

Penurunan Kadar Trigliserida pada Tikus Jantan dengan Terapi *Growth Hormone*

(*DECREASE OF TRIGLYCERIDE LEVEL IN MALE RAT BY GROWTH HORMONE TREATMENT*)

I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti, I Wayan Sugiritama, Ida Ayu Ika Wahyuniari,
Ni Made Linawati, I Gusti Ngurah Mayun, Dewa Ayu Agus Sri Laksemi,
I Gusti Ngurah Sri Wiryawan, I Gusti Kamasan Nyoman Arijana

Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran,
Universitas Udayana, Jln. Sudirman, Denpasar.
Telepon: 62361222510 (401), Email: mynameisratna@yahoo.com

ABSTRAK

Penggunaan *growth hormone* (GH) sebagai terapi penyakit kardiovaskuler masih kontroversial. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh terapi *growth hormone* terhadap kadar trigliserida plasma pada keadaan dislipidemia. Penelitian dengan rancangan *pre and post control group* dilakukan dengan menggunakan 20 ekor tikus jantan dislipidemia (kolesterol total >200mg/dL) yang berumur 11–12 bulan. Subjek penelitian dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Perlakuan yang diberikan adalah aquades (P0), GH 0,02 IU/hari (P1), GH 0,04 IU/hari (P2), dan GH 0,08 IU/hari (P3). Semua subjek diberikan diet tinggi kolesterol selama tiga minggu untuk mencapai keadaan dislipidemia. Aquades dan GH kemudian diinjeksikan satu kali sehari selama dua minggu secara subkutan. Pemeriksaan kadar trigliserida plasma dilakukan pada hari ke-22 dan hari ke-38 dengan metode kolorimetrik enzimatik. Rataan kadar trigliserida plasma *pre test* pada semua kelompok adalah 136,30 mg/dL dan tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p > 0,05$). Terapi *growth hormone* dapat menurunkan kadar trigliserida plasma hingga 11,78% pada P1 (118,82 mg/dL, $p < 0,01$), 23,46% pada P2 (103,41 mg/dL, $p < 0,01$), dan 35,15% pada P3 (90,22 mg/dL, $p < 0,01$). Perbandingan kadar trigliserida *post test* juga menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p < 0,01$). Penelitian ini menunjukkan bahwa terapi *growth hormone* dapat menurunkan kadar trigliserida plasma pada tikus dislipidemia. Namun, penelitian lebih lanjut dibutuhkan untuk mengetahui secara langsung pengaruhnya terhadap penyakit kardiovaskuler.

Kata-kata kunci: *growth hormone*, trigliserida, dislipidemia.

ABSTRACT

The use of growth hormone (GH) as cardiovascular disease treatment is still controversial. In this preliminary study the effect of growth hormone therapy on plasma triglyceride level in dyslipidemia was examined. Pre and post control group design study was done using 20 dyslipidemic (total cholesterol > 200mg/dL) male rats, age 11–12 month-old. The subjects were divided into four groups, aquadest (P0), GH 0.02 IU/day (P1), GH 0.04 IU/day (P2), and GH 0.08 IU/day (P3). All subjects were given high cholesterol diet for three weeks to achieve dyslipidemic in blood level. Aquadest and GH were injected subcutaneously once daily for two weeks. Triglyceride plasma level was measured on day 22nd and 38th by using colorimetric enzymatic test. The mean of pre test plasma triglyceride level of all groups was 136.30 mg/dL and no significant difference was found among the groups ($p > 0.05$). Growth hormone therapy significantly reduced plasma triglyceride level of P1 by 11.78% (118.82 mg/dL, $p < 0.01$), P2 by 23.46% (103.41 mg/dL, $p < 0.01$), and P3 by 35.15% (90.22 mg/dL, $p < 0.01$). Comparison of post test data among the groups showed significant difference ($p < 0.01$). This study show that growth hormone therapy could reduce plasma triglyceride level in dyslipidemic rat. However, further research is needed to more understand the effect of the therapy on cardiovascular diseases.

Keywords: growth hormone, triglyceride, dyslipidemia.

PENDAHULUAN

Proses penuaan ditandai dengan penurunan kapasitas fisik dan mental. Hal tersebut menyebabkan kemunduran berbagai fungsi tubuh yang bermanifestasi sebagai keluhan dan penyakit yang berhubungan dengan penuaan. Secara neuroendokrin, penuaan disebabkan oleh perubahan kadar hormon dalam tubuh, oleh karena itu terapi sulih hormon digunakan sebagai salah satu terapi pada penuaan (Pangkahila, 2007; Jin, 2010).

Salah satu hormon yang sering digunakan dalam terapi antipenuaan adalah *growth hormone* (GH). *Growth hormone* merupakan hormon pertumbuhan yang terdiri atas 191 asam amino. Hormon tersebut diproduksi oleh sel somatotrof pada kelenjar hipofisis bagian anterior. Secara fisiologi efek utama dari hormon tersebut adalah merangsang pertumbuhan serta mengatur metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. *Growth hormone*, selain bekerja secara langsung, juga diperantarai oleh *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1), yang terutama diproduksi di hati (Bideci dan Camurdan, 2009; Jørgensen, 2010).

Penggunaan GH sebagai terapi antipenuaan masih menuai kontroversi. Pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa GH mampu meningkatkan kualitas hidup, memperbaiki kadar kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) dan *High Density Lipoprotein* (HDL), serta meningkatkan densitas tulang dan kekuatan otot (Pangkahila, 2007). Namun, manfaatnya dalam mencegah penyakit yang berhubungan dengan penuaan, terutama kardiovaskuler, belum dapat dibuktikan (Colao *et al.*, 2008; Oliviera *et al.*, 2007), demikian pula pengaruhnya terhadap trigliserida, salah satu komponen profil lipid. Peneliti Rudling dan Angelin (2001) dan Frick *et al.*, (2001) melaporkan terjadi penurunan trigliserida setelah pemberian GH pada tikus defisiensi reseptor LDL dan tikus hipopituitarisme. Penelitian KIMS (*The Pharmacia International Metabolic Surveillance Study*) menunjukkan hasil yang tidak signifikan, sementara penelitian lainnya menemukan peningkatan trigliserida (Frick *et al.*, 2002; Verhelst dan Abs., 2009). Adanya hasil yang bertentangan mengenai pengaruh GH tersebut maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh GH terhadap trigliserida pada tikus dislipidemia yang juga merupakan

bagian dari penelitian untuk mengetahui pengaruh GH terhadap penyakit kardiovaskuler.

METODE PENELITIAN

Growth hormone yang digunakan pada penelitian ini adalah GH rekombinan (Eutropin; Novell). Diet tinggi kolesterol terdiri dari kolesterol 1%, kuning telur 5%, lemak babi 10%, minyak kelapa 1%, propiltiourasil 0,01%, dan ditambah dengan diet standar (HPS 511) hingga 100% (Bagian Farmakologi, Universitas Udayana). Sampel penelitian adalah tikus Wistar jantan dengan bobot badan 200–225 g. Tikus berusia 11–12 bulan dan mengalami dislipidemia (kolesterol total > 200 mg/dL) (Hardini *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian pendahuluan, jumlah sampel yang dibutuhkan adalah lima ekor tikus untuk masing-masing kelompok, sehingga total dibutuhkan 20 ekor tikus untuk empat kelompok (Parini *et al.*, 1999). Subjek penelitian didapatkan dari Unit Laboratorium Hewan, Bagian Farmakologi, Universitas Udayana.

Tikus diadaptasikan selama satu minggu dan kemudian diberikan diet tinggi kolesterol selama tiga minggu untuk mencapai keadaan dislipidemia. Darah tikus diambil dari sinus periorbitalis dengan tabung kapiler setelah tiga minggu (hari ke-22) untuk mengukur kadar kolesterol total dan trigliserida plasma sebelum penelitian. Sebanyak 20 ekor tikus yang sesuai dengan kriteria diacak dan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok menerima perlakuan; aquades 0,01mL (P0), GH 0,02 IU/0,01mL (P1), GH 0,04 IU/0,01mL (P2), dan GH 0,08 IU/0,01mL (P3). Aquades dan GH diberikan satu kali sehari secara subkutan pada bagian punggung, pukul 07.00 selama dua minggu yang dimulai pada hari ke-23. Kadar trigliserida plasma setelah perlakuan kemudian diukur kembali pada hari ke-38. Kadar kolesterol total dan trigliserida plasma diukur dengan menggunakan metode kolorimetrik enzimatik (Boehringer-Mannheim GmBp) pada Laboratorium Penelitian Antar Universitas, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Normalitas data diuji dengan uji *Saphiro-Wilks* dan homogenitas data dengan *Levene Test*. Data kemudian dianalisis dengan *One way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok, dilanjutkan dengan tes *Least Significant Difference* (LSD).

HASIL DAN PEMBAHASAN

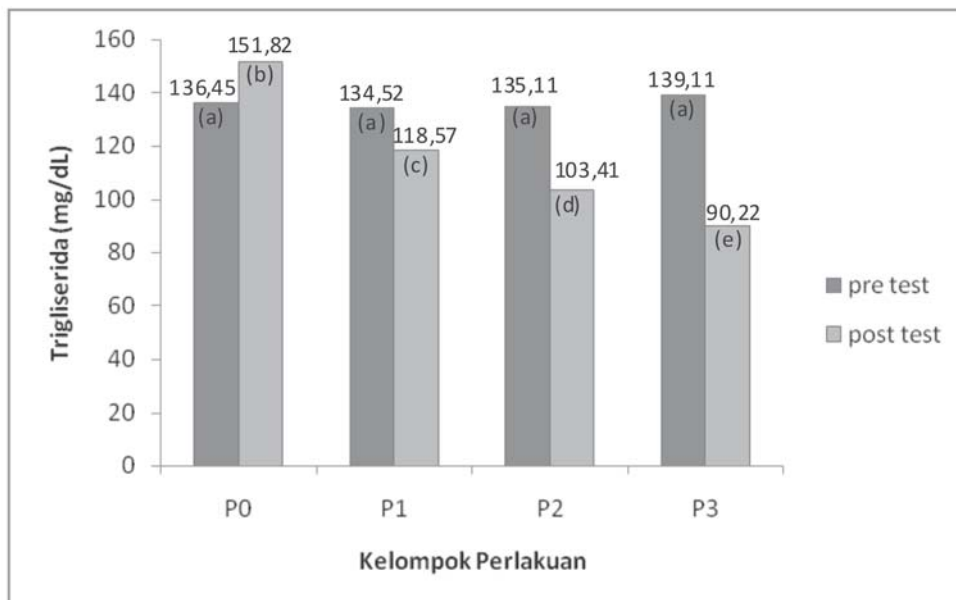
Pengukuran bobot badan tikus sebelum penelitian mendapatkan rata-rata bobot 180,74 g. Setelah pemberian diet tinggi kolesterol selama tiga minggu terjadi kenaikan bobot badan tikus dan rata-ratanya menjadi 206,84 g. Keadaan dislipidemia dicapai setelah pemberian diet tinggi kolesterol selama tiga minggu. Sejumlah 20 ekor tikus dengan kadar kolesterol total di atas 200 mg/dL dimasukkan ke dalam penelitian. Rata-rata kadar kolesterol total plasma adalah 212,83 mg/dL setelah pemberian diet tinggi kolesterol.

Semua data kadar trigliserida plasma berdistribusi normal berdasarkan tes *Saphiro-Wilks* ($p > 0,05$) dan homogen berdasarkan tes *Levene* ($p > 0,05$). Rata-rata kadar trigliserida plasma pada semua kelompok didapatkan 136,30 mg/dL. Rata-rata kadar trigliserida *pre test* dan *post test* disajikan pada Gambar 1.

Uji Anova satu arah data *pre test* pada kelompok P0, P1, P2, dan P3 memperlihatkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok, sehingga semua kelompok memiliki kadar trigliserida yang hampir sama sebelum pemberian perlakuan ($p > 0,05$). Pada kelompok P0 terjadi peningkatan kadar trigliserida setelah perlakuan, sedangkan pada P1, P2, dan P3 terjadi penurunan kadar trigliserida. *Growth*

hormone mampu menurunkan kadar trigliserida plasma hingga 11,78% pada P1, 23,46% pada P2, dan 35,15% pada P3. Data *post test* memperlihatkan perbedaan kadar trigliserida yang sangat bermakna antar kelompok P0, P1, P2, dan P3 ($p < 0,01$). Pengujian lanjutan data *post test* dengan LSD memperlihatkan perbedaan tersebut terjadi antar semua kelompok ($p < 0,01$).

Hewan-hewan yang sudah pernah digunakan dalam penelitian GH bervariasi dari hewan transgenik maupun satwa liar, mulai tingkat rendah seperti nematoda hingga mamalia. Tikus putih (galur Wistar) seperti yang digunakan dalam penelitian ini, sering digunakan sebagai hewan coba pada berbagai penelitian, khususnya pada penelitian mengenai penyakit kardiovaskuler seperti aterosklerosis. Hal tersebut karena tikus mudah dipelihara, serta relatif cukup besar untuk dapat diobservasi dibandingkan mencit (Kusumawati, 2004). Tikus juga dipilih karena tidak membutuhkan pemberian dosis GH yang terlalu besar dibandingkan kelinci yang sering digunakan pada penelitian kardiovaskuler. Tikus jantan dipilih sebagai subjek berdasarkan penelitian sebelumnya yang menemukan bahwa pengaruh GH terhadap profil lipid lebih efektif pada tikus jantan dibandingkan betina. Hal tersebut berkaitan dengan perbedaan status hormonal



Gambar 1. Kadar trigliserida *pre test* dan *post test* tikus jantan dislipidemia.

Keterangan: kelompok yang diberi aquadest (P0) dan kelompok yang mendapat tiga variasi dosis GH (P1= 0,02 IU/hr, P2=0,04 IU/hr, P3=0,08 IU/hr). a: kadar trigliserida *pre test* tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$), b,c,d,e: kadar trigliserida *post test* berbeda bermakna ($p < 0,01$).

antara tikus jantan dan betina (Frick *et al.*, 2001). Penggunaan GH dalam penelitian ini menyebabkan usia tikus juga menjadi pertimbangan. Tikus yang digunakan adalah tikus berumur 11–12 bulan yang setara dengan usia manusia 30-an tahun (Hanson, 2010). Usia 30-an pada manusia termasuk penuaan tahap subklinis. Pada tahap ini telah terjadi penurunan GH walaupun belum mengganggu fungsi-fungsi tubuh (Pangkahila, 2007).

Efek GH terhadap trigliserida menunjukkan hasil yang positif, yaitu mampu menurunkan kadar trigliserida plasma tikus jantan dislipidemia. *Growth hormone* mampu menurunkan kadar trigliserida plasma secara efektif pada seluruh kelompok perlakuan. Kadar trigliserida plasma turun hingga 12% pada P1, 24% pada P2, dan 35% pada P3 setelah pemberian GH. Hasil ini sesuai dengan penelitian pada tikus oleh Rudling dan Angelin, (2001) yang memberikan GH 1 mg/kgBB/hr selama satu minggu pada mencit LDRKO dan penelitian pada tikus transgenik dengan GH berlebih oleh Frick *et al.*, (2001).

Efektivitas GH dalam memengaruhi kadar trigliserida plasma tergantung dosis pemberian. Pemberian GH dosis rendah menurunkan kadar trigliserida plasma, walaupun minimal tetapi masih signifikan. Seiring dengan peningkatan dosis GH, terjadi penurunan kadar trigliserida plasma yang lebih tajam. Penurunan kadar trigliserida terjadi paling besar pada perlakuan GH dosis tertinggi, yaitu 0,08 IU/hr.

Mekanisme penurunan trigliserida tersebut disebabkan oleh penurunan biosintesis trigliserida pada hati, karena menurunnya pasokan asam lemak bebas (Frick *et al.*, 2001). Walaupun diketahui GH mampu meningkatkan aktivitas *hormone sensitive lipase* (HSL) pada jaringan lemak, namun kadar asam lemak bebas serum tetap rendah (Frick *et al.*, 2001; Møller dan Jørgensen, 2009). Pada tikus diduga terjadi mobilisasi asam lemak bebas ke jaringan lain seperti otot skelet dan otot jantung (Frick *et al.*, 2001). Peningkatan aktivitas lipoprotein lipase (LPL) sangat berperan dalam menurunkan kadar trigliserida. Pada tikus diketahui pemberian GH dapat meningkatkan aktivitas LPL pada jaringan otot skelet dan otot jantung. Senyawa LPL dapat memecah trigliserida menjadi asam lemak bebas dari lipoprotein untuk kemudian diabsorpsi melalui

complex differentiation 36 (CD36) oleh sel (Goldberg *et al.*, 2009).

Growth hormone di sisi lain juga dapat meningkatkan sintesis trigliserida oleh hati. Frick *et al.*, (2002) yang melaporkan sekresi trigliserida hati meningkat pada tikus yang dihipofisektomi dan diberi GH 1,5 mg/kgBB/hr selama tujuh hari, dan kadar trigliserida lebih rendah daripada tikus normal. Peningkatan produksi trigliserida hati juga dilaporkan pada manusia oleh Lind *et al.*, (2004). Observasi peningkatan ekspresi *sterol regulatory element-binding protein 1c* (SREBP-1c) di hati menunjukkan bahwa GH meningkatkan sintesis trigliserida di hati (Frick *et al.*, 2002). Sementara itu, penelitian oleh Blischak (2010) yang memberikan GH dan IGF-1 selama 21 hari juga melaporkan terjadinya penurunan kadar trigliserida hati akibat sekresi VLDL yang meningkat. Tampaknya efek lipogenesis akut tersebut bersifat sementara atau kurang dominan dan dapat diimbangi oleh peningkatan pemecahan trigliserida akibat rangsangan terhadap aktivitas LPL pada jaringan lain yang pada akhirnya juga mengurangi kadar trigliserida.

Efek pleotropik GH tersebut menyebabkan generalisasi hasil ini pada manusia membutuhkan penelitian lebih lanjut. Penelitian pada manusia mendapatkan hasil yang tidak bermakna akan pengaruh GH terhadap trigliserida seperti pada penelitian KIMS (Verhelst dan Abs, 2009) serta penelitian pemberian GH 2 mg/hr pada sembilan laki-laki sehat usia $23,0 \pm 0,6$ tahun selama tujuh hari oleh Krag *et al.*, (2007). Injeksi GH selama enam bulan juga tidak dapat menurunkan trigliserida pascapembebanan pada penderita defisiensi GH (Perotti *et al.*, 2012). Hal tersebut disebabkan oleh perbedaan pengaruh GH terhadap aktivitas LPL pada manusia. Pada manusia GH menghambat LPL pada lemak putih (Møller dan Jørgensen, 2009) dan tidak memiliki pengaruh terhadap aktivitas LPL pada jaringan otot (Krag *et al.*, 2007), sedangkan pengaruh GH terhadap LPL pada jaringan lain belum diketahui sehingga memerlukan penelitian lebih lanjut. Tidak adanya pengaruh pada aktivitas LPL, maka setelah pemberian GH pada manusia terjadi peningkatan kadar asam lemak bebas dalam darah (Møller dan Jørgensen, 2009).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa GH mampu menurunkan kadar trigliserida plasma tikus jantan dislipidemia. Penurunan kadar trigliserida tersebut berhubungan dengan peningkatan dosis GH, semakin tinggi dosis maka semakin besar penurunan kadar trigliserida.

SARAN

Penelitian lebih lanjut mengenai efek GH terhadap trigliserida pada jangka panjang serta penelitian pada manusia diperlukan karena ada beberapa perbedaan mengenai ekspresi LPL pada tikus dan manusia.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini dapat dilakukan atas dukungan dana dari Unit Litbang Fakultas Kedokteran Universitas Udayana tahun 2010. Ucapan terima kasih ditujukan kepada Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd (FICS) dan Prof dr I Made Aman, SpFK atas bimbingannya, serta seluruh staf Bagian Histologi dan Farmakologi FK Unud atas dukungan dan fasilitas yang dipergunakan selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bideci A, Camurdan O. 2009. Physiology of Growth Hormone Secretion. *Clin Res Ped Endo*. (Suppl 1): 1–7
- Blischak JD. 2010. The Effects of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-1 Treatments on Hepatic Gene Expression in Obese and Diabetic Mice with Nonalcoholic Fatty Liver Disease [Thesis]. Ohio: Ohio University. Diunduh dari: http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=ouhonors1276176401
- Colao A, Di Somma C, Spiezia S, Savastano S, Rota F, Savanelli MC, Lombard G. 2008. Growth Hormone Treatment on Atherosclerosis: Results of a 5-Year Open, Prospective, Controlled Study in Male Patients with Severe Growth Hormone Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 93(9): 3416–3424.
- Frick F, Bohlooly-Y M, Lindén D, Olsson B, Törnell J, Edén S, Oscarsson J. 2001. Long-term growth hormone excess induces marked alterations in lipoprotein metabolism in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: 1230-1239.
- Frick F, Lindén D, Améen C, Edén S, Mode A, Oscarsson J. 2002. Interaction between growth hormone and insulin in the regulation of lipoprotein metabolism in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283: 1023-1031.
- Goldberg IJ, Eckel RH, Abumrad NA. 2009. Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways. *J Lipid Re*. 50: S86–S90.
- Hanson A. 2010. *How Old is Rat in Human Years?* [cited: 12 Juli 2010]. Diunduh dari: <http://www.ratbehavior.org/RatYears.htm>.
- Hardini D, Yuwanta T, Supadmo, Zuprizal. 2007. Pengaruh Telur Beromega-3 dan 6 Hasil Olahan terhadap Profil Lipid Darah Tikus *Rattus norvegicus* L. Normal dan Hiperkolesterolemia. *Media Peternakan*. 30(1): 26-34.
- Jin K. 2010. Modern Theories of Aging. *Aging Dis* 1(2): 72–74.
- Jørgensen JO, Møller N, Christiansen JS. 2010. *Normal Physiology of Growth Hormone in Adults*. [diakses: 11 Januari 2011]. Diunduh dari: <http://www.endotext.org/neuroendo/neuroendo5c/neuroendoframe5c.htm>.
- Krag MB, Gormsen LC, Zeng KG, Christiansen JS, Jensen MD, Nielsen S, Jørgensen JOL. 2007. Growth hormone-induced insulin resistance is associated with increased intramyocellular triglyceride content but unaltered VLDL-triglyceride kinetics. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292: E920–E927.
- Kusumawati D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal. 42 – 43
- Lind S, Rudling M, Ericsson S, Olivecrona H, Eriksson M, Borgström B, Eggertsen G, Berglund L, Angelin B. 2004. Growth Hormone Induces Low-Density Lipoprotein Clearance but not Bile Acid Synthesis in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24: 349-356.
- Møller N, Jørgensen JOL. 2009. Effects of Growth Hormone on Glucose, Lipid, and Protein Metabolism in Human Subjects. *Endocr Re*. 30(2): 152–177.

- Oliveira JLM, Aguiar-Oliveira MH, D'Oliveira JA, Pereira RMC, Oliveira CRP, Farias CT, Barreto-Filho JA, Anjos-Andrade FD, Marques-Santos C, Nascimento-Junior AC, Alves EO, Oliveira FT, Campos VC, Ximenes R, Blackford A, Parmigiani G, Salvatori R. 2007. Congenital Growth Hormone (GH) Deficiency and Atherosclerosis: Effects of GH Replacement in GH-Naive Adults. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 4664–4670.
- Pangkahila W. 2007. *Anti Aging Medicine: Memperlambat Penuaan Meningkatkan Kualitas Hidup*. Jakarta: Kompas.
- Parini P, Angelin B, Rudling M. 1999. Cholesterol and Lipoprotein Metabolism in Aging: Reversal of Hypercholesterolemia by Growth Hormone Treatment in Old Rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19: 832-839.
- Perotti M, Caumo A, Brunani A, Cambiaghi N, Casati M, Scacchi M, Perra S, Rocco C, Mancia G, Grassi G, Cavagnini F, Pincelli AI. 2012. Postprandial triglyceride profile after a standardized oral fat load is altered in growth hormone (GH)-deficient adult patients and is not improved after short-term GH replacement therapy. *Clin Endocrinol* 77(5): 721-727.
- Rudling M, Angelin B. 2001. Growth hormone reduces plasma cholesterol in LDL receptor-deficient mice. *FASEB J* 15: 1350–1356.
- Verhelst J, Abs R. 2009. Cardiovascular risk factors in hypopituitary GH-deficient adults. *Eur J Endocrinol* 161: S41–S49.