

TESIS

**KADAR IGF-1, EKSPRESI TGF- β DAN KORPUS LUTEUM PADA
Rattus norvegicus MODEL SOPK DENGAN RESISTENSI INSULIN
PASCADIET RENDAH KARBOHIDRAT TINGGI PROTEIN**



ERMAWATI

**PROGRAM STUDI STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**KADAR IGF-1, EKSPRESI TGF- β DAN KORPUS LUTEUM PADA
Rattus norvegicus MODEL SOPK DENGAN RESISTENSI INSULIN
PASCADIET RENDAH KARBOHIDRAT TINGGI PROTEIN**

**ERMAWATI
011724653002**

**PROGRAM STUDI STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**KADAR IGF-1, EKSPRESI TGF- β DAN KORPUS LUTEUM PADA
Rattus norvegicus MODEL SOPK DENGAN RESISTENSI INSULIN
PASCADIET RENDAH KARBOHIDRAT TINGGI PROTEIN**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Pada Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

**Oleh
ERMAWATI
011724653002**

**PROGRAM STUDI STUDI ILMU KESEHATAN REPRODUKSI
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS YANG TELAH DIUJI
PADA TANGGAL, 15 Mei 2020

Pembimbing I



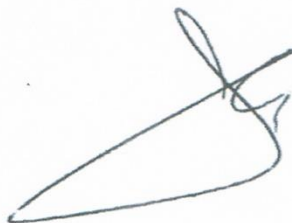
Prof. Dr. H. Budi Santoso dr, SpOG (K)
NIP. 96302171989111001

Pembimbing II



Prof. Dr. Widjiati, drh, M.Si
NIP. 196209151990022001

Mengetahui,
Koordinator Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Hermanto Tri Joewono, Sp.OG(K)
NIP. 195601282016016101

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 15 Mei 2020

Panitia Penguji Tesis

Ketua : Dr. Ashon Sa'adi, dr., Sp.OG(K).

Anggota : 1. Prof. Dr. H. Budi Santoso dr., SpOG (K).
2. Prof. Dr. Widjiati, drh., M.Si.
3. Muhammad Miftahussurur, dr., M.Kes., Sp.PD., Ph.D.
4. Dr. Budi Utomo, dr., M.Kes.

Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Tentang Panitia Penguji Tesis

PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis berjudul:

**Kadar IGF-1, ekspresi TGF- β dan korpus luteum pada *Rattus norvegicus*
model SOPK dengan resistensi insulin pascadiet
rendah karbohidrat tinggi protein.**

Tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 15 Mei 2020



Ermawati
011724653002

UCAPAN TERIMAKASIH

Alhamdulillah Rabbil'alamin, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Penelitian ini dapat diselesaikan tidak lepas dari dorongan, bimbingan, arahan dan koreksi dari para pembimbing penelitian penulis, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

Prof. Dr. H. Budi Santoso, SpOG (K), Wakil Dekan III fakultas kedokteran Universitas Airlangga dan sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini, yang dengan penuh kesabaran, pengertian dan perhatian telah memberikan dukungan, meluangkan banyak waktu untuk berdiskusi dan memperluas wawasan penulis dan mengenalkan tentang SOPK secara luas, penulis ucapkan terimakasih yang tak terhingga.

Prof. Widjiati, drh., M.Si, guru besar fakultas kedokteran hewan Universitas Airlangga dan sekaligus sebagai pembimbing dalam penelitian ini, dengan sabar dan perhatian telah memberikan masukan penting dan mendasar dari bidang keahliannya yang sangat bermanfaat bagi peningkatan mutu penelitian ini, penulis ucapkan terimakasih yang tak terhingga.

Dengan selesainya penelitian ini, perkenankanlah penulis juga menyampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT.Ak., CMA, selaku Rektor Universitas Airlangga, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menempuh program pendidikan magister ilmu kesehatan reproduksi fakultas kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
2. Prof. Dr. Soetojo, dr., SpU(K), selaku Dekan fakultas kedokteran Universitas Airlangga Surabaya atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menempuh program pendidikan magister ilmu kesehatan reproduksi fakultas kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Akhirnya dalam kesempatan ini penulis sampaikan rasa hormat dan terimakasih sayang kepada:

Suami tercinta Ir. Choirul Anam, Amd.Tem., M.Hum, yang selalu memberikan dukungan moral serta materi, semangat dan motivasi hingga saat ini. Kedua orang tua dan bapak ibu mertua yang dengan tulus selalu memberikan doa terbaik selama menjalani perkuliahan ini. Putra putri tersayang Irza Anam Taruna dan Azhira Anam Faradisa yang selalu menjadi sumber kebahagiaan kami. Semua saudara dan kerabat yang turut serta memberikan dukungan dan motivasi, serta semua pihak yang telah memotivasi, mendukung dan membantu hingga penelitian ini dapat diselesaikan.

Semoga penelitian ini bermanfaat bagi perkembangan ilmu kedokteran selanjutnya. Semoga Allah Subhanahu wa Ta'ala melimpahkan taufik dan hidayah-Nya kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini. Amin.

Surabaya, 15 Mei 2020

Peneliti,

Ermawati

RINGKASAN

KADAR IGF-1, EKSPRESI TGF- β DAN KORPUS LUTEUM PADA *Rattus norvegicus* MODEL SOPK DENGAN RESISTENSI INSULIN PASCADIET RENDAH KARBOHIDRAT TINGGI PROTEIN

Ermawati

Sindrom ovarium polikistik (SOPK) merupakan endokrinopati multifaktorial yang umum pada wanita, mempengaruhi 10% - 15% wanita usia reproduksi. Wanita dengan SOPK sering mengalami gangguan metabolisme, kardiovaskular, diabetes tipe II, dislipidemia, obesitas visceral dan faktor risiko disfungsi endotel. Oleh karena itu, SOPK tidak hanya masalah kesuburan tetapi juga masalah kesehatan utama yang dapat mempersingkat harapan hidup wanita. Etiologi yang mendasari SOPK masih belum diketahui akan tetapi ada kemungkinan memiliki korelasi yang kuat dengan resistensi insulin. Resistensi insulin mengarah pada terjadinya hiperinsulinemia yang dapat meningkatkan produksi androgen di ovarium dan mengakibatkan hiperandrogenisme.

Pensinyalan Insulin dan IGF-1 melibatkan banyak titik regulasi yang dikontrol baik secara positif maupun negatif untuk memastikan durasi dan intensitas sinyal yang tepat. Gangguan pada jalur pensinyalan ini dapat menyebabkan resistensi insulin. *Transforming Growth Factor β* (TGF- β) juga dikaitkan dengan kondisi SOPK dan resistensi insulin, hal ini karena TGF- β merupakan regulator yang kuat untuk proliferasi dan diferensiasi banyak jenis sel dengan mengarahkan ekspresi ratusan gen target termasuk insulin. Korpus luteum (CL) merupakan indikator telah terjadinya ovulasi pada oosit. Wanita dengan SOPK menunjukkan adanya peningkatan jumlah folikel primer. Terhambatnya folikulogenesis menyebabkan henti meiosis oosit yang mempengaruhi pertumbuhan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara kadar IGF-1, ekspresi TGF- β dan korpus luteum pada tikus model SOPK-RI pascadiet rendah karbohidrat tinggi protein.

Desain penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Design*, dengan pendekatan *Posttest Control Group Design*. Subyek penelitian menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*), pengambilan sampel dengan teknik *simple random sampling* sebanyak 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 12 hewan coba. Pemodelan SOPK disertai resistensi insulin dengan penyuntikan hormon *testosteron provionat* dengan dosis 100 mg/kg BB selama 28 hari. Kelompok kontrol diberi pakan standard dan kelompok perlakuan diberi pakan rendah karbohidrat tinggi protein dengan komposisi karbohidrat 40%, protein 30% dan lemak 30%. Pemeriksaan kadar IGF-1 diukur dengan *ELISA*, pemeriksaan ekspresi TGF- β dengan Imunohistokimia dan pemeriksaan jumlah korpus luteum dengan *Haematocilin-Eosin*.

Hasil pemeriksaan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa distribusi data rerata kadar IGF-1 pada masing-masing kelompok adalah normal ($p > 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi ($p = 0,923$) yang berarti data homogen, dilanjutkan dengan uji ANOVA menunjukkan signifikansi ($p = 0,000$), hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan. Untuk mengetahui perbedaan rerata kadar IGF-1 pada masing-masing kelompok, maka dilakukan uji *LSD post hoc test* dengan hasil menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan rerata kadar IGF-1 antara K+ dengan K- ($p = 0,000$), KP dengan K- ($p = 0,000$), sedangkan KP dengan K+ tidak menunjukkan perbedaan signifikan rerata kadar IGF-1 ($p = 0,075$).

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* rerata ekspresi TGF- β menunjukkan bahwa distribusi data rerata ekspresi TGF- β pada masing-masing kelompok adalah normal ($p > 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi ($p = 0,133$) yang berarti data homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA diketahui nilai $p = 0,172$ menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan rerata ekspresi TGF- β .

Uji normalitas *Shapiro-Wilk* rerata jumlah korpus luteum menunjukkan bahwa distribusi data rerata jumlah korpus luteum pada masing-masing kelompok adalah normal ($p > 0,05$), maka analisis dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene statistic*. Hasil uji homogenitas menunjukkan signifikansi ($p = 0,531$) yang berarti data homogen, kemudian dilanjutkan dengan uji ANOVA diketahui nilai $p = 0,232$ menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan signifikan rerata jumlah korpus luteum.

Kesimpulan penelitian ini adalah pemberian diet rendah karbohidrat tinggi protein pada tikus model SOPK-RI dapat menurunkan kadar IGF-1 tetapi tidak dapat meningkatkan ekspresi TGF- β dan jumlah korpus luteum, tidak terdapat hubungan antara kadar IGF-1 dengan ekspresi TGF- β dan jumlah korpus luteum.

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menambah variasi persentase karbohidrat dan protein untuk mengetahui komposisi yang tepat dalam pemberian diet RKTP, selain itu untuk melihat efek pemberian diet rendah karbohidrat tinggi protein dengan penambahan variabel terikat seperti sitokin proinflamasi (TNF- α , IL-1, IL-6), ROS, AGE's, dan insulin.

SUMMARY

IGF-1 LEVEL, TGF- β EXPRESSION AND CORPUS LUTEUM IN *Rattus norvegicus* MODEL OF PCOS WITH INSULIN RESISTANCE AFTER A LOW-CARB-HIGH-PROTEIN DIET

Ermawati

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is a multifactorial endocrinopathy that is common in women, affecting 10% - 15% of women reproductive age. Women with PCOS often experience metabolic, cardiovascular, type II diabetes, dyslipidemia, visceral obesity and risk factors for endothelial dysfunction. Therefore, PCOS is not only a fertility problem but also a major health problem that can shorten a woman's life expectancy. The etiology underlying PCOS is still unknown but there is a possibility of having a strong correlation with insulin resistance. Insulin resistance leads to hyper-insulinemia which can increase androgen production in the ovary and cause hyper-androgenism.

Insulin and IGF-1 signaling involves many regulatory points that are controlled both positively and negatively to ensure the correct duration and intensity of the signal. Disorders of this signaling pathway can cause insulin resistance. Transforming Growth Factor β (TGF- β) is also associated with PCOS conditions and insulin resistance, this is because TGF- β is a powerful regulator for the proliferation and differentiation of many cell types by directing the expression of hundreds target genes including insulin. The *Corpus Luteum* (CL) is an indicator of ovulation in the oocyte. Women with PCOS show an increase in the number of primary follicles. Inhibition of folliculogenesis causes stopping of oocyte meiosis which affects growth.

This study aims to determine the relation between IGF-1 levels, TGF- β expression and corpus luteum in rat PCOS-IR model with low carbohydrate high protein diet.

The research design used was True Experimental Design, with Posttest Control Group Design approach. The research subjects used white rats (*Rattus norvegicus*), sampling with simple random sampling technique as many as 3 groups, namely the negative control group, the positive control group and the treatment group. Each group consists of 12 experimental animals. Modeling PCOS accompanied by insulin resistance by injecting the hormone testosterone provionate at a dose of 100 mg/kg BW for 28 days. The control group was given standard feed and the treatment group was given a low-protein high-carbohydrate feed with a composition of 40% carbohydrate, 30% protein and 30% fat. IGF-1 levels were measured by ELISA, TGF- β examination by immunohistochemistry and examination of *corpus luteum* with Haematocyclin-Eosin.

The results of Shapiro-Wilk normality test showed that the average distribution of IGF-1 levels in each group was normal ($p > 0.05$), so the analysis was continued with a homogeneity test using Levene statistics. Homogeneity test results showed significance (p) = 0.923 which means homogeneous data, followed by ANOVA test showed significance (p) = 0,000, this indicates that there were significant differences. To find out the difference in mean IGF-1 levels in each group, a post hoc LSD test was performed with the results showing that there

were significant differences in mean IGF-1 levels between K+ and K- ($p = 0.000$), KP with K- ($p = 0.000$), while KP with K+ did not show significant differences in mean IGF-1 levels ($p = 0.075$).

The Shapiro-Wilk normality test results of TGF- β expression showed that the distribution of TGF- β average data in each group was normal ($p > 0.05$), so the analysis was continued with homogeneity test using Levene statistics. Homogeneity test results showed significance (p) = 0.133 which means homogeneous data, then proceed with ANOVA test known that the value of $p = 0.172$ showed that there was no significant difference in the mean expression of TGF- β .

Shapiro-Wilk normality test the mean number of corpus luteum shows that the average data distribution of corpus luteum number in each group is normal ($p > 0.05$), then the analysis is continued with homogeneity test using Levene statistics. Homogeneity test results showed significance (p) = 0.531 which means homogeneous data, then proceed with ANOVA test known that the value of $p = 0.232$ showed that there was no significant difference in the mean number of corpus luteum.

The conclusion of this study is that a low-carbohydrate-high-protein diet in SOPK-RI mice can reduce IGF-1 levels but cannot increase TGF- β expression and *corpus luteum* number, there is no relation between IGF-1 levels and TGF- β expression and the amount *corpus luteum*.

Suggestions for further research is that further research needs to be done by increasing the variation of carbohydrate and protein percentages to find out the exact composition in the LCHP diet, besides to see the effect of low-carbohydrate-high-protein diets by adding bound variables such as proinflammatory cytokines (TNF- α , IL -1, IL-6), ROS, AGE's, and insulin.