

Diet Rendah Protein Meningkatkan Jumlah Neuron Nitroergik Duodenum dan Jejunum Serta Menurunkan Bobot Badan Tikus Wistar

(LOW PROTEIN DIET INCREASES THE NUMBER OF DUODENUM, JEJUNUM NITROERGIC NEURONS AND REDUCES BODY WEIGHT IN THE WISTAR RATS)

**Amelia Hana*, Sarmin,
Claude Mona Airin, Pudji Astuti**

Departemen Fisiologi,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.
Jl. Fauna 2, Kampus UGM,
Karangmalang, Yogyakarta, Indonesia 55281.
*Email: hana_amy@ugm.ac.id

ABSTRAK

Protein sangat penting untuk pertumbuhan, perkembangan dan aktivitas hidup tikus. Dampak kekurangan asupan protein pada gastrointestinal utamanya terjadi pada usus halus dalam hal jumlah neuron nitroergik dan perubahan bobot badan belum banyak dikaji. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mengkaji pengaruh diet rendah protein selama empat minggu terhadap jumlah saraf nitroergik duodenum, jejunum, dan ileum dan perubahan bobot badan pada tikus Wistar. Sebanyak sembilan ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, umur satu bulan, dengan rata-rata bobot badan 120 g digunakan dalam penelitian ini. Tikus-tikus tersebut diadaptasikan selama tujuh hari dalam kandang individu dengan diet normal (mengandung protein 24%) dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Setelah diadaptasi, secara acak semua tikus dibagi menjadi tiga kelompok (K-24, K-14, dan K-4), masing-masing ada tiga ekor per kelompok. Kemudian semua tikus dipuasakan selama 12 jam. Selanjutnya masing-masing kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut: kelompok K-24 (sebagai kontrol) diberi diet yang mengandung protein 24%; kelompok K-14 diberi diet yang mengandung protein 14%; dan kelompok K-4 diberi diet yang mengandung protein 4%. Diet dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Lamanya perlakuan selama empat minggu. Setiap minggu dilakukan penimbangan bobot badan dan pengukuran kadar glukosa darah. Setelah empat minggu, semua tikus dipuasakan selama 12 jam, kemudian dikorbankan nyawanya dengan dieutanasi dan diambil segmen usus halusnya (duodenum, jejunum, ileum). Segmen usus yang diperoleh dibuat preparat histopatologi dengan teknik NADPH-d. Data jumlah neuron mienterik nitroergik segmen usus halus, penambahan bobot badan, dan kadar glukosa darah dianalisis secara statistika dengan sidik ragam *design single factor*. Hasil penelitian ini disimpulkan bahwa diet rendah protein (14% dan 4% protein) selama empat minggu meningkatkan jumlah neuron nitroergik di duodenum dan jejunum, namun menurunkan jumlah neuron nitroergik di ileum, menurunkan bobot badan, dan tidak meningkatkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar.

Kata-kata kunci: saraf nitroergik; mienterikus usus halus; tikus; diet rendah protein

ABSTRACT

Protein is very important for the growth, development and activity in rats. The impact of lack protein intake to gastrointestinal, especially in the small intestine, the number of nitroergic neurons, and changes in body weight in Wistar rats has not been studied. Therefore the aims of this study to examine the effect of a low-protein diet for 4 weeks on the number of duodenal, jejunal, ileal nitroergic neuron and changes in body weight in Wistar rats. Nine male Wistar (*Rattus norvegicus*) rats, aged 1 month, with an average body weight of 120 grams used in this study. The rats were adapted for 7 days in individual cages with a normal

diet (containing 24% protein) and drinking *ad libitum*. After being adapted all rats were divided into 3 groups (K-24, K-14, and K-4), consist of 3 rats. Then all rats fasted for 12-hours. Each group received treatment as follows: K-24 group (as a control) was given a diet containing 24% of protein, K-14 group was given a diet containing 14% of protein, and K-4 group was given a diet containing 4% of protein. Diet and drinking water are given *ad libitum*. Along of treatment for 4 weeks, body weights and blood glucose were measured every weeks, then all rats were euthanized and sample tissues of duodenum, jejunum, and ileum were then were obtained for histopathological preparations using the NADPH-d technique. Data on the number of nitrergicmyenteric neurons in the duodenum, jejunum, and ileum, body weight gain, and blood glucose levels were statistically analyzed by single factor design Anova. The results of this study concluded that a low protein diet (14% and 4% protein) for 4-weeks in the duodenum, jejunum have been increased the number of nitrergic neurons, on the other hand, in the ileum have been decreased the number of nitrergic neurons, reduced body weight, and did not increase blood glucose levels in Wistar rats.

Key words: nitrergic nerve; myenteric small intestine; rat; low protein diet

PENDAHULUAN

Penelitian-penelitian terkait dengan diet rendah protein dan efeknya pada gastrointestinal telah banyak dilaporkan pada kolon dan sekum. Hermes-Uliana *et al.* (2015) melaporkan bahwa diet rendah protein meningkatkan kepadatan populasi neuronal dan atrofi neuron mienterik neuron di kolon proksimal pada tikus. Lebih lanjut dilaporkan Araújo (2009) bahwa diet 4% protein 120 hari menunjukkan atrofi area soma neuron mienterik kolon desenden tikus. Diet 4% protein 90 hari pernah dilaporkan Moreira *et al.* (2008) menurunkan panjang dan jumlah neuron di jejunum dan ileum. Lebih lanjut dilaporkan Greggio *et al.* (2010) dalam penelitiannya bahwa mengalami defisiensi protein selama perinatal menyebabkan penundaan pematangan neuron, tetapi pemulihan pascanatal dapat hampir sepenuhnya memulihkan morfologi normal neuron pleksus mienterik usus. Gois *et al.* (2014) melaporkan bahwa diet rendah protein (4% protein) selama 90 hari menyebabkan pengurangan area badan sel dan nukleus neuron sekum. Perubahan pada morfometrik kolon ascenden intestinal tikus juga dilaporkan oleh Hermes *et al.* (2008). Diet rendah protein (4% protein) juga dilaporkan Sant'Ana *et al.* (2012) dapat meningkatkan kepadatan neuron nitrergic di duodenum dan di ileum tikus. Sampai saat ini penelitian diet rendah protein selama empat minggu terhadap jumlah neuron nitrergic duodenum, jejunum, ileum dan pengaruhnya terhadap perubahan bobot badan tikus Wistar belum pernah dilaporkan. Tujuan dari penelitian ini adalah mengkaji pengaruh diet rendah protein selama empat minggu terhadap jumlah saraf nitrergic duodenum, jejunum, ileum dan perubahan bobot badan tikus Wistar.

METODE PENELITIAN

Seluruh metode pelaksanaan penelitian telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian LPPT No. 00060/04/LPPT/V/2017. Penelitian ini dilaksanakan selama empat minggu di Pusat Studi Pangan Gizi UGM untuk pemeliharaan, perlakuan diet, penimbangan bobot badan dan pengukuran kadar glukosa darah tikus; serta di Laboratorium Fisiologi FKH UGM untuk preparasi dan pewarnaan saraf nitrergic segmen usus halus tikus dengan teknik NADPH-d.

Hewan percobaan yang digunakan adalah sembilan ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) umur satu bulan, berjenis kelamin jantan. Diet yang diberikan adalah diet protein 24%, diet protein 14%, diet protein 4% (diet protein ini dibuat sesuai AIN 93, di Pusat Studi Pangan Gizi UGM). Bahan yang digunakan memfiksasi jaringan dan pewarnaan antara lain, larutan formalin 10%, PBS 30%, bubuk *nitro blue tetrazolium*, kristal α NADPH-d, larutan Triton X-100 0,5%, gelatin, bufer Tris-HCL mengandung 3,3'-diamino-benzidine 0,01%, dan aquades untuk pewarnaan NADPH-d.

Diet tikus dibuat sesuai *American Institute of Nutrition 93* (AIN 93). Kelompok K-24 komposisi dietnya adalah: Cornstarch 15%, casein 24%, sucrose 43%, corn oil 4%, alphacel, non nutritive bulk 5%, Ain 76 min mix 4%, Icn vit diet fortification 1%. Kelompok K-14, komposisi dietnya adalah: Cornstarch 47%, casein 14%, dextrinized cornstarch 15,5%, sucrose 10%, soybean oil 4%, alphacel, non nutritive bulk 5%, Ain 93M MX 3,5%. L cystine 18%, Ain 93 vx 1%, choline bitartrate 25%, Tert butylhydroquinone 0,0008. Kelompok-K4 komposisi dietnya adalah: (Cornstarch 15%, casein 4,5%, sucrose 63%, corn oil 5%, alphacel, non nutritive bulk

7,3%, Ain 76 min mix 4%, Icn vit diet fortification 1% (AIN, 2005)..

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: kandang tikus individu (ukuran 13x24x16cm³, rata-rata suhu lingkungan 26-28-29°C, rata-rata kelembapan 58-62%, cahaya dari lampu neon) dan perlengkapan yang digunakan adalah glukometer digital (Accu-chek® Advantage, Roche Diagnostic, Germany), mikroskop cahaya (tipe 102, Nikon, Japan); gunting, pinset untuk alat bedah, gelas beker 25 mL, mikropipet *Eppendorf* 10 µL, 100 µL, 1.000 µL (Gilson, France), mikropipet tips *Eppendorf* (Gilson, France), inkubator (Mettler, Germany), gelas objek. Teknik pewarnaan NADPH-d (Araújo *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2014), gelas penutup, timbangan digital elektrik (Germany), vorteks, lemari es (Panasonic, NR 825 AF), mikroskop cahaya, mikroskop sterio untuk teknik pewarnaan NADPH-d.

Pada penelitian ini digunakan sebanyak sembilan ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, umur satu bulan, dengan rata-rata bobot badan 120 g. Tikus-tikus tersebut diadaptasikan selama tujuh hari dalam kandang individu dengan diet normal (mengandung protein 24%) dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Setelah diadaptasi secara acak semua tikus dibagi menjadi tiga kelompok (K-24, K-14, dan K-4), masing-masing tiga ekor perkelompok. Kemudian semua tikus dipuasakan selama 12 jam. Selanjutnya masing-masing kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut: kelompok K-24 (sebagai kontrol) diberi diet yang mengandung protein 24%, kelompok K-14 diberi diet yang mengandung protein 14%, dan kelompok K-4 diberi diet yang mengandung protein 4%. Diet dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Semua kelompok tikus mendapat perlakuan selama empat minggu. Setelah empat minggu, semua tikus dipuasakan selama 12 jam, kemudian dieutanasi dan diambil segmen usus halus (duodenum, jejunum, ileum). Segmen usus yang diperoleh dibuat preparat histopatologik dengan teknik NADPH-d untuk mengetahui perubahan morfometrik neuron mienterik nitregiknya. Untuk mendukung penelitian ini, maka setiap minggu dilakukan penimbangan bobot badan dan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar glukosa darah.

Prosedur Sampling Darah

Tikus disuntik ketamin secara intramuskuler dengan dosis 50mg/kg BB. Setelah

ditunggu sekitar lima menit, segera darah diambil dari vena coccigea.

Menentukan Kadar Glukosa Darah

Sampel darah diambil melalui ujung ekor tikus yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian diurut perlahan-lahan selanjutnya ujung ekor ditusuk dengan jarum kecil (syringe 1 cc). Darah yang keluar, kemudian disentuh pada strip glukometer digital. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar glukometer setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dL.

Pemeriksaan Neuron Mienterik Nitregik Usus Halus

Segmen usus halus setelah dicuci dengan PBS, kemudian difiksasi dengan larutan formalin 4% selama satu jam. Setelah dicuci dengan PBS segmen usus dipisah antara muskulus dan mukosa dengan menggunakan stereomikroskop. Selanjutnya muskulus segmen usus halus diinkubasi di dalam larutan campuran antara NBT dengan NADPH-d dalam bufer 0,05 M bufer Tris-HCL (pH 7,4) pada temperatur 37°C. Teknik pewarnaan NADPH-d ini menurut metode yang telah dilakukan Araújo *et al.* (2009) dan Pereira *et al.* (2014). Selanjutnya muskulus ditutup gelatin dan kaca penutup. Pengukuran jumlah neuron mienterik nitregik/1 cm² dengan menggunakan mikroskop dengan lensa 40x pada obyektif. Optilab yang disambung ke sistem komputer untuk analisis gambar.

Analisa Data

Data jumlah neuron mienterik nitregik segmen usus halus, berat badan, dan kadar glukosa darah dianalisis secara statistika dengan sidik ragam dengan *design single factor*. Data yang menunjukkan perbedaan yang nyata, dilanjutkan dengan uji-Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian rata-rata jumlah neuron mienterik usus halus/cm² kelompok tikus K-24, K-14, dan K-4 diet protein selama empat minggu disajikan pada Tabel 1.

Jumlah neuron nitregik duodenum kelompok K-24, K-14 dan K-4 (Tabel 1) secara statistika ada yang berbeda signifikan (p<0,001). Selanjutnya diuji Tukey untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda sangat signifikan.

Hasilnya menunjukkan bahwa kelompok K-24 dengan K-14 berbeda sangat signifikan ($p < 0,003$), kelompok K-24 dengan K-4 berbeda sangat signifikan ($p < 0,001$), dan kelompok K-14 dengan K-4 berbeda tidak signifikan ($p > 0,344$) (Gambar 1). Berarti diet rendah protein (4%, 14%) berpengaruh meningkatkan jumlah neuron nitrengik duodenum dibandingkan kontrol (24%).

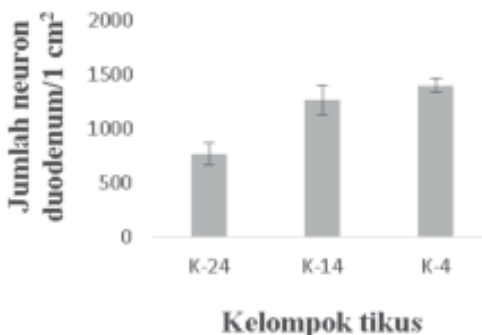
Rataan jumlah neuron nitrengik jejunum kelompok K-24, K-14, dan K-4 (Tabel 1) secara statistika ada yang sangat berbeda signifikan ($p < 0,001$). Selanjutnya diuji Tukey untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan. Hasilnya menunjukkan bahwa kelompok K-24 dengan K-14 berbeda tidak signifikan ($p > 0,106$), kelompok K-24 dengan K-4 berbeda sangat signifikan ($p < 0,001$), dan kelompok K-14 dengan K-4 berbeda sangat signifikan ($p < 0,005$). Berarti semakin rendah kadar proteinnya (4%, 14%) semakin berpengaruh meningkatkan jumlah neuron nitrengik jejunum dibandingkan kontrol (24%) (Gambar 2).

Rataan jumlah neuron nitrengik ileum kelompok K-24, K-14, dan K-4 (Tabel 1) secara statistika ada yang berbeda signifikan. Selanjutnya diuji Tukey untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan. Hasilnya menunjukkan bahwa kelompok K-24 dengan K-14 berbeda sangat signifikan ($p < 0,001$), kelompok K-24 dengan K-4 berbeda sangat signifikan ($p < 0,015$), dan kelompok K-14 dengan K-4 berbeda sangat signifikan ($p < 0,001$). Berarti penurunan protein dalam diet (4%, 14%) berpengaruh menurunkan jumlah neuron nitrengik ileum dibandingkan kontrol (24%) (Gambar 3).

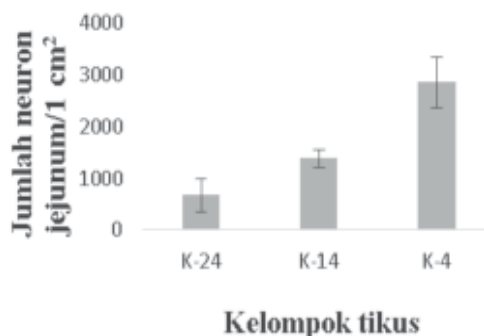
Dari hasil analisis penelitian ini menunjukkan bahwa diet rendah protein (4%, 14%) berpengaruh meningkatkan jumlah neuron nitrengik di duodenum dan di jejunum, namun menurunkan jumlah di ileum dibandingkan kontrol (24%). Lebih lanjut diet rendah protein menyebabkan atrofi tunika mukosa lambung dan usus, menurunkan vili dan mikrovili. Keadaan ini berdampak pada absorpsi dan pertumbuhan bobot badan. Menurut Gois *et al.* (2014), neuron positif NADPH-d sangat penting untuk mengkarakterisasi populasi neuron nitrengik dengan aktivitas motorik yang menghambat. Malnutrisi protein menyebabkan perubahan pada morfometrik kolon ascenden intestinal

tikus, yaitu peningkatan ketebalan tunika muskulus, penurunan ketebalan tunika mukosa, jumlah sel goblet, tinggi kriptas dan tinggi enterosit (Hermes *et al.*, 2008).

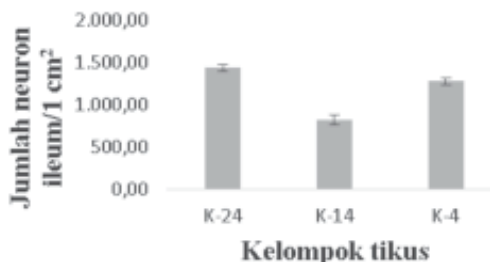
Pembatasan protein dapat menyebabkan kegagalan metabolisme dan mengakibatkan kerusakan organel, terutama di mitokondria. Lesi mitokondria mengaktifkan jalur intrinsik



Gambar 1. Perubahan jumlah neuron mienterik duodenum kelompok K-24, K-14, dan K-4



Gambar 2. Perubahan jumlah neuron mienterik jejunum kelompok K-24, K-14, dan K-4



Gambar 3. Perubahan jumlah neuron mienterik ileum kelompok K24, K14, dan K4

Tabel 1. Rataan jumlah neuron mienterik usus halus/cm² kelompok tikus K-24, K-14, dan K-4 diet protein selama empat minggu

Kelompok Tikus	Jumlah neuron nitregik/cm ²		
	Duodenum	Jejunum	Ileum
K-24	769,33±99,75	674,00±326,00	1.439,00±35,68
K-14	1.271,33±139,27	1.388,33±178,62	823,33±63,44
K- 4	1.403,33±65,43	2.861,67±488,71	1.280,00±38,43

Keterangan: K-24 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 24% protein
 K-14 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 14% protein
 K-4 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 4% protein

menuju apoptosis dengan cara caspases. Dengan demikian kandungan protein yang lebih rendah dalam makanan menyebabkan kekurangan faktor pertumbuhan neuron dan zat penting lainnya yang mengatur aliran bioenergi, sehingga terjadi pengaktifan protein sitoplasma pro-apoptosis. Peningkatan volume sitoplasma yang terkait dengan pengurangan di daerah inti menguatkan hipotesis ini karena aspek morfologi ini umum terjadi pada sel pada awal apoptosis. Dengan evolusi apoptosis, nukleus menjadi tidak proporsional kecil (inti piknotik) dan dengan kromatin kental yang sangat kental. Hal ini dapat divisualisasikan dengan teknik pewarnaan NADPHd. Kematian neuronal myenterik mengindikasikan peningkatan aktivitas sintesis oksida nitrat (NOS) dan dalam produksi oksida nitrat (Gois *et al.*, 2014).

Menurut Gois *et al.* (2014), diet 4% protein selama 12 minggu pada tikus menyebabkan peningkatan area badan sel neuron. Hal ini mungkin disebabkan oleh peningkatan volume sitoplasma, setelah nukleus memiliki pengurangan ukuran yang tidak signifikan. Diet rendah protein (4% protein) tidak menyebabkan perubahan badan sel, namun ada kerugian neuron untuk populasi total dan sub populasi kolinergik, dengan peningkatan kepadatan neuron nitregik (Sant'Ana *et al.*, 2012). Pemberian diet 4% protein selama 90 hari pada tikus awal dewasa menyebabkan penurunan tonus simpatis 28%, seta peningkatkan tonus vagus 21%, sehingga memicu aktivitas sistem saraf otonom yang tidak seimbang (Malta *et al.*, 2014).

Pada penelitian ini pemberian diet 4% dan 14% protein selama empat minggu pada tikus menunjukkan bahwa kekurangan protein tersebut menyebabkan jumlah neuron nitregik

di duodenum, jejunum meningkat dan di ileum menurun. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian diet rendah protein tersebut belum menyebabkan tunika mukosa usus atrofi, vili dan mikrovilli menurun dan belum menunjukkan kegagalan metabolisme yang mengakibatkan kerusakan organela, terutama di mitokondria yang mengarah ke apoptosis. Menurut Gois *et al.* (2014), apabila diet hipoprotein berlangsung lama, maka akan memicu mekanisme yang memungkinkan adaptasi untuk kelangsungan hidup jaringan saraf.

Hasil penelitian ini didukung dengan pengukuran bobot badan dan kadar glukosa darah. Rataan bobot badan kelompok tikus K-24, K-14 dan K-4 diet rendah protein selama empat minggu disajikan pada Tabel 2.

Pertambahan bobot badan tikus minggu ke-4 menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), hasil perlakuan K-4 berbeda signifikan dengan K-24 dan K-14 ($p < 0,05$). Sementara K-24 dan K-14 tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$). Tampak pada Gambar 4 pertambahan bobot badan kelompok K-4 menurun dibanding kelompok K-24 dan K-14. Penurunan pertambahan bobot badan tikus kelompok K-4 terjadi karena K-4 mendapatkan diet dengan kandungan rendah protein menyebabkan rendahnya asupan asam amino yang digunakan untuk sintesis enzim untuk metabolisme karbohidrat dan lemak. Hasil ini sejalan dengan pendapat Pezeshki *et al.* (2016), Leidy *et al.* (2015), Gois *et al.* (2014), Martens *et al.* (2014) dan Sant'Ana *et al.* (2012), bahwa apabila hewan diberi diet rendah protein, maka terjadi penurunan asupan energi dan peningkatan pengeluaran energi yang mengakibatkan hilangnya bobot badan, lemak dan massa otot. Ketidakcukupan protein dalam diet menyebabkan penggunaan depot lemak

Tabel 2. Rataan pertambahan bobot badan tikus kelompok K-24, K-14 dan K-4 diet rendah protein selama empat Minggu

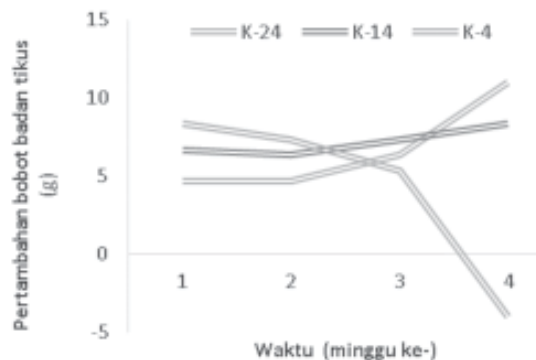
Kelompok Tikus	Pertambahan bobot badan tikus (g) minggu ke-			
	1	2	3	4
K-24	4,67±0,58	4,67±1,53	6,33±0,58	11±2,00
K-14	6,67±0,58	6,33±1,53	7,33±0,58	8,33±0,58
K- 4	8,33±0,58	7,33±1,15	5,33±3,79	-4,00±2,65

Keterangan: K-24 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 24% protein
 K-14 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 14% protein
 K- 4 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 4% protein

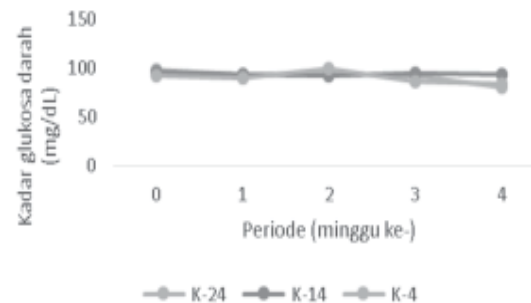
Tabel 3. Rataan kadar glukosa darah kelompok K-24, K-14 dan K-4 diet rendah protein selama empat minggu

Kelompok Tikus	Kadar glukosa darah (mg/dL) minggu ke-				
	0	1	2	3	4
K-24	98,33±3,21	94,00±5,00	95,33±6,66	93,00±9,85	80,67±13,50
K-14	96,67±7,51	94,00±15,39	92,67±7,57	94,67±4,04	94,33±9,81
K-14	93,33±6,81	90,67±5,77	99,67±3,06	86,67±3,79	85,00±7,55

Keterangan: K-24 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 24% protein
 K-14 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 14% protein
 K- 4 = Kelompok tikus dengan diet mengandung 4% protein



Gambar 4. Perubahan mingguan pertambahan bobot badan kelompok tikus K-24, K-14 dan K-4 diet rendah protein selama empat minggu



Gambar 5. Perubahan mingguan kadar glukosa darah kelompok tikus K-24, K-14 dan K-4 yang diet rendah protein selama empat minggu

dalam proses produksi energi untuk pemeliharaan massa otot, sehingga hilangnya berat badan terkait dengan kekurangan asam amino untuk sintesis enzim yang berkaitan

dengan pemanfaatan karbohidrat sebagai sumber energi dan konversi cadangan lemak.

Perubahan jumlah neuron nitroergik di duodenum dan jejunum setelah perlakuan diet

protein rendah selama empat minggu tidak diikuti oleh perubahan kadar glukosa darah ketiga kelompok K-24, K-14, dan K-4 (Tabel 3; Gambar 5). Hal ini kemungkinan terjadi karena tikus masih menggunakan simpanan energi dari simpanan glukosa dan lemak selama empat minggu perlakuan. Hasil ini sejalan dengan laporan Pezeshki *et al.* (2016), bahwa ada keterkaitan dengan pemanfaatan karbohidrat sebagai sumber energi dan konversi cadangan lemak.

SIMPULAN

Diet rendah protein (14% dan 4% protein) selama empat minggu meningkatkan jumlah neuron nitregik pada duodenum, jejunum, menurunkan jumlah neuron nitregik di ileum, menurunkan bobot badan, dan tidak meningkatkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar.

SARAN

Hasil penelitian ini digunakan untuk melihat pola diet yang berespons terhadap persarafan di usus halus, sehingga untuk melengkapi hasil respons persarafan ini disarankan untuk dilakukan penelitian lanjutan yaitu dengan memperpanjang waktu penelitian.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Ibu Dekan dan Bapak Wakil Dekan II FKH UGM atas perkenannya memberikan dana penelitian dengan biaya BPPTN BH FKH UGM sesuai surat perjanjian pelaksanaan kegiatan Nomor : 1212/J01.1.22/HK4/2017 tanggal 15 Maret 2017, sehingga penelitian ini terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

AIN (*American Institute of Nutrition*). 2005. Manual book of animal research diets. USA. ICN AIN. Hlm. 1138-1161.

Araújo EJA, Hermes C, Neto MHM, Almeida EC, Sant'Ana DMG. 2009. Atrophy of the nitregic myenteric neurons in the descend-

ing colon rats submitted to protein and vitamin deficiency. *Int. J Morphol* 27(3): 939-945.

Gois MB, Hermes-Uliana C, Fontes KB, Muniz E, Araújo EJA, Miranda-Neto MH, Sant'Ana DMG. 2014. Neuronal hypertrophy in rat colon caused by protein deficiency. *Int J Food Nutr Sci* 2(1): 1-4.

Greggio FM, Fontes RBV, Maifrino LB, Castelucci P, Souza RR, Liberti EA. 2010. Effects of perinatal protein deprivation and recovery on esophageal myenteric plexus. *World J Gastroenterol* 16(5): 563-570

Hermes C, Azevedo JF, Araújo EJA, Sant'Ana DMG. 2008. Intestinal ascending colon morphometrics in rats submitted to severe protein malnutrition. *Int J Morphol* 26(1): 5-11.

Hermes-Uliana C, Gois MB, Severi L, Santana D. 2015. Protein restriction produces alterations in nitregic myenteric neurons in the proximal colon in rats. <https://www.researchgate.net/publication/276471654>.

Leidy HJ, Clifton PM, Astrup A, Wycherley TP, Westerterp-Plantenga MS, Luscombe-Marsh ND, Woods SC, Mattes RD. 2015. The role of protein in weight loss and maintenance. *Am J Clin Nutr* 101(6): 1320S-1329S.

Malta A, de Oliveira JC, Ribeiro TA, Tófolo LP, Barella LF, Prates KV, Miranda RA, Elmhiri G, Franco CC, Agostinho AR, Trombini AB, Pavanello A, Gravena C, Abdennebi-Najar L, Mathias PC. 2014. Low-protein diet in adult male rats has long-term effects on metabolism. *J Endocrinol* 221(2): 285-295.

Martens EA, Tan SY, Mattes RD, Westerterp-Plantenga MS. 2014. No protein intake compensation for insufficient indispensable amino acid intake with a low-protein diet for 12 days. *Nutr Metab (Lond)* 11: 38.

Moreira N, Hermes C, Almeida CSL, Santana EC, Sant'Ana DMG, Araújo EJ. 2008. A quantitative analysis of the neurons from the myenteric plexus in the ileum of rats submitted to severe protein deficiency. *Arg Neuropsiquiatr* 66(2-A): 242-245.

- Pereira JNB, Mari RB, Stabile SR, de Faria HG, Mota TFM, Ferreira WM. 2014. Benefits of caloric restriction in the myenteric neuronal plasticity in aging rats. *An Acad Bras Cienc* 86(3): 1471-1481
- Pezeshki A, Zapata RC, Singh A, Yee NJ, Chelikani PK. 2016. Low protein diets produce divergent effects on energy balance. *Sci Rep* 6: 25145.
- Sant'Ana DMG, Araújo EJA, Ramos DH, Hermes-Uliana C, Natali, MRM. 2012. Characterization of the myenteric neuronal population and subpopulation of the duodenum of adult wistar rat fed with hypoproteic chow. *An Acad Bras Cienc* 84:3.