

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh Latihan Fisik Intensitas Sedang terhadap Jumlah Reseptor Insulin di Jaringan Lemak Tikus Jantan Obesitas

Pamella Haryanto,^{1*} Alex Pangkahila,² I Gusti M. Aman,³
Ferbian M. Siswanto⁴

¹Program Magister Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia

²Departemen Fisiologi Olahraga, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia

³Departemen Farmakologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar, Indonesia

⁴Program Studi Bioteknologi, Fakultas Ilmu Kesehatan Sains dan Teknologi,
Universitas Dhyana Pura, Badung, Indonesia

*Corresponding author: pamella_haryanto@hotmail.com

Diterima 24 Juni 2018; Disetujui 6 April 2019

DOI: 10.23886/ejki.7.9587.

Abstrak

Obesitas adalah kondisi abnormal yaitu akumulasi lemak berlebih yang mengakibatkan inflamasi kronik dan menyebabkan resistensi insulin. Latihan fisik dapat memperbaiki resistensi insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui peningkatan jumlah reseptor insulin dengan latihan fisik intensitas sedang. Penelitian menggunakan desain eksperimental murni dengan rancangan post-test only control group design. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Terpadu, Fakultas Kedokteran Universitas Udayana pada periode bulan Januari – Juni 2018. Subjek penelitian adalah 36 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan, sehat, umur 4-5 bulan, obesitas (IMT >0,68) yang dibagi menjadi dua kelompok masing-masing 18 ekor tikus, yaitu kelompok kontrol tikus jantan obesitas tanpa perlakuan (P0) dan kelompok perlakuan tikus jantan obesitas yang diberi latihan fisik intensitas sedang dengan metode renang selama 20 menit/hari, 5 hari/minggu selama 2 minggu (P1). Pemeriksaan jumlah reseptor insulin alfa menggunakan pewarnaan immunohistokimia (IHC) terhadap antibody poliklonal. Metode interpretasi jumlah reseptor insulin alfa yang tepat pada hasil pewarnaan IHC menggunakan program “region of interest” pada software NIS Image Viewer versi 3.1®. Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah reseptor insulin sesudah 2 minggu pada kelompok P0 adalah $12,28 \pm 4,89\%$ dan pada kelompok P1 adalah $17,51 \pm 7,57\%$ ($p < 0,05$). Disimpulkan latihan fisik intensitas sedang dapat meningkatkan jumlah reseptor insulin pada jaringan lemak tikus jantan dengan obesitas.

Kata kunci: latihan fisik, obesitas, reseptor insulin, jaringan lemak.

The Influence of Moderate Intensity Exercise to The Level of Insulin Receptors on Adipose Tissue of Obese Male Rats

Abstract

Obesity is an abnormal condition of excessive lipid accumulation which may cause chronic inflammation and insulin resistance. Physical exercise is able to reduce insulin resistance. This study was aimed to observe the increase of total insulin receptors after moderate intensity exercise. This was an experimental study with post-test only control group design. This study was conducted at Biomedical Laboratory, Faculty of Medicine Universitas Udayana on January – June 2018. Subjects were 36 obese (BMI >0.68) healthy white male rats (*Rattus norvegicus*) aged 4 – 5 months which were divided into two groups consisting of 18 rats on each group with (P1) or without (P0) intervention (moderate intensity exercise 20 minutes/day, 5 times a week for 2 weeks). The calculation of total insulin receptor alpha was done using immunohistochemistry staining (IHC) against polyclonal antibody. The proper interpretation of total insulin receptors alpha on IHC was conducted using “region of interest” program by NIS Image Viewer version 3.1® software. This study showed the mean total insulin receptor after 2 weeks on group P0 was $12.28 \pm 4.89\%$ and on group P1 was $17.51 \pm 7.57\%$ ($p < 0.05$). It can be concluded that moderate intensity exercise can increase total insulin receptors on adipose tissue of obese male rats.

Keywords: exercise, obesity, insulin receptors, adipose tissue.

Pendahuluan

Obesitas merupakan penyakit kronik yang dinyatakan oleh *World Health Organization* (WHO) sebagai kondisi abnormal atau akumulasi lemak berlebih, sehingga dapat mengganggu kesehatan. Masa lemak berlebih mengakibatkan inflamasi kronik yang berhubungan dengan peningkatan risiko gangguan kesehatan seperti penyakit metabolik dan kardiovaskular, gangguan muskuloskeletal, menurunnya fungsi fisik, dan kanker.¹

Menurut data WHO tahun 2015, orang dewasa dengan berat badan berlebih di dunia mencapai 1,9 milyar; 600 juta diantaranya dengan obesitas. Gaya hidup tak sehat seperti diet tinggi karbohidrat dan lemak, serta pola hidup sedentari dengan aktivitas fisik sehari-hari yang sangat minimal, menyebabkan seseorang rentan terhadap obesitas.^{2,3}

Peningkatan lemak visceral dan penumpukan sel-sel tua dengan fenotip inflamasi menghasilkan tingginya sitokin proinflamasi yang dapat mengganggu sinyal insulin.⁴ Hal tersebut menyebabkan resistensi insulin yang ditandai dengan *IRS-PI3-kinase/Akt pathway* yang tidak berfungsi sebagaimana mestinya sehingga mengganggu serapan glukosa di otot dan jaringan lemak, penurunan sintesis glikogen/penyimpanan di hati, dan kegagalan pada penekanan produksi glukosa hepatik. Resistensi insulin juga berkontribusi dalam peningkatan morbiditas kardiovaskular melalui gangguan pada penyerapan lemak dan penyimpanan lemak yang beredar sehingga meningkatkan kadar *very low-density lipoprotein* (*proatherogenic apoB-containing/triglycerid-rich lipoprotein*) plasma.⁵

Akibat tingginya prevalensi dan kuatnya asosiasi dengan berbagai akibat buruk, resistensi insulin disebut penyebab dari kondisi yang menyertai penuaan. Faktanya, *counteracting* dari resistensi insulin dapat digunakan sebagai intervensi penuaan.⁶

Resistensi insulin merupakan kondisi tubuh yang memproduksi insulin, namun sel-sel lemak dan otot rangka tidak peka terhadap insulin karena kemampuan reseptor insulin dalam merespons mengalami penurunan, sehingga kemampuan insulin untuk memicu respons intraseluler berkurang.⁷

Kegagalan penyampaian sinyal yang berhubungan dengan reseptor insulin berasal dari fungsi reseptor insulin, yaitu kerusakan ikatan insulin/ligand dan aktivasi tirosin kinase, internalisasi dan degradasi pada reseptor insulin yang terstimulasi ligand, disosiasi kompleks insulin-reseptor yang tidak tepat serta menyebabkan

berkurangnya reseptor insulin bebas. Individu obesitas memperlihatkan penurunan ikatan insulin di otot rangka, jaringan lemak, dan hati, akibat berkurangnya jumlah reseptor tanpa adanya perubahan pada afinitas ikatan ligand-reseptor.⁸

Latihan aerobik teratur dapat memperbaiki resistensi insulin pada orang dewasa. Aktivitas fisik dapat memperbaiki resistensi insulin dan memberikan keuntungan metabolisme walaupun tanpa penurunan berat badan.⁵ Obesitas berkaitan dengan rendahnya oksidasi asam lemak yang menyebabkan resistensi insulin, sedangkan latihan fisik dapat meningkatkan oksidasi asam lemak pada penderita obesitas.⁹

Pentingnya olahraga dalam menurunkan resistensi insulin telah banyak diteliti, namun diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh latihan fisik sedang terhadap perbaikan resistensi insulin dengan meningkatkan jumlah reseptor insulin.

Metode

Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 36 ekor tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan dari Divisi Pengembangan Obat dan Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Udayana (UNUD). Tikus jantan dewasa berusia sekitar 4-5 bulan, obesitas menurut Novelli (IMT >0,68), dan sehat.

Tikus diberikan diet tinggi karbohidrat dan lemak yang terdiri atas karbohidrat 55%, lemak 35%, dan protein 10% yang didapatkan dari Laboratorium Farmakologi Universitas Udayana, Denpasar, Bali. Komposisi diet adalah pakan ayam *hyptovite* 594® (84%), kuning telur (5%), lemak babi (10%), dan minyak goreng bimoli® (1%). Diet diberikan secara *ad libitum*, 1x/hari, 30 gram/tikus, selama 10 minggu sebelum perlakuan dilanjutkan hingga perlakuan selesai. Jika berat badan sebelum dan sesudah diet meningkat signifikan maka tikus tersebut dapat dijadikan sampel penelitian (IMT >0,68).¹⁰ 50 male Wistar rats, 21 days old and fed a control chow were studied up to 150 days of age. In the second experiment, male Wistar rats, 60 days old, were divided into three groups (n = 8

Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental ini menggunakan *post-test only control group design*. Variabel yang diamati meliputi: (1) variabel bebas: latihan fisik intensitas sedang, (2) variabel tergantung: jumlah reseptor insulin, dan (3) variabel perancu: diet, aktivitas tikus, berat badan tikus, kesehatan tikus.

Penelitian dilakukan pada bulan Januari – Juni 2018. Tikus dipelihara di kandang individual berukuran 30x20x20 cm dan diadaptasi satu minggu di *Laboratorium Animal Unit* Bagian Farmakologi FK UNUD. Jika tikus sakit selama penelitian, diberikan pengobatan yang sesuai. Tikus dibagi menjadi dua kelompok secara acak yang masing-masing terdiri atas 18 ekor tikus obesitas. Satu kelompok tanpa perlakuan dipelihara selama 14 hari (P0). Kelompok lain diberi latihan fisik intensitas sedang (tikus dimasukkan ke dalam ember berisi air setinggi 5 cm dan dibiarkan berenang 20 menit/hari, 5 hari/minggu) selama 14 hari (P1).^{11,12}

Pada hari ke-15, kedua kelompok tikus dibedah dalam pembiusan menggunakan ketamin (20 mg/kgBB) dan pentobarbital (5 mg/kgBB) yang dilakukan di Divisi Pengembangan Obat dan Hewan Coba FKH UNUD. Prosedur pembedahan sebagai berikut. Bagian eksterior tikus diperiksa, kemudian tikus diletakkan terlentang. Irisan dimulai di bagian abdomen dengan memotong kulit serta muskulus abdominalis, dilanjutkan sisi kiri dan kanan, lalu ke arah kranial, dan memotong *costae* hingga rongga dada terbuka. Diambil lemak intraperitoneal, mencakup lemak omentum dan mesenterik, kemudian diperiksa jumlah reseptor insulin alfa.

Pemeriksaan jumlah reseptor insulin alfa menggunakan pewarnaan imunohistokimia (IHC) terhadap antibodi poliklonal reseptor insulin alfa. Jumlah reseptor insulin alfa masing-masing sel berbanding lurus dengan intensitas warna coklat. Metode interpretasi jumlah reseptor insulin alfa yang tepat pada hasil pewarnaan IHC menggunakan program “*Region of Interest*” pada software NIS Image Viewer versi 3.1®.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan program *SPSS 16 for windows*®. Normalitas data dianalisis menggunakan uji *Shapiro-wilk* dan homogenitasnya dianalisis dengan uji *Levene*. Analisis komparasi dilakukan dengan uji *Mann Whitney* karena data berdistribusi tidak normal setelah dilakukan transformasi. Analisis data menggunakan tingkat kepercayaan 95% atau dinyatakan berbeda bermakna bila $p < 0,05$.

Hasil Penelitian

Tabel 1 menunjukkan normalitas data kelompok perlakuan (P1) tidak normal ($p = 0,012$) sehingga data ditransformasi dengan metode Log (10) dan diperoleh kedua kelompok berdistribusi tidak normal ($p < 0,05$).

Tabel 1. Distribusi Rerata Jumlah Reseptor Insulin

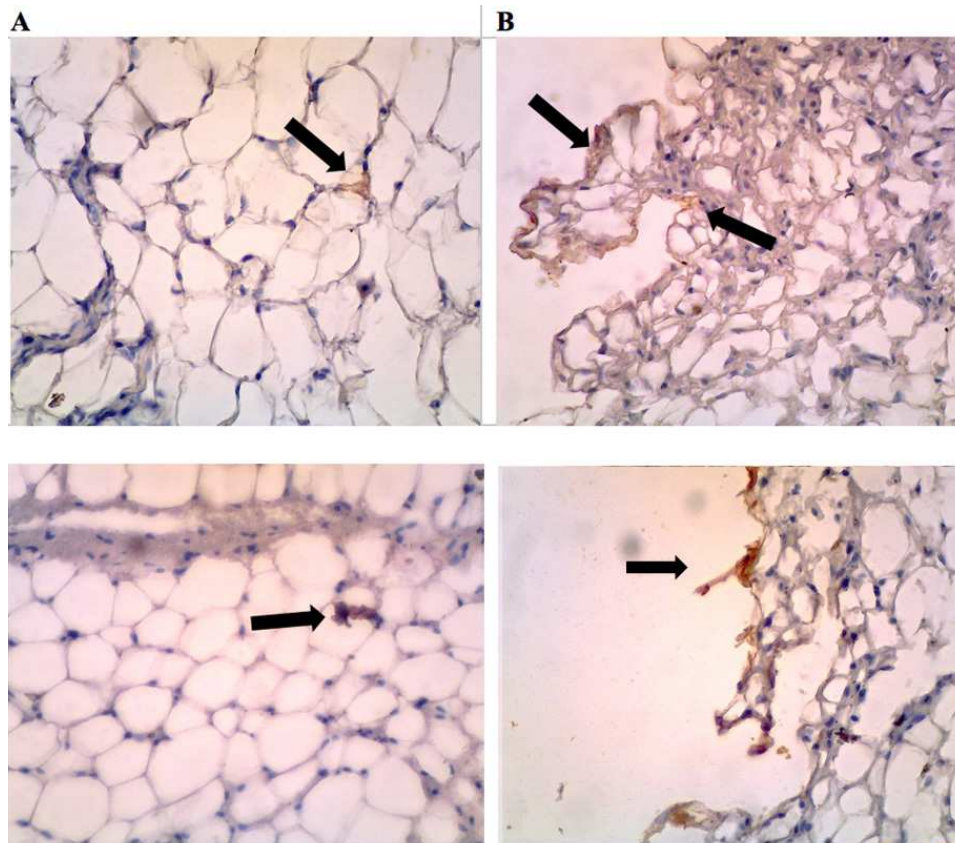
Kelompok	n	Rerata Jumlah Reseptor	p	Distribusi
		Insulin $\pm$ SB (%)		
Kontrol (P0)	18	12,28 $\pm$ 4,89	0,532	Normal
Perlakuan (P1)	18	17,51 $\pm$ 7,57	0,012	Tidak Normal
Log (10) Kontrol	18	12,28 $\pm$ 4,89	<0,001	Tidak Normal
Log (10) Perlakuan	18	17,51 $\pm$ 7,57	0,023	Tidak Normal

Uji homogenitas menunjukkan rerata jumlah reseptor insulin tidak homogen ($p = 0,001$) sehingga dilanjutkan dengan transformasi data menggunakan Log (10); diperoleh varian homogen dengan $p = 0,985$.

Hasil pemeriksaan imunohistokimia menunjukkan rerata jumlah reseptor insulin di jaringan lemak tikus antar kelompok kontrol (P0) yang tidak diberikan perlakuan adalah 12,28 $\pm$ 4,89%. Pada kelompok perlakuan (P1) yang diberi latihan fisik intensitas sedang 20 menit/hari, 5 hari/minggu selama 2 minggu adalah 17,51 $\pm$ 7,57%

yang menunjukkan setelah perlakuan selama 2 minggu, rerata jumlah reseptor insulin di jaringan lemak tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan obesitas antar kelompok berbeda bermakna (Koefisien *Mann Whitney* 99,000; $p = 0,046$).

Gambaran histokimia reseptor insulin ditunjukkan di Gambar 1. Sel di jaringan lemak berwarna coklat muda menandakan jumlah reseptor insulin tidak banyak (Gambar 1A), sedangkan sel di jaringan lemak yang berwarna coklat menandakan jumlah reseptor insulin lebih banyak (Gambar 1B).



Gambar 1. Reseptor Insulin di Jaringan Lemak Tikus dengan Pewarnaan Immunohistokimia (Perbesaran 400x). A: kelompok P0, B: Kelompok P1, Tanda panah menunjukkan sel yang mengekspresikan reseptor insulin (berwarna coklat).

Diskusi

Latihan aerobik teratur dapat memperbaiki aksi insulin, baik ekspresi insulin maupun penyampaian sinyal insulin.⁵ Pelatihan fisik intensitas sedang meningkatkan jumlah reseptor insulin alfa. Latihan fisik merupakan *stressor* ke tubuh. Aktivasi respons stres adalah reaksi untuk mempertahankan homeostasis dan memenuhi kebutuhan metabolik yang meningkat. Respons stres memicu aktivasi segera dari sistem saraf otonom yang dikenal sebagai "*Fight-or flight*" dan sinyal dikirim ke sumsum tulang belakang untuk memicu pelepasan norepinefrin dan kelenjar adrenal guna melepaskan fluks epinefrin. Hipotalamus juga menginduksi sinyal untuk merangsang pelepasan glukokortikoid dari adrenal.¹³ Katekolamin dan glukokortikoid mempengaruhi metabolisme secara langsung, juga mengubah regulasi hormon neuroendokrin lainnya yang menunjukkan latihan fisik dapat meningkatkan produksi glukokortikoid tubuh.¹⁴

Gen reseptor insulin terletak di kromosom 19, yang diperkirakan lebih dari 120kb, dan terdiri

atas 22 ekson.⁸ Dengan analisis *primer extension*, banyak lokasi inisiasi yang teridentifikasi pada 5' di daerah yang belum ditranslasi. Transkripsi diinduksi oleh glukokortikoid. Gen reseptor insulin di transkripsi secara terus menerus (*constitutive fashion*), dan konsentrasi dari mRNA proporsional dengan jumlah reseptor di permukaan sel. Satu-satunya regulator positif dari ekspresi gen reseptor insulin adalah glukokortikoid.¹⁵ Pemberian glukokortikoid (hidrokortison) meningkatkan jumlah reseptor insulin di permukaan limfosit manusia yang dibiakkan¹⁵ Hal tersebut menunjukkan glukokortikoid dapat meningkatkan jumlah reseptor insulin. Pada penelitian ini belum diketahui apakah mekanisme peningkatan jumlah reseptor insulin juga dapat disebabkan penurunan massa lemak akibat latihan fisik intensitas sedang.

Dari penelitian ini didapatkan pemberian latihan fisik intensitas sedang selama 20 menit/hari, 5 hari/minggu selama 2 minggu (14 hari) dapat meningkatkan jumlah reseptor insulin pada tikus. Meskipun demikian belum diketahui apakah

latihan fisik intensitas ringan dan berat juga dapat meningkatkan jumlah reseptor insulin pada tikus wistar jantan obesitas, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya. Penelitian pada manusia menunjukkan bahwa ekspresi reseptor insulin tidak berubah secara signifikan di jaringan otot rangka setelah pelatihan fisik ini.¹⁶ Selain itu, penelitian pada tikus menunjukkan bahwa latihan fisik dapat meningkatkan ambilan glukosa dan aktivasi glikogen sintase *in vivo* pada otot rangka tikus yang mengalami mutasi di reseptor insulin mengindikasikan bahwa latihan fisik tidak memengaruhi reseptor insulin.¹⁷ Penelitian ini adalah penelitian pertama yang membuktikan bahwa pelatihan fisik dapat meningkatkan jumlah reseptor insulin di jaringan lemak.

Kesimpulan

Latihan fisik intensitas sedang meningkatkan jumlah reseptor insulin di jaringan lemak tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan obesitas.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Prof. drh. I Nyoman Mantik Astawa, Ph.D, Laboratorium Virologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana yang telah memberikan bantuan teknis dalam pewarnaan IHK reseptor insulin di jaringan lemak.

Daftar Pustaka

1. Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2014;384:766–1.
2. Nguyen T, Lau DCW. The Obesity Epidemic and Its Impact on Hypertension. *Can J Cardiol*. 2012;28:326–33.
3. Siswanto FM, Pangkahila EA. Pola Hidup Tidak Teratur dan Aktivitas Fisik Berlebih Menurunkan Kemampuan Aktivitas Seksual. *Sport Fit J*. 2015;3:59–69.
4. Sepe A, Tchkonja T, Thomou T, et al. Aging and Regional Differences in Fat Cell Progenitors – A Mini-Review. *Gerontology*. 2011;57:66–75.
5. Consitt LA, Van Meter J, Newton CA, Collier DN, Dar MS, Wojtaszewski JF, et al. Impairments in site-specific AS160 phosphorylation and effects of exercise training. *Diabetes*. 2013;62:3437–47.
6. Barzilai N, Ferrucci L. Insulin Resistance and Aging: A Cause or a Protective Response? *Journals Gerontol Ser A Biol Sci Med Sci*. 2012;67:1329–31.
7. Castro AVB, Kolka CM, Kim SP, Bergman RN. Obesity, insulin resistance and comorbidities? Mechanisms of association. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014;58:600–9.
8. Ramalingam L, Oh E, Thurmond DC. Novel roles for insulin receptor (IR) in adipocytes and skeletal muscle cells via new and unexpected substrates. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70:2815–34.
9. Berggren JR, Boyle KE, Chapman WH, Houmard JA. Skeletal muscle lipid oxidation and obesity: influence of weight loss and exercise. *Am J Physiol Metab*. 2008;294:E726–32.
10. Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim*. 2007;41:111–9.
11. Zenitalia, Pangkahila A, Pangkahila W, Siswanto FM. Pelatihan Fisik Berlebih Menurunkan Jumlah Hematopoietic Stem Cells (HSCs) Dibandingkan Pelatihan Fisik Seimbang pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan. *J Biomedik*. 2018;10:16–23.
12. Kartiko BH, Siswanto FM. Overtraining elevates serum protease level, increases renal p16INK4a gene expression and induces apoptosis in rat kidney. *Sport Sci Health*. 2018;14:331–7.
13. Everly GS, Lating JM. The Anatomy and Physiology of the Human Stress Response. A Clinical Guide to the Treatment of the Human Stress Response, pp. 17–51. New York: Springer.
14. Kartiko BH, Siswanto FM. Hormon dalam konsep Anti Aging Medicine. *J Virgin*. 2015;1:108–22.
15. Amessou M, Tahiri K, Chauvet G, Desbuquois B. Age-related changes in insulin receptor mRNA and protein expression in genetically obese Zucker rats. *Diabetes Metab*. 2010;36:120–8.
16. Wadley GD, Tunstall RJ, Sanigorski A, Collier GR, Hargreaves M, Cameron-Smith D. Differential effects of exercise on insulin-signaling gene expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2001;90:436–40.
17. Wojtaszewski JF, Higaki Y, Hirshman MF, Michael MD, Dufresne SD, Kahn CR, et al. Exercise modulates postreceptor insulin signaling and glucose transport in muscle-specific insulin receptor knockout mice. *J Clin Invest*. 1999;104:1257–64.