan coba dikategorikan obesitas apabila nilai indeks >300. Hasil perhitungan *Lee index* tercantum pada Tabel 4.1.

$$\frac{\sqrt[3]{\text{berat badan (g)}}}{\text{panjang nasoanal (cm)} - 1}$$

Tabel 4. 1 Hasil Perhitungan *Lee Index* di Akhir Perlakuan pada Seluruh Kelompok

Kelompok	Rerata Berat Badan (g)	Rerata Panjang Badan (cm)	<i>Lee index</i>	Interpretasi (>300)
DGS	194,63	19,97	296,88	Tidak obesitas
DTK	202,94	18,06	342,67	Obesitas
DTP	200,89	20,14	299,23	Tidak obesitas
DTL	208,67	19,23	320,35	Obesitas

Hasil perhitungan *Lee index* pada Tabel 4.1 menunjukkan bahwa kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) dan kelompok diet tinggi lemak (DTL) mengalami obesitas karena nilai indeks lebih dari 300. Selanjutnya, pada hari ke-29 dilakukan pengukuran kadar hormon IGF-1 melalui sampel darah enam tikus tiap kelompok perlakuan yang diambil melalui sinus orbitalis dan diuji menggunakan metode ELISA. Data hasil pengukuran rerata kadar IGF-1 tercantum dalam Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Grafik Rerata Kadar Hormon IGF-1 (pg/mL)

Berdasarkan Gambar 4.1 didapatkan bahwa rerata kadar hormon IGF-1 terendah dimiliki oleh kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK), dan rerata kadar hormon IGF-1 tertinggi dimiliki oleh kelompok diet gizi seimbang (DGS). Berdasarkan data tersebut, kelompok dengan rerata kadar hormon IGF-1 menyerupai kelompok diet gizi seimbang (DGS) sebagai kelompok kontrol adalah kelompok diet tinggi protein (DTP). Data *post-test* kadar hormon IGF-1 yang diperoleh kemudian dianalisis normalitas dan homogenitasnya, untuk uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene Test*.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*, Uji Homogenitas *Levene Test*, dan Uji *One Way Anova* Kadar Hormon IGF-1

Kelompok	Rerata Kadar Hormon IGF-1 (pg/mL)	<i>Shapiro-Wilk</i> (p>0.05)	<i>Levene Test</i> (p>0.05)	<i>One Way Anova</i>
DGS	17,84±0,55	0,999		
DTK	7,0±0,23	0,655	0,066	0,000*
DTP	17,09±0,13	0,801		
DTL	10,80±0,57	0,959		

\*Hasil uji *One Way Anova* berbeda bermakna (p<0,05)

Hasil uji normalitas dengan *Shapiro Wilk* pada empat kelompok perlakuan yaitu DTK, DGS, DTP, dan DTL menunjukkan hasil berdistribusi normal karena nilai signifikansi p>0,05. Uji homogenitas dengan metode *Levene Test* pada empat kelompok perlakuan didapatkan hasil nilai signifikansi 0,066 (p>0,05) yang menunjukkan antar kelompok memiliki data homogen. Data rerata kadar hormon IGF-1 didapatkan normal dan homogen sehingga dilakukan uji *One Way Anova* dengan hasil nilai signifikansi 0,000 (p<0,05) yang artinya paling tidak terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan rerata kadar hormon IGF-1. Selanjutnya, untuk

mengetahui perbedaan rerata kadar hormon IGF-1 antar kelompok dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *LSD* dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$ , dengan hasil uji tercantum dalam Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Perbedaan Rerata Antar Kelompok Setelah Perlakuan

Kelompok	DGS	DTK	DTP	DTL
DGS	-	0,000*	0,006*	0,000*
DTK		-	0,000*	0,000*
DTP			-	0,000*
DTL				-

\*Uji *Post Hoc LSD* berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )

Hasil uji *Post Hoc LSD* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan rerata kadar hormon IGF-1 antar kelompok ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui perbedaan rerata kadar hormon IGF-1 paling signifikan terjadi antara kelompok diet gizi seimbang (DGS) dan kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) sebesar 10,84 pg/mL.

#### 4.2. Pembahasan

IGF-1 merupakan hormon anabolik yang berperan penting dalam regulasi metabolisme dan pertumbuhan, sehingga kadar IGF-1 dalam sirkulasi harus stabil. Beberapa faktor diketahui dapat mempengaruhi kadar hormon IGF-1, antara lain adalah asupan makanan, kadar hormon GH, kadar hormon insulin, usia dan status nutrisi (Calvez *et al.*, 2012; Blum *et al.*, 2018; Primariayu *et al.*, 2018).

Status nutrisi memiliki korelasi terhadap kadar hormon IGF-1 terutama terhadap kejadian obesitas pada masing-masing kelompok setelah diberikan perlakuan. Hasil pengukuran berat badan dan panjang badan dimasukkan ke dalam *Lee index* untuk mengetahui apakah terjadi obesitas

pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa pada kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) dan diet tinggi lemak (DTL) mengalami obesitas. Hal ini didukung oleh penelitian Mutiyani (2014) yang menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi karbohidrat dengan komposisi karbohidrat 50% dan diet tinggi lemak dengan komposisi 24% lemak menginduksi terjadinya obesitas, dislipidemia dan gangguan toleransi glukosa (Mutiyani, 2014).

Mekanisme hubungan diet tinggi karbohidrat dengan kejadian obesitas dibuktikan oleh penelitian Rodriguez (2020) melalui metabolisme glukosa jalur glikolisis yang akan menghasilkan asetil-KoA sebagai prekursor asam lemak dan kolesterol sehingga dapat terjadi efek lipogenesis. Efek lipogenesis yang dihasilkan dapat menghambat oksidasi asam lemak dan meningkatkan sintesis lipid sehingga produksi dan sekresi *very low density lipoprotein* (VLDL) mengalami peningkatan. VLDL ini mengandung banyak trigliserida dan akan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL) menjadi asam lemak bebas. Asam lemak bebas hasil hidrolisis akan disimpan ke dalam jaringan adiposa dan memicu terjadinya obesitas atau peningkatan berat badan (Rodriguez, 2020).

Wali (2020) menambahkan, terkait hubungan diet tinggi lemak dan obesitas bahwa peningkatan konsumsi lemak dapat menyebabkan obesitas dan berhubungan erat dengan penyakit metabolik. Rodriguez (2020) menyatakan bahwa asupan tinggi lemak menyebabkan trigliserida yang terkandung di dalamnya dipecah menjadi asam lemak bebas oleh enzim

pankreas yang kemudian diabsorpsi oleh sel enterik pada usus halus. Selanjutnya, asam lemak bebas dikemas bersama dengan kolesterol ke dalam suatu vesikel fosfolipid yang disebut kilomikron menuju sistem limfatik yang pada akhirnya mencapai sistem sirkulasi, hal ini menyebabkan konsentrasi serum lipoprotein mengalami peningkatan. Trigliserida yang tersimpan di dalam kilomikron akan dihidrolisis oleh lipoprotein lipase (LPL) menjadi asam lemak bebas kemudian diambil oleh jaringan adiposa. Selanjutnya asam lemak bebas hasil hidrolisis akan diesterifikasi ulang menjadi trigliserida dan disimpan sebagai droplet lemak yang dapat memicu terjadinya peningkatan berat badan dan obesitas (Rodriguez, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) memiliki nilai *Lee index* >300 atau tertinggi sekaligus memiliki kadar hormon IGF-1 terendah, hal ini menunjukkan bahwa obesitas berhubungan dengan kadar hormon IGF-1 (Wali *et al.*, 2020). Selain itu, kelompok diet tinggi lemak (DTL) juga mempunyai kadar hormon IGF-1 rendah serta memiliki nilai *Lee index* >300, kondisi ini menunjukkan bahwa diet tinggi lemak berhubungan erat dengan kondisi obesitas (Primariayu *et al.*, 2018).

Kondisi overnutrisi atau obesitas diketahui memiliki kadar GH yang rendah. Peningkatan indeks massa tubuh (IMT) dapat menurunkan sekresi hormon GH sekitar 6% sehingga kadar IGF-1 dimungkinkan mengalami penurunan. Efek nutrisi terhadap kadar hormon IGF-1 pada individu dengan

obesitas masih terus dikaji karena dilaporkan kadar IGF-1 dapat rendah, normal dan bahkan tinggi (Ban, 2018).

Primariayu (2018) menambahkan bahwa individu dengan obesitas mengalami peningkatan asam lemak bebas di dalam darah karena sel adiposa yang membesar. Pembesaran sel adiposa menyebabkan sekresi asam lemak bebas meningkat namun pembersihannya mengalami penurunan, sehingga mengakibatkan sekresi hormon GH menurun. Penurunan sekresi hormon GH mengakibatkan konsentrasi total hormon IGF-1 ikut mengalami penurunan (Primariayu *et al.*, 2018).

Rerata kadar hormon IGF-1 tikus Sprague Dawley yang berusia 12 minggu dengan kisaran berat badan 200-220 gram pada kelompok kontrol penelitian lain yang belum dipublikasikan yaitu sebesar  $19 \pm 0,081$  pg/mL (Tyagita dan Safitri, tanpa tanggal). Rerata kadar hormon IGF-1 pada kelompok diet gizi seimbang (DGS) dan kelompok diet tinggi protein (DTP) tidak berbeda dengan data rujukan penelitian lain, selain itu pada kelompok DGS dan DTP memiliki rerata kadar hormon IGF-1 tertinggi. Kelompok diet tinggi lemak (DTL) dan kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) memiliki hasil rerata kadar hormon IGF-1 yang rendah dan berbeda dibandingkan data rujukan pada penelitian lain.

Beberapa penelitian menjelaskan bahwa variasi komposisi makronutrien pada asupan makanan akan memengaruhi kadar IGF-1, sehingga diperlukan pengaturan komposisi makronutrien yang tepat agar kadar hormon IGF-1 tetap stabil (Primariayu *et al.*, 2018). Diet gizi

seimbang (DGS) merupakan pengaturan komposisi nutrisi yang sebaiknya tercukupi oleh masing-masing individu karena banyak manfaat yang dapat diperoleh salah satunya membantu mengontrol obesitas, hipertensi dan dislipidemia (Solon-Biet *et al.*, 2015). Hasil penelitian didapatkan bahwa kelompok diet gizi seimbang (DGS) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 tertinggi. Diet gizi seimbang (DGS) jika dibandingkan dengan data rujukan penelitian lain, memiliki rerata kadar IGF-1 yang lebih rendah namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini sejalan dengan penelitian Ban dan Zhao (2018) menyebutkan terdapat korelasi positif antara diet gizi seimbang dengan kadar hormon IGF-1 (Ban, 2018).

Individu dengan gizi tidak seimbang, baik malnutrisi ataupun overnutrisi mempunyai kadar hormon IGF-1 yang tidak stabil. Malnutrisi menyebabkan terjadinya perubahan aksis GH/IGF-1 termasuk terjadi penurunan ekspresi *growth hormone receptor* (GHR) dan IGF-1 yang berada di hepar, yang mengakibatkan dekomposisi IGF-1 yang cepat sehingga terjadi penurunan aktivitas biologis IGF-1 (Fuentes *et al.*, 2012; Bilen *et al.*, 2014). Di sisi lain, individu dengan obesitas diketahui mempunyai kadar GH yang rendah karena peningkatan indeks massa tubuh (IMT) dapat menurunkan sekresi hormon GH sekitar 6% yang dapat berhubungan dengan penurunan kadar hormon IGF-1, meskipun efek nutrisi terhadap kadar hormon IGF-1 pada individu dengan obesitas masih terus dikaji karena dilaporkan kadar IGF-1 dapat rendah, atau normal dan bahkan tinggi (Ban, 2018). Sejauh ini diet gizi seimbang disarankan dalam

penerapannya ke manusia, karena komposisinya sesuai dengan Pedoman Umum Gizi Seimbang.

Yumani (2020) menyatakan bahwa asupan tinggi karbohidrat, tinggi protein dan tinggi lemak berpengaruh terhadap kadar IGF-1 (Yumani, Calor dan van Weissenbruch, 2020). Kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 paling rendah dan jika dibandingkan dengan kelompok diet gizi seimbang (DGS), terdapat perbedaan rerata yang signifikan diantara keduanya. Berdasarkan penelitian ini, kelompok diet tinggi karbohidrat juga memiliki kadar hormon IGF-1 terendah. Diet tinggi karbohidrat berhubungan erat dengan kadar glukosa di dalam darah. Hal ini berhubungan dengan peran hormon IGF-1 dalam mempertahankan homeostasis glukosa, termasuk dalam menghambat terjadinya intoleransi glukosa (Takahashi, 2017). Pernyataan tersebut diperkuat oleh Kasprzak (2021) bahwa nutrisi memengaruhi kadar hormon IGF-1 secara langsung, diantaranya dapat mengalami peningkatan pada individu dengan diet tinggi protein dan diet tinggi lemak serta mengalami penurunan pada individu dengan diet tinggi karbohidrat.

Individu dengan konsumsi karbohidrat tinggi atau pada keadaan obesitas akan mengalami hipernutrisi dan hiperinsulinemia yang mengakibatkan pengeluaran hormon IGF-1 oleh hepar dan menghambat sekresi GH, namun apabila hal ini terjadi dalam jangka panjang maka hormon IGF-1 akan mengalami kegagalan sintesis sehingga terjadi penurunan kadar hormon IGF-1 (Kasprzak, 2021).

Hasil berbeda disampaikan oleh Primariayu (2018) bahwa diet tinggi karbohidrat dapat mempertahankan sensitivitas GH yang berada di liver, sehingga kadar IGF-1 juga ikut stabil. Primariayu (2018) juga menyampaikan bahwa diet tinggi karbohidrat dapat meningkatkan efek metabolik seperti glukosa dan insulin, sehingga kadar IGF-1 dapat dipertahankan dan bahkan meningkat. Perubahan asupan karbohidrat secara tidak langsung dapat berefek ke kadar hormon IGF-1 melalui insulin, karena sintesis IGF-1 juga diregulasi oleh hormon insulin yang berada di hepar. Oleh karena itu, peningkatan asupan karbohidrat akan meningkatkan kadar insulin di sirkulasi sehingga kadar IGF-1 meningkat (Primariayu *et al.*, 2018). Menurut Jung dan Choi (2017), meskipun diet tinggi karbohidrat memiliki kelebihan dalam meningkatkan penyimpanan glikogen sehingga menunda kelelahan, namun terdapat efek jangka panjang yang dapat ditimbulkan dalam penerapannya. Efek jangka panjang yang ditimbulkan diantaranya dapat memicu penyakit kardiovaskular, diabetes dan penyakit metabolik lainnya, sehingga penerapan diet tinggi karbohidrat tidak disarankan pada penelitian ini (Jung dan Choi, 2017).

Kelompok diet tinggi protein (DTP) merupakan kelompok kedua dengan rerata kadar hormon IGF-1 tinggi sekaligus kelompok dengan kadar hormon paling menyerupai kelompok diet gizi seimbang (DGS). Berdasarkan perbandingan rerata kadar hormon IGF-1 antara kelompok diet tinggi protein (DTP) dengan diet gizi seimbang (DGS) didapatkan bahwa kelompok DTP memiliki rerata kadar IGF-1 yang lebih rendah namun tidak

terdapat perbedaan rerata yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa asupan protein dapat berpengaruh secara langsung terhadap kadar hormon IGF-1. Penelitian David (2012) menyebutkan total asupan kalori dan asupan protein merupakan regulator penting kadar hormon IGF-1. David (2012) juga menambahkan bahwa asupan protein mempunyai pengaruh yang lebih signifikan karena setiap pengurangan 25% dalam asupan protein sudah dapat mengakibatkan penurunan kadar hormon IGF-1 (David, 2012). Hubungan positif antara diet tinggi protein dan kadar hormon IGF-1 turut disampaikan oleh Caputo (2021) bahwa hormon IGF-1 berperan menghambat pemecahan protein dan menstimulasi sintesis protein di otot dan jaringan lain, namun belum diketahui secara pasti mekanisme terkait efek diet tinggi protein terhadap kadar IGF-1 (Caputo *et al.*, 2021).

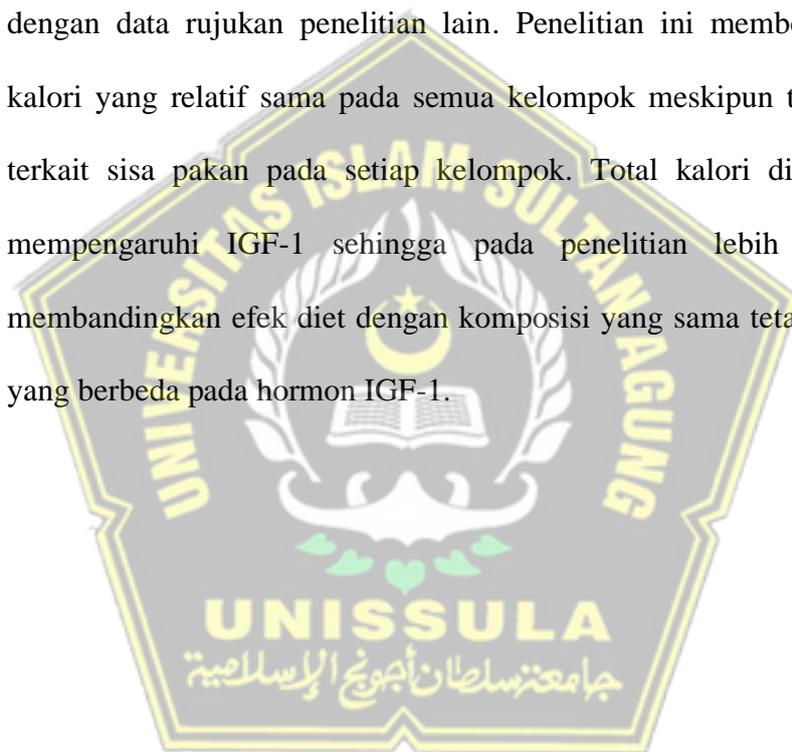
Pemberian diet tinggi protein memiliki kelebihan diantaranya dapat menurunkan berat badan dan mengatur nafsu makan. Individu dengan usia lanjut juga membutuhkan asupan tinggi protein untuk mengganti kehilangan massa otot dan osteoporosis akibat penuaan karena respon anabolik normal yang hilang dalam membangun protein baru. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa diet tinggi protein diketahui dapat meningkatkan laju filtrasi glomerulus sehingga memicu terjadinya penyakit ginjal kronis namun mekanisme yang mendasari bahwa diet tinggi protein dapat menyebabkan penyakit ginjal kronis masih menjadi kontroversi (Kalantar Zadeh dan Fouque, 2020). Berdasarkan penelitian ini, diet tinggi protein memiliki rerata kadar hormon IGF-1 menyerupai kelompok diet pakan

standar setelah kelompok diet gizi seimbang, sehingga diet tinggi protein dapat disarankan untuk meningkatkan kadar hormon IGF-1.

Kelompok diet tinggi lemak (DTL) memiliki kadar hormon IGF-1 yang cukup rendah dan memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok diet gizi seimbang (DGS). Hasil tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Primariayu (2018) yang menyatakan bahwa salah satu efek diet tinggi lemak adalah obesitas. Individu dengan obesitas mengalami peningkatan asam lemak bebas di dalam darah karena pembesaran sel adiposa yang selanjutnya akan menyekresi asam lemak bebas lebih banyak namun pembersihannya mengalami penurunan. Keadaan tersebut mengakibatkan sekresi hormon GH mengalami penurunan sehingga konsentrasi total hormon IGF-1 ikut mengalami penurunan (Primariayu *et al.*, 2018). Berdasarkan penelitian ini, diet tinggi lemak menyebabkan penurunan kadar IGF-1, menimbulkan obesitas serta penyakit kardiovaskular, sehingga penerapan diet tinggi lemak ke manusia tidak disarankan pada penelitian ini.

Berdasarkan pembahasan di atas, dapat disimpulkan bahwa setiap variasi komposisi makronutrien diet berpengaruh terhadap kadar hormon IGF-1. Kelompok diet gizi seimbang (DGS) dan kelompok diet tinggi protein (DTP) mempunyai rerata kadar hormon IGF-1 yang lebih rendah dibandingkan data rujukan penelitian lain, namun keduanya memiliki perbedaan rerata kadar hormon IGF-1 yang tidak jauh berbeda dengan data rujukan penelitian lain. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan diet tinggi

protein (DTP) merupakan kelompok dengan rerata kadar hormon IGF-1 yang paling menyerupai kelompok diet gizi seimbang (DGS). Selanjutnya, pada kelompok diet tinggi lemak (DTL) dan kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) ditemukan rerata kadar hormon IGF-1 yang lebih rendah dibandingkan data rujukan, dan perbedaan rerata kadar hormon IGF-1 yang paling signifikan ditemukan antara kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) dengan data rujukan penelitian lain. Penelitian ini memberikan asupan kalori yang relatif sama pada semua kelompok meskipun tidak ada data terkait sisa pakan pada setiap kelompok. Total kalori diketahui dapat mempengaruhi IGF-1 sehingga pada penelitian lebih lanjut dapat membandingkan efek diet dengan komposisi yang sama tetapi total kalori yang berbeda pada hormon IGF-1.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

- 5.1.1. Variasi komposisi makronutrien diet berpengaruh terhadap kadar hormon IGF-1.
- 5.1.2. Kelompok diet gizi seimbang (DGS) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 sebesar  $17,84 \pm 0,55$  pg/mL.
- 5.1.3. Kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 sebesar  $7,0 \pm 0,23$  pg/mL.
- 5.1.4. Kelompok diet tinggi protein (DTP) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 sebesar  $17,09 \pm 0,13$  pg/mL.
- 5.1.5. Kelompok diet tinggi lemak (DTL) memiliki rerata kadar hormon IGF-1 sebesar  $10,80 \pm 0,57$  pg/mL.
- 5.1.6. Kelompok diet gizi seimbang (DGS) memiliki perbedaan rerata dengan kelompok diet tinggi karbohidrat (DTK) sebesar  $10,84$  pg/mL.
- 5.1.7. Kelompok diet gizi seimbang (DGS) memiliki perbedaan rerata dengan kelompok diet tinggi protein (DTP) sebesar  $0,71$  pg/mL.
- 5.1.8. Kelompok diet gizi seimbang (DGS) memiliki perbedaan rerata dengan kelompok diet tinggi lemak (DTL) sebesar  $7,04$  pg/mL.

## 5.2. Saran

Saran yang dapat peneliti ajukan terkait dengan hasil penelitian ini adalah:

- 5.2.1. Perlu dicatat sisa pakan setiap hari untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan sisa pakan yang dapat menentukan adanya perbedaan total kalori pada tiap sampel.
- 5.2.2. Pada penelitian lebih lanjut dapat dipertimbangkan efek diet dengan komposisi yang sama tetapi total kalori yang berbeda terhadap kadar hormon IGF-1.



## DAFTAR PUSTAKA

- Akirov, A. Dotan. *et al.* (2021) “The biochemical diagnosis of acromegaly,” *Journal of Clinical Medicine*, 10(5), hal. 1–8. doi: 10.3390/jcm10051147.
- Ban, B. (2018) “Nutritional Regulation of Growth Hormone/ Insuline-like Growth Factor Axis,” *Nutri Food Sci Int J*, 7(5), hal. 10–12. doi: 10.19080/NFSIJ.2018.07.555725.
- Barclay, R. Burd, N. *et al.* (2019) “The Role of the IGF-1 Signaling Cascade in Muscle Protein Synthesis and Anabolic Resistance in Aging Skeletal Muscle,” *Frontiers in Nutrition*, 6. doi: 10.3389/fnut.2019.00146.
- Bartke, A. Chandrashekar, F. *et al.* (2003) “Insulin-like growth factor 1 ( IGF-1 ) and aging : Controversies and new insights Insulin-like growth factor 1 ( IGF-1 ) and aging : controversies and new,” 1(May 2014). doi: 10.1023/A.
- Bedogni, G. Giannone, G. *et al.* (2012) “Growth Hormone & IGF Research Serum insulin-like growth factor-I ( IGF-I ) reference ranges for chemiluminescence assay in childhood and adolescence . Data from a population of in- and out-patients,” *YGHIR*, 22(3–4), hal. 134–138. doi: 10.1016/j.ghir.2012.04.005.
- Bilen, O. Altun, Z. *et al.* (2014) “The effect of malnutrition on protein glycosylation in children,” *Iranian Journal of Pediatrics*, 24(3), hal. 273–279. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2011.03.057.
- Bleach, R. Sherlock, M. *et al.* (2021) “Growth Hormone/Insulin Growth Factor Axis in Sex Steroid Associated Disorders and Related Cancers,” *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9(March), hal. 1–15. doi: 10.3389/fcell.2021.630503.
- Blum, W. Werner, F. *et al.* (2018) “The growth hormone-insulin-like growth factor-I axis in the diagnosis and treatment of growth disorders,” *Endocrine Connections*, 7(6), hal. R212–R222. doi: 10.1530/EC-18-0099.
- Burchfield, J. Kabede. *et al.* (2018) “High dietary fat and sucrose results in an extensive and time-dependent deterioration in health of multiple physiological systems in mice,” *Journal of Biological Chemistry*, 293(15), hal. 5731–5745. doi: 10.1074/jbc.RA117.000808.
- Buyken, A. Mela, D. *et al.* (2018) “Dietary carbohydrates: a review of international recommendations and the methods used to derive them,” *European Journal of Clinical Nutrition*, 72(12), hal. 1625–1643. doi: 10.1038/s41430-017-

0035-4.

- Calvez, J. Chesneau. *et al.* (2012) “Protein intake, calcium balance and health consequences,” *European Journal of Clinical Nutrition*, 66(3), hal. 281–295. doi: 10.1038/ejcn.2011.196.
- Cao. Nielsen, F. H. (2010) “Acid diet (high-meat protein) effects on calcium metabolism and bone health,” *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13(6), hal. 698–702. doi: 10.1097/MCO.0b013e32833df691.
- Caputo, M. Pigni, S. *et al.* (2021) “Regulation of gh and gh signaling by nutrients,” *Cells*, 10(6). doi: 10.3390/cells10061376.
- Chouliaras, G. Mantzou, D. *et al.* (2018) “Body height in paediatric inflammatory bowel diseases: A structural equation model analysis,” *European Journal of Clinical Investigation*, 48(8), hal. 0–2. doi: 10.1111/eci.12969.
- Crosby, P. Hamnett, R. *et al.* (2019) “Insulin/IGF-1 Drives PERIOD Synthesis to Entrain Circadian Rhythms with Feeding Time,” *Cell*, 177(4), hal. 896-909.e20. doi: 10.1016/j.cell.2019.02.017.
- Cuenca-Sánchez, M., Navas-Carrillo, D. *et al.* (2015) “Controversies surrounding high-protein diet intake: Satiating effect and kidney and bone health,” *Advances in Nutrition*, 6(3), hal. 260–266. doi: 10.3945/an.114.007716.
- David, R. (2012) “Metabolic Actions of IGF-1 in Normal Physiology and Diabetes,” *Endocrinol Metab Clin North Am.*, 69 LNICST(919), hal. 235–242. doi: 10.1016/j.ecl.2012.04.017.
- DeBoer, M. Scharf, A. *et al.* (2017) “Systemic inflammation, growth factors, and linear growth in the setting of infection and malnutrition,” *Nutrition*, 33, hal. 248–253. doi: 10.1016/j.nut.2016.06.013.
- Dogansen, S. Yalin, G. *et al.* (2018) “Impact of Glucose Metabolism Disorders on IGF-1 Levels in Patients with Acromegaly,” *Hormone and Metabolic Research*, 50(5), hal. 408–413. doi: 10.1055/a-0594-2404.
- Enny, P. (2019) “e ISSN: 2622-8483; p ISSN: 2338-3380 JNH (Journal of Nutrition and Health) Vol.7 No.1 2019,” 7(1), hal. 33–39.
- Faerch, L. Juul, A. *et al.* (2012) “Association of IGF1 with glycemic control and occurrence of severe hypoglycemia in patients with type 1 diabetes mellitus,” *Endocrine Connections*, 1(1), hal. 31–36. doi: 10.1530/ec-12-0012.

- Friedrich, N. Thuesen, B. *et al.* (2012) “The association between IGF-I and insulin resistance: A general population study in Danish adults,” *Diabetes Care*, 35(4), hal. 768–773. doi: 10.2337/dc11-1833.
- Fuentes, E. Einarisdottir, J. *et al.* (2012) “Inherent growth hormone resistance in the skeletal muscle of the fine flounder is modulated by nutritional status and is characterized by high contents of truncated GHR, impairment in the JAK2/STAT5 signaling pathway, and low IGF-I expression,” *Endocrinology*, 153(1), hal. 293–294. doi: 10.1210/en.2011-1313.
- Geng, L. Wang, X. *et al.* (2021) “The IGF-1/GH-GLUTs-plasma glucose regulating axis in hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *epinephelus lanceolatus*♂) fed a high-carbohydrate diet,” *General and Comparative Endocrinology*, 307(January). doi: 10.1016/j.ygcen.2021.113744.
- Genton, L. (2011) “Clinical Nutrition University: Calorie and macronutrient requirements for physical fitness,” *e-SPEN*, 6(2), hal. e77–e84. doi: 10.1016/j.eclnm.2011.01.008.
- Giovannucci, E. Pollack, M. *et al.* (2003) “Nutritional predictors of insulin-like growth factor I and their relationships to cancer in men,” *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 12(2), hal. 84–89.
- Groenendijk, I. Den Boeft, L. *et al.* (2019) “High Versus low Dietary Protein Intake and Bone Health in Older Adults: a Systematic Review and Meta-Analysis,” *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 17, hal. 1101–1112. doi: 10.1016/j.csbj.2019.07.005.
- Guerra-Cantera, et al. (2020) “Impact of long-term hfd intake on the peripheral and central igf system in male and female mice,” *Metabolites*, 10(11), hal. 1–21. doi: 10.3390/metabo10110462.
- Guerra-Cantera, S. Frago, F. *et al.* (2020) “Short-Term Diet Induced Changes in the Central and Circulating IGF Systems Are Sex Specific,” *Frontiers in Endocrinology*, 11(August), hal. 1–12. doi: 10.3389/fendo.2020.00513.
- Hara, M. Nishi, Y. *et al.* (2014) “Relation between circulating levels of GH, IGF-1, ghrelin and somatic growth in Rett syndrome,” *Brain and Development*, 36(9), hal. 794–800. doi: 10.1016/j.braindev.2013.11.007.
- Harnischfeger, F. O'connel, M. *et al.* (2021) “Sprague dawley rats gaining weight on a high energy diet exhibit damage to taste tissue even after return to a healthy diet,” *Nutrients*, 13(9). doi: 10.3390/nu13093062.
- Hawkes, C. P. dan Grimberg, A. (2015) “Insulin-like growth factor-I is a marker for the nutritional state,” *Pediatric Endocrinology Reviews*, 13(2), hal. 499–

511.

- Holmes, M. D., Pollak, M. *et al.* (2002) "Lifestyle correlates of plasma insulin-like growth factor I and insulin-like growth factor binding protein 3 concentrations," *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 11(9), hal. 862–867.
- Husna, F. Suyatna, F. *et al.* (2019) "Model Hewan Coba pada Penelitian Diabetes," *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(3), hal. 131–141. doi: 10.7454/psr.v6i3.4531.
- Jung, C. H. dan Choi, K. M. (2017) "Impact of high-carbohydrate diet on metabolic parameters in patients with type 2 diabetes," *Nutrients*, 9(4). doi: 10.3390/nu9040322.
- Kaklamani, B. Virginia, G. *et al.* (2016) "Dietary fat and carbohydrate are independently associated with circulating insuline-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3 concentration," 17(10), hal. 3291–3298.
- Kalantar Zadeh, H. M. dan Fouque (2020) "High-protein diet is bad for kidney health: Unleashing the taboo," *Nephrology Dialysis Transplantation*, 35(1), hal. 1–4. doi: 10.1093/ndt/gfz216.
- Kasprzak, A. (2021) *Insulin-like growth factor 1 (Igf-1) signaling in glucose metabolism in colorectal cancer*, *International Journal of Molecular Sciences*. doi: 10.3390/ijms22126434.
- Kazemi, A. Speakman, S. *et al.* (2020) "Effect of calorie restriction or protein intake on circulating levels of insulin like growth factor I in humans: A systematic review and meta-analysis," *Clinical Nutrition*, 39(6), hal. 1705–1716. doi: 10.1016/j.clnu.2019.07.030.
- Kumar, A. Kalra, B. *et al.* (2014) "Development of IGF-1 ELISA Assays to Measure Free and Total Circulating IGF-1," hal. 77598.
- Laron, Z. (2001) "Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): A growth hormone," *Journal of Clinical Pathology - Molecular Pathology*, 54(5), hal. 311–316. doi: 10.1136/mp.54.5.311.
- Lee, D. Hwang, M. *et al.* (2015) "Effects of nutritional components on aging," *Aging Cell*, 14(1), hal. 8–16. doi: 10.1111/accel.12277.
- Lewitt, M. Dent, M. *et al.* (2014) "The Insulin-Like Growth Factor System in Obesity, Insulin Resistance and Type 2 Diabetes Mellitus," *Journal of Clinical Medicine*, 3(4), hal. 1561–1574. doi: 10.3390/jcm3041561.

- Lim, S. (2018) "Eating a balanced diet: A healthy life through a balanced diet in the age of longevity," *Journal of Obesity and Metabolic Syndrome*, 27(1), hal. 39–45. doi: 10.7570/JOMES.2018.27.1.39.
- Livingstone, C. (2013) "Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and clinical nutrition," *Clinical Science*, 125(6), hal. 265–280. doi: 10.1042/CS20120663.
- Locatelli, V. dan Bianchi, V. E. (2014) "Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporosis," *International Journal of Endocrinology*, 2014. doi: 10.1155/2014/235060.
- Loss, D. W. (2020) "Clinical Evidence and Mechanisms of High-Protein," hal. 166–173.
- Magdalena, I. dan Suryani, E. (2016) "Ilmu Gizi," *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952., hal. 5–24.
- Maggio, M. De Vita, F. *et al.* (2013) "IGF-1, the cross road of the nutritional, inflammatory and hormonal pathways to frailty," *Nutrients*, 5(10), hal. 4184–4205. doi: 10.3390/nu5104184.
- Mente, A. Dehghan, M. *et al.* (2017) "Association of dietary nutrients with blood lipids and blood pressure in 18 countries: a cross-sectional analysis from the PURE study," *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 5(10), hal. 774–787. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30283-8.
- Mishra, S. Harris. *et al.* (2015) "The association of serum leptin with mortality in older adults," *PLoS ONE*, 10(10), hal. 1–11. doi: 10.1371/journal.pone.0140763.
- Mutiyani (2014) "Efek Diet Tinggi Karbohidrat dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kepadatan Sel Beta Pankreas Pada Tikus Wistar," *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 1(6), hal. 536.
- Nazli, S. Loeser, R. *et al.* (2017) "High fat-diet and saturated fatty acid palmitate inhibits IGF-1 function in chondrocytes," *Osteoarthritis and Cartilage*, 25(9), hal. 1516–1521. doi: 10.1016/j.joca.2017.05.011.
- Nurseto, F. Tarigan, H. *et al.* (2019) "Pengaruh latihan erob dengan diet rendah karbohidrat terhadap penurunan indeks massa tubuh (IMT)," 1(1), hal. 8–15.
- Otto, G. Franklin, C. L. *et al.* (2015) *Biology and Disease of Rats, Endocrine*.
- Primariayu, M. Hariani, R. *et al.* (2018) "IGF-1 Levels Among Adolescent Girls Living In Jakarta and It's relation to Nutritional Status," *World Nutrition*

*Journal*, 1(2), hal. 9. doi: 10.25220/wnj.v01i2.0003.

- Reeves, P. G. dan Suppl, M. (1997) "Symposium : Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research Components of the AIN-93 Diets as Improvements in the AIN-76A Diet 1 , 2," *Experimental Biology*, 127(March), hal. 838–841.
- Rizi, E. Loh, T. *et al.* (2018) "A high carbohydrate, but not fat or protein meal attenuates postprandial ghrelin, PYY and GLP-1 responses in Chinese men," *PLoS ONE*, 13(1), hal. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0191609.
- Rodriguez (2020) "Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice?," *Nutrition and Diabetes*, 10(1). doi: 10.1038/s41387-020-0127-4.
- Rodwell, V. Bender, K. *et al.* (2015) *Harper's Illustrated Biochemistry Edition 30*.
- Sarwar, M. Haroon, Sarwar. *et al.* (2015) "Effects of eating the balance food and diet to protect human health and prevent diseases," *American Journal of Circuits, Systems and Signal Processing*, 1(3), hal. 99–104.
- Sarwar, F. (2013) "The role of oilseeds nutrition in human health: A critical review," *Journal of Cereals and Oilseeds*, 4(8), hal. 97–100. doi: 10.5897/jco12.024.
- Seidemann, S. Clagett, S. *et al.* (2018) "Dietary carbohydrate intake and mortality: a prospective cohort study and meta-analysis," *The Lancet Public Health*, 3(9), hal. e419–e428. doi: 10.1016/S2468-2667(18)30135-X.
- Solon-Biet, S. Mitchell, S. *et al.* (2015) "Macronutrients and caloric intake in health and longevity," *Journal of Endocrinology*, 226(1), hal. R17–R28. doi: 10.1530/JOE-15-0173.
- Soto, M. Cai, W. *et al.* (2019) "Insulin signaling in the hippocampus and amygdala regulates metabolism and neurobehavior," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(13), hal. 6379–6384. doi: 10.1073/pnas.1817391116.
- Stoeva, I. Aroyo, A. *et al.* (2015) "Serum IGF-1 levels measured by different ELISA assays and IRMA - a comparability study," *Scripta Scientifica Medica*, 47(1), hal. 39. doi: 10.14748/ssm.v47i1.1061.
- Takahashi, Y. (2017) "The role of growth hormone and insulin-like growth factor-I in the liver," *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). doi: 10.3390/ijms18071447.

- Tyagita, N. dan Safitri, A. (tanpa tanggal) “Kadar Hormon IGF-1 pada Tikus Sprague Dawley dengan Modifikasi Komposisi Makronutrien Diet,.” hal.
- Type, S. D. dan Ageing, O. P. (2011) “SPRAGUE DAWLEY ® Rat Detailed specifications Main application and research fields.”
- Upadhyay, J. Farr, O. M. *et al* (2015) “The role of leptin in regulating bone metabolism,” *Metabolism: Clinical and Experimental*, 64(1), hal. 105–113. doi: 10.1016/j.metabol.2014.10.021.
- Utami, R. W. dan Kusumastuti, A. C. (2014) “College , Volume Tahun Halaman Nutrition College,” *Journal of Nutrition College*, 3(4), hal. 737–744.
- Valentim, A. Guedes, S. *et al.* (2016) “Euthanasia using gaseous agents in laboratory rodents,” *Laboratory Animals*, 50(4), hal. 241–253. doi: 10.1177/0023677215618618.
- Wali, J. Jarzebska, N. *et al.* (2020) “Cardio-Metabolic Effects of High-Fat Diets and Their Underlying Mechanisms — A Narrative Review,” hal. 1–18.
- Wang, J. Rizvi, S. *et al.* (2007) “Characterization of Benign and Malignant Prostate Epithelial tHoechst 33342 Side Populations,” *Prostate*, 67(April), hal. 1384–1396. doi: 10.1002/pros.
- Wang, W. Duan, X. *et al.* (2021) “The GH-IGF-1 Axis in Circadian Rhythm,” *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14(September), hal. 1–9. doi: 10.3389/fnmol.2021.742294.
- Yakar, S. dan Adamo, M. L. (2017) “Insulin-Like Growth Factor-1 Physiology: Lessons from Mouse Models,” hal. 1–18. doi: 10.1016/j.ecl.2012.04.008. Insulin-Like.
- Yumani, D. F. J. Calor, A. K. *et al* (2020) “The course of IGF-1 levels and nutrient intake in extremely and very preterm infants during hospitalisation,” *Nutrients*, 12(3), hal. 1–14. doi: 10.3390/nu12030675.
- Zhu, K. Meng, X. *et al.* (2011) “The effects of a two-year randomized, controlled trial of whey protein supplementation on bone structure, IGF-1, and urinary calcium excretion in older postmenopausal women,” *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(9), hal. 2298–2306. doi: 10.1002/jbmr.429.