

PENGARUH DIET KETOGENIK TERHADAP EKSPRESI Ki-67, CASPASE-3, DAN MDA PADA JARINGAN HATI

Huntari Harahap, Irfannuddin Irfannuddin , Krisna Murti

Prodi Magister Biomedik Universitas Sriwijaya., Jln. Dokter Muhammad Ali, Sekip Jaya, Kemuning, Kota Palembang, Sumatera Selatan

Email : Huntariharahap@gmail.com

Abstract

Obesity is a problem of global epidemics and arise a health threat to people. The prevalence of obesity in the United States in 2016 was around 39.8% in adults aged 40-59 years and 18.5% in young adults aged 20-39 years. One of the dietary patterns used to overcome obesity is the ketogenic diet. The main metabolic reaction due to the ketogenic diet occurs in the liver which make lesion.

The ketogenic diet is a high-fat diet, quite protein, low in carbohydrates (usually less than 50 g / day). The effect of the ketogenic diet on the liver is help maintain TCA cycle homeostasis, prevents the accumulation of intermediate fatty acids that are not oxidized, maintains the redox balance of the liver, and supplies energy to extrahepatic organs in the glucose deficiency stage.

The ketogenic diet can reduce cell proliferation which is characterized by a decrease in the percentage of cells in ki-67 positive staining and increase cell apoptosis which is characterized by an increase in caspase-3 positive staining and reduce oxidative stress as assessed by MDA reduction.

Key Words : Obesity, Ketogenic Diet, Ki-67, Liver, Caspase-3, MDA

Abstrak

Obesitas merupakan masalah epidemi global dan menimbulkan ancaman kesehatan pada manusia. Prevalensi obesitas di Amerika Serikat tahun 2016 sekitar 39,8% pada dewasa yang berusia 40-59 tahun dan 18,5% terjadi pada dewasa muda yang berusia 20-39 tahun. Salah satu pola diet yang digunakan untuk mengatasi obesitas yakni diet ketogenik. Reaksi metabolik utama akibat diet ketogenik terjadi di hati. Reaksi ini menimbulkan lesi pada hati

Diet ketogenik adalah diet tinggi lemak, cukup protein, rendah karbohidrat (biasanya kurang dari 50 g/hari). Pengaruh diet ketogenik pada hati yakni ketogenesis hati membantu mempertahankan homeostasis siklus TCA, mencegah akumulasi asam lemak intermediet yang tidak teroksidasi, mempertahankan keseimbangan redoks hati, dan suplai energi organ ekstrahepatik pada stadium kekurangan glukosa.

Diet ketogenik dapat mengurangi proliferasi sel yang ditandai dengan penurunan persentase sel pada pewarnaan positif ki-67 dan meningkatkan apoptosis sel yang ditandai dengan peningkatan pewarnaan positif caspase-3 serta menurunkan stres oksidatif yang dinilai dari penurunan MDA.

Kata Kunci : Obesitas, Diet Ketogenik, Hati, Ki-67, Caspase-3, MDA

PENDAHULUAN

Obesitas merupakan masalah epidemi global dan menimbulkan ancaman kesehatan pada manusia. Obesitas dikaitkan dengan peningkatan risiko untuk penyakit serebrovaskular aterosklerotik, penyakit jantung koroner, kanker kolorektal, hiperlipidemia, hipertensi, penyakit kandung empedu, dan diabetes mellitus, serta menyebabkan kematian yang lebih tinggi.¹ Menurut WHO 2015, seseorang dikatakan obesitas ketika indeks massa tubuh (IMT) mereka, yang pengukuran diperoleh dengan membagi berat dengan kuadrat tinggi seseorang adalah lebih dari 30 kg/m². Prevalensi obesitas di Amerika Serikat tahun 2016 sekitar 39,8% pada dewasa yang berusia 40-59 tahun dan 18,5% terjadi pada dewasa muda yang berusia 20-39 tahun.²

Obesitas adalah penyakit yang penyebabnya dapat berupa kelainan genetik dan kondisi endokrin yang dipengaruhi faktor lingkungan seperti stres, diet, pola kerja yang menetap dan lingkungan obesigenik.³

Salah satu pola diet yang digunakan untuk mengatasi obesitas yakni diet ketogenik. Diet ketogenik adalah diet tinggi lemak, cukup protein dan rendah karbohidrat. Pada diet ini memaksa tubuh untuk membakar lemak daripada karbohidrat. Biasanya, karbohidrat yang terkandung dalam makanan diubah menjadi glukosa, yang kemudian diangkut keseluruh tubuh. Akan tetapi, jika karbohidrat sedikit dalam makanan, hati mengubah lemak

menjadi asam lemak dan benda keton. Benda keton masuk ke otak dan menggantikan glukosa sebagai sumber energy.⁴

Reaksi metabolik utama akibat diet ketogenik terjadi di hati. Hati berpotensi mengalami lesi diakibatkan modifikasi diet. Hepatosit yang merupakan sel hati merespon cedera melalui berbagai mekanisme, yakni autophagy, apoptosis, dan kematian non-apoptosis. Autophagy merupakan proses adaptif yang terkait dengan berbagai jenis cedera pada hati, seperti kekurangan nutrisi, faktor pertumbuhan yang tidak memadai, hipoksia, dan penumpukan lemak di hepatosit. Apoptosis adalah proses alami yang diperlukan untuk menghilangkan sel-sel yang rusak serta mutagenik. Apoptosis adalah proses aktif yang membutuhkan energi; ketika energi tidak mencukupi, proses melambat dan kematian non-apoptosis dimulai. Pada kematian non-apoptosis terjadi respon inflamasi yang dapat memperburuk lesi awal. Caspase-3 dianggap sebagai ciri khas yang tipikal dari apoptosis, dan diperlukan untuk kondensasi kromatin apoptosis dan fragmentasi DNA semua jenis sel yang diperiksa.^{5,6}

Selain itu, hepatosit juga dapat mengalami proliferasi, yakni fase sel saat mengalami pengulangan siklus sel tanpa hambatan. Hal ini berbeda dengan mitosis. Proliferasi sel digunakan hepatosit saat penggantian massa parenkim hati yang hilang akibat proses detoksifikasi, radang atau imunitas. Ki-67 merupakan suatu protein di nukleus yang terikat kuat dan di

ekspresikan pada siklus sel saat sel membelah. Protein ini dapat ditemukan pada semua sel proliferasi, baik sel normal maupun sel tumor, sehingga protein ini dapat digunakan sebagai penanda dari kecepatan proliferasi sel pada pertumbuhan sel.⁶

Diet ketogenik diuji coba untuk mencegah dan mengobati sel kanker dan diketahui diet ketogenik dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel kanker. Stres oksidatif adalah keadaan dimana radikal bebas melebihi kapasitas tubuh untuk menetralkannya. Radikal bebas dapat mempengaruhi kelangsungan hidup sel karena menyebabkan kerusakan membran melalui kerusakan oksidatif lipid, protein dan modifikasi DNA yang ireversibel. Radikal bebas yang mengenai membran lipid polisaturated menghasilkan hidroperoksida dengan produksi malondialdehid (MDA). MDA adalah biomarker stres oksidatif yang paling sering digunakan di banyak masalah kesehatan seperti kanker, psikiatri, penyakit paru obstruktif kronik, asma, atau penyakit kardiovaskular.⁶

Pembahasan

Histologi Hepar

Sebuah kapsul jaringan ikat bercabang melalui hati dan membentuk septa yang membagi hati menjadi ribuan kecil, polyhedral lobulus hati, yang merupakan struktural klasik dan fungsional unit hati . Di dalam lobulus hati terdapat sel yang disebut hepatocytes . Di pinggiran setiap lobulus terdapat beberapa triad

portal, terdiri dari cabang-cabang vena porta hepatis, arteri hepatis, dan saluran empedu.⁷

Pada penampang melintang, lobulus hati tampak seperti roda sepeda. Pada pusat roda terdapat vena sentral. Di bagian lingkaran terdapat beberapa triad portal yang jaraknya sama. Sebagai jari-jari rodanya terdapat sinusoid hepar, yang dibatasi oleh hepatosit. Sinusoid hepar berdinding tipis, berpori dimana darah arteri dan vena bercampur dan mengalir perlahan melalui lobulus hati menuju vena sentral. Sinusoid berjajar dengan sel stellata yang disebut sel retikuloendotel (atau sel Kupffer), yang merupakan sel fagosit yang memiliki fungsi kekebalan tubuh. Hepatosit menyerap nutrisi dari sinusoid, dan menghasilkan empedu. Antara masing-masing hepatosit terdapat canaliculus empedu kecil. Kanalikuli biliaris membawa empedu dari hepatosit ke saluran empedu di triad portal.⁷

Obesitas

Obesitas adalah kondisi medis dimana terjadi akumulasi lemak tubuh yang berlebihan yang menyebabkan efek negatif pada kesehatan. Seseorang dikatakan obesitas dinilai dari indeks massa tubuh (BMI), yang diperoleh dari pengukuran berat badan dibagi dengan kuadrat tinggi badan seseorang adalah lebih dari 30 kg / m². Pada tahun 2016 lebih dari 1,9 milyar dewasa yang berusia 18 tahun dan lebih mengalami kelebihan berat badan dan lebih dari 650 juta dewasa mengalami obesitas. Secara keseluruhan, sekitar 13% populasi

dewasa dunia (11% pria dan 15% wanita) mengalami obesitas pada tahun 2016.⁸ Prevalensi obesitas pada orang dewasa yang berusia 40-59 tahun (42,8%) lebih tinggi daripada dewasa yang berusia 20–39 tahun (35,7%). Tidak ada perbedaan prevalensi yang signifikan antara orang dewasa yang berusia 60 tahun dan lebih (41,0%) dengan kelompok usia yang lebih muda.⁹

Metabolisme Energi

Metabolisme berasal dari bahasa Yunani *metabole* yakni perubahan. Metabolisme adalah rangkaian dari reaksi kimia yang mempertahankan kehidupan pada organisme. Metabolisme juga dapat diartikan semua reaksi kimia yang terjadi pada organisme, termasuk pencernaan, pengangkutan zat-zat ke dalam dan antar sel. Tujuan utama metabolisme adalah konversi makanan menjadi energi untuk melakukan proses seluler, konversi makanan dari protein, lipid, asam nukleat, dan karbohidrat, dan pengeluaran zat sisa nitrogen.¹⁰

Metabolisme dibagi menjadi dua kategori yakni katabolisme dan anabolisme. Katabolisme adalah penguraian bahan organik misalnya, pemecahan glukosa ke piruvat melalui respirasi sel, sedangkan anabolisme adalah proses pembentukan komponen sel seperti protein dan asam nukleat. Biasanya, proses penguraian melepaskan energi dan proses pembentukan memerlukan energi.¹⁰

Stres oksidatif

Stres oksidatif merupakan proses ketidakseimbangan manifestasi sistemik reaktif oksigen spesies dan kemampuan sistem biologis untuk memperbaiki kerusakan yang diakibatkannya. Stres oksidatif terjadi ketika homeostasis reduksi oksidasi dalam sel berubah. Cedera pada sel dapat terjadi ketika ROS meningkat saat pertahanan biokimia sel. ROS dapat bereaksi dengan semua makromolekul yaitu lipid, protein, asam nukleat dan karbohidrat. Reaksi awal menghasilkan radikal kedua yang bereaksi dengan makromolekul kedua dan seterusnya dalam reaksi berantai yang berkelanjutan. Diantara target yang lebih rentan adalah asam lemak tidak jenuh.¹¹

Secara kimiawi, stres oksidatif dikaitkan dengan peningkatan produksi spesies pengoksidasi atau penurunan yang signifikan dalam efektivitas pertahanan antioksidan, seperti glutathione. Sebagian besar derivat yang diturunkan dari oksigen diproduksi oleh metabolisme aerobik normal. Efek dari stres oksidatif tergantung pada ukuran perubahan. Pada keadaan yang lebih ringan sel mampu mengatasi gangguan kecil dan kembali ke keadaan semula. Namun, stres oksidatif yang oksidasi sedang dapat memicu apoptosis, sementara tekanan yang lebih kuat dapat menyebabkan nekrosis.¹²

Peroksidasi lipid merupakan penanda biologis yang penting dari kerusakan sel oksidatif dan penuaan. Malondialdehid (MDA) merupakan indikator

terbaik dari peroksidasi lipid untuk mengetahui stres oksidatif. Stres oksidatif berperan penting dalam patogenesis berbagai penyakit. Pandangan klasik ROS sebagai faktor yang menghancurkan makromolekul biologis telah mengalami pergeseran, di mana sekarang peran fisiologis positif juga dipertimbangkan. Singkatnya, stres oksidatif dapat memiliki respon positif, seperti, proliferasi atau aktivasi, serta respon negatif, seperti, peroksidasi lipid, kerusakan DNA, sel penghambatan pertumbuhan atau kematian sel.¹³

Diet Ketogenik

Diet ketogenik adalah diet tinggi lemak, cukup protein, rendah karbohidrat (biasanya kurang dari 50 g/hari) (Paoli, 2013). Biasanya karbohidrat yang terdapat pada makanan diubah menjadi glukosa dan diedarkan ke seluruh tubuh. Akan tetapi, jika jumlah karbohidrat sedikit dalam makanan, maka hati mengubah lemak menjadi asam lemak dan benda keton. Diet rendah karbohidrat ini digunakan untuk pengelolaan obesitas, mengobati kejang dan kejang sistem saraf pusat.¹⁴

Klasifikasi Diet Ketogenik

1. Standard ketogenic diet (SKD): Ini merupakan diet rendah karbohidrat, protein sedang dan tinggi lemak. Biasanya mengandung 75% lemak, 20% protein dan 5% karbohidrat. Dengan menjaga karbohidrat cukup rendah, tubuh bergantung pada asam lemak dan keton untuk energi (bukan glukosa). Pergeseran dalam substrat

metabolisme ini memiliki berbagai manfaat, termasuk peningkatan fungsi kognitif, energi yang dihasilkan lebih banyak, risiko perubahan gula darah sedikit. Pada SKD menghindari penggunaan sumber karbohidrat langsung, seperti gandum, beras, kentang dan sebagainya. Variasi diet ketogenik ini paling baik digunakan untuk meningkatkan kesehatan dan memperoleh efek ketosis.

- 2. Cyclical ketogenic diet (CKD):** Diet ini melibatkan periode makan kembali karbohidrat tinggi, seperti 5 hari ketogenik diikuti oleh 2 hari karbohidrat tinggi. Jika seseorang sangat aktif dan melakukan aktivitas intensif lima sampai tujuh kali (atau lebih) per minggu, maka CKD kemungkinan adalah pilihan terbaik. Seseorang dapat mengisi glikogen otot untuk meningkatkan latihan sambil memanfaatkan efek ketosis sepanjang minggu.
- 3. Targeted ketogenic diet (TKD)** adalah diet ketogenik yang menginduksi ketosis disertai menggunakan karbohidrat beberapa waktu. Diet ini digunakan seseorang yang memanfaatkan diet ketogenik yang disertai olahraga. Pada TDC dilakukan diet ketogenik setiap hari, pada saat berolahraga, mengkonsumsi tambahan karbohidrat 25-50 gram sebelum olahraga. Sehingga gula darah tetap cukup untuk olahraga dalam keadaan tetap ketosis
- 4. High-protein ketogenic diet** adalah diet ini mirip dengan diet ketogenik standar, tetapi mencakup lebih banyak

protein. Rasio ini sering 60% lemak, 35% protein dan 5% karbohidrat.¹⁵

Ketosis

Ketosis adalah keadaan metabolik di mana energi tubuh berasal dari badan keton dalam darah. Ketosis terjadi ketika tubuh memetabolisme lemak pada tingkat tinggi dan mengubah asam lemak menjadi keton. Ketosis ditandai dengan konsentrasi serum tubuh keton lebih dari 0,5 mM, dengan tingkat insulin dan glukosa darah yang rendah dan stabil.^{16,17}

Badan keton yang diproduksi di hati adalah asetoasetat tetapi sirkulasi primer keton adalah b- hidroksi butirat . Pada keadaan dengan diet karbohidrat dalam jumlah normal, produksi asam asetoasetat bebas dapat diabaikan dan dimetabolisme dengan cepat di jaringan, terutama pada otot rangka dan otot jantung. Jika jumlahnya berlebihan di dalam tubuh maka akan dikonversi menjadi ketonemia dan ketonuria. Bau ketosis yang khas disebabkan oleh aseton yang merupakan senyawa yang mudah menguap melalui respirasi di paru-paru lewat jalur yang menghasilkan pembentukan 3-hidroksi-3-methylglutaryl-CoA dari asetil CoA dan di sitosol sel-sel hati ketika biosintesis kolesterol.¹⁸

Benda keton digunakan jaringan sebagai sumber energi melalui bentuk b-hydroxybutyrate dua molekul acetyl CoA, yang akhirnya digunakan dalam siklus Krebs. Ketosis merupakan mekanisme fisiologis dan berbeda dengan keadaan

asidosis keto patologis biasa yang terlihat pada diabetes tipe 1.¹⁸ Pada keadaan ketosis fisiologis ketonemia mencapai tingkat maksimum 7/8 mmol / l dan tanpa perubahan pH darah, sedangkan pada ketoasidosis diabetik yang tidak terkontrol dapat melebihi 20 mmol / l dengan penurunan pH darah secara bersamaan.²⁰

Penanda Proliferasi Ki-67

Ki-67 pertama kali diidentifikasi melalui antibodi nuklues sel limfoma Hodgkin. Ki-67 tampak jelas pada sel-sel yang berproliferasi dan kurang jelas dalam sel diam .²¹

Antibodi Anti-Ki-67 sering digunakan untuk mendeteksi proliferasi sel-sel dalam studi klinis. Pada fase interfase, Ki-67 terdapat pada nucleolus sedangkan selama mitosis, Ki-67 melapisi kromosom . Protein Ki-67 khususnya digunakan untuk mitosis perikromosomal. Antigen Ki67, mengkodekan dua isoform protein dengan berat molekul 345 dan 395 kDa, pada awalnya diidentifikasi oleh Scholzer dan Gerdes pada awal 1980-an Protein Ki67 memiliki waktu paruh sekitar 1-1,5 jam. Terjadi selama semua fase aktif dari siklus sel (G1, S, G2 dan M), tetapi tidak aktif pada fase istirahat (G0) (Hooghe B, 2008). Pada fase mitosis lanjutan (selama anafase dan telofase), terjadi penurunan nilai Ki67 . Ekspresi protein Ki67 dikaitkan dengan aktivitas proliferasi sel intrinsik pada tumor ganas, sehingga digunakan sebagai penanda agresivitas tumor (Modlin IM, 2008). Nilai prognostik Ki67 telah diteliti dalam sejumlah penelitian sebagai

penanda pada kanker payudara, jaringan lunak, paru-paru, prostat, leher rahim dan sistem saraf pusat¹⁹

Protein Caspase-3

Apoptosis adalah kematian sel terprogram yang melibatkan kerusakan komponen intraseluler yang terkontrol dan menghindari peradangan serta kerusakan sel disekitarnya. Caspase initiator mengaktifkan caspase executioner yang mengkoordinasikan kegiatannya untuk menghancurkan struktural protein utama dan mengaktifkan enzim lain. Tanda-tanda dari apoptosis yaitu fragmentasi DNA dan kerusakan membrane (McIlwain David et al, 2018)

Pada sel dengan defisiensi caspase-3 yang mengalami apoptosis, sel tidak mengalami pembesaran, fragmentasi DNA dan kondensasi kromatin, sedangkan sel yang diaktivasi caspase-3 terjadi pembelahan spesifik dari apoptosis sel. Terjadinya gangguan pada mitokondria (misalnya hilangnya potensi transmembran, transisi permeabilitas dan pelepasan sitokrom-c menyebabkan gangguan transpor elektron) merupakan yang terjadi pada apoptosis. Pelepasan sitokrom-c diinduksi oleh stimulasi aktivasi kompleks-apoptosis faktor-1 (Apaf-1) dan caspase-9 yang berperan pada proses dependent pro-caspase-3 dan apoptosis. Aktivasi caspase-3 juga dapat terjadi independen menghasilkan sitokrom c mitokondria. Setelah caspase-3 diaktifkan, terjadi pembelahan ireversibel terlepas dari

keterlibatan sitokrom-c. Dengan pelepasan caspase 3, menyebabkan Bcl-2 mengubah anti-apoptosis menjadi proapoptosis dan terjadi apoptosis pada mitokondria.²²

Protein MDA

Malondialdehid (MDA) adalah salah satu marker radikal bebas dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang terbentuk akibat kerusakan oksidatif. Malondialdehid (MDA) terbentuk dari peroksidasi lipid (*lipid peroxidation*) pada membran sel, yaitu reaksi antara radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut adalah hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehyd yang bersifat toksik terhadap sel. MDA merupakan salah satu aldehyd utama yang terbentuk.²³

Pengaruh diet ketogenik pada hati

Hati merupakan tujuan asam lemak yang berasal dari lipolisis dari penyimpanan adiposa dan lipoprotein yang berasal dari triasilgliserol. *Fatty Alcohol Oxidase* (FAO) hepatic mengubah asam lemak menjadi asetil-KoA, yang berkondensasi dengan oksaloasetat dalam siklus TCA, yang elektronnya digunakan dalam rantai transportasi elektron untuk menghasilkan fosfat berenergi tinggi. Saat asam lemak tinggi pada mitokondria, banyak asetil-CoA dialihkan dari siklus TCA ke ketogenesis, menghasilkan acetoacetate (AcAc) dan β -hydroxybutyrate (β OHB). Pada hati terdapat enzim ketogenik, mitochondrial

HMG-CoA synthase, yang diaktifkan oleh Sirtuin 3- deasetilasi dimediasi, dan gen HMGCS2 yang diatur insulin. Akan tetapi, mitokondria sel hati kekurangan enzim yang diperlukan untuk mengoksidasi badan keton. Oleh karena itu, keton disekresikan dan dikirim ke jantung, otot rangka dan otak, yang banyak mengekspresikan enzim matriks mitokondria succinyl-CoA: 3-oxoacid-CoA transferase (SCOT, dikodekan oleh OXCT1), yang diperlukan untuk mengubah ketone bodies menjadi acetyl-CoA untuk oksidasi terminal pada siklus TCA. Dengan demikian, ketogenesis hati membantu mempertahankan homeostasis siklus TCA, mencegah akumulasi asam lemak intermediet yang tidak teroksidasi, mempertahankan keseimbangan redoks hati, dan suplai energi organ ekstrahepatik pada stadium kekurangan glukosa termasuk diet ketogenik, puasa dan diabetes yang tidak terkontrol.²⁴

Pengaruh diet ketogenik terhadap ekspresi Ki67, Caspase-3 dan MDA

Diet ketogenik dapat mengurangi proliferasi sel dan meningkatkan apoptosis sel. Hal ini terlihat pada pemeriksaan imunohistokimia diketahui bahwa pewarnaan positif Ki67 sebagai penanda proliferasi sel yang mengalami penurunan persentase sel. Pewarnaan positif dari Ki-67 ditunjukkan pada hasil pewarnaan yang bewarna coklat. Kepositifan Ki-67 dinilai secara manual dan ditentukan dengan pewarnaan nuklear pada sel. Ki-67 LI (*Labeling Index*) ditentukan sebagai proporsi dari nukleus sel kanker yang

positif terhadap pewarnaan Ki-67 yang berhubungan dengan jumlah total nukleus sel yang dihitung.²⁵ Sedangkan apoptosis sel dapat terlihat dengan menilai ekspresi caspase-3. Peningkatan apoptosis sel pada diet ketogenik ditandai dengan peningkatan pewarnaan positif caspase-3. Ekspresi caspase-3 dinilai persentasenya dengan menghitung sel yang berwarna coklat pada sitoplasmanya.²⁶

Diet ketogenik diketahui juga menurunkan stres oksidatif. Malondialdehida merupakan produk akhir dari oksidasi lipid. Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung juga menunjukkan tingginya jumlah radikal bebas. Penurunan stres oksidatif pada diet ketogenik menyebabkan penurunan MDA.²⁷

Kesimpulan

1. Diet ketogenik adalah diet tinggi lemak, cukup protein, rendah karbohidrat (biasanya kurang dari 50 g/hari)
2. Klasifikasi diet ketogenik yakni :
 - a. Standar Ketogenic Diet (SKD)
 - b. Cyclical Ketogenic Diet (CKD)
 - c. Targeted Ketogenic Diet (TKD)
 - d. High-protein ketogenic diet
3. Pengaruh diet ketogenik pada hati yakni ketogenesis hati membantu mempertahankan homeostasis siklus TCA, mencegah akumulasi asam lemak intermediet yang tidak teroksidasi, mempertahankan keseimbangan redoks hati, dan suplai energi organ ekstrahepatik pada

- stadium kekurangan glukosa termasuk diet ketogenik, puasa dan diabetes yang tidak terkontrol
4. Pengaruh diet ketogenik terhadap ekspresi Ki67, Caspase-3 dan MDA yakni diet ketogenik dapat mengurangi proliferasi sel yang dinilai dari ekspresi Ki67 dan meningkatkan apoptosis sel melalui caspase 3 serta menurunkan stres sel yang diketahui dari ekspresi MDA.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhang Yi, Ju Liu, 2014. Obesity : Pathophysiology and Intervention. *Nutrients*. 6 : 5153-5158.
2. Ogden. L. Cynthia. 2017. Prevalence of Obesity Among Adult and Youth : United States, 2015-2016. *NCHS Data Brief* . 288
3. Walley Andrew J. 2006. Genetics of obesity and the prediction of risk of health. *Blakemore and Prilippe Frogeul*
5. Freeman JM, Kossoff EH, Hartman AL. 2007. The ketogenic diet: one decade later. *Pediatrics*. 119(3):535–43
6. Emilia Maria. 2016. Apoptosis induced by a low carbohydrate and high protein diet in rat livers. *World Journal of Gastroenterology*. 22(22): 5165–5172.
7. Mcllwain, David, et al. 2018. *Caspase Function in Cell Death and Disease*. Cold Spring Harbor Laboratory Press
8. Tortora Gerard, Mark Nielsen. 2012. *Principle of Human Anatomy*. John Wiley & Sons, Inc. 12 : 837-839.
9. World Health Organization. 2018. Obesity and Overweight: WHO. [http://: www.who.int](http://www.who.int).
10. Hales Craig, et al. 2017. Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2015–2016. *Centers for Disease Control and Prevention National Center for Health Statistics*. 288
11. Galgany J. 2005. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *International Journal of Obesity*. Supl.7
12. Chandra Kala, Syed Salman Ali; ,et al..2015. Protection Against FCA Induced Oxidative Stress Induced DNA Damage as a Model of Arthritis and In vitro Anti-arthritis Potential of *Costus speciosus* Rhizome Extract". *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7 (2): 383–389.
13. Schafer FQ, Buettner GR. 2001. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic. Biol. Med.* 30 (11): 1191–212
14. Jain Suman, Ashwati Nair, Chanchal Shrivastava. 2015. Evaluation of Oxidative Stress Marker Malondialdehyde Level in the Cord Blood of Newborn Infants. *International Journal of Scientific Study*. DOI: 10.17354/ijss/2015/396
15. Gerlach, G.; Herpertz, S.; Loeber, S. 2014. "Personality traits and obesity: a systematic review". *Obesity Reviews*. 16 (1): 32–63
16. Paoli A , Rubini A , Volek JS, Grimaldi JS. 2013. Beyond weight loss: a review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *European Journal of Clinical Nutrition*. 789–796

17. Gibson A, Seimon R, Lee C, Ayre J, Franklin J, Markovic T, Caterson ID, Sainsbury A. 2015. Do ketogenic diets really suppress appetite? A systematic review and metaanalysis. *Obesity Reviews* 16(1):64–76
18. Guerci B, Benichou M, Floriot M, Bohme P, Fougnot S, Franck P, Drouin P. 2003. Accuracy of an electrochemical sensor for measuring capillary blood ketones by fingerstick samples during metabolic deterioration after continuous subcutaneous insulin infusion interruption in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 26(4):1137–1141
19. Cavaleri Franco, Emran basyar. 2018. Potential Synergies of β -Hydroxybutyrate and Butyrate on the Modulation of Metabolism, Inflammation, Cognition, and General Health; *Hindawi Journal of Nutrition and Metabolism*.
20. Ishihara M, Mukai H, Nagai S, *et al.* 2013. Retrospective analysis of risk factors for central nervous system metastases in operable breast cancer: effects of biologic subtype and Ki67 overexpression on survival. *Oncology* 84: 135-140
21. Cahill Jr GF. 2006. Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr*; 26: 1–22.
22. Zeggai Soumia, Noria Harir, Abdelnacer Tou, Feriel Sellam, Meriem N. Mrabent, Rachida Salah. 2016. Immunohistochemistry and scoring of Ki-67 proliferative index and p53 expression in gastric B cell lymphoma from Northern African population: a pilot study. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 7(3):462-468
23. Scholzen T, Gerdes J. , 2000. The Ki-67 protein: from the known and the unknown. *J Cell Physiol*. 182: 311-322
24. Khoubnasabjafari, Maryam, *et al.* 2015. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BiolImpacts*,5(3), 123-127
25. Rebecca C. Schugar. 2012. Low-carbohydrate ketogenic diets, glucose homeostasis, and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 15(4): 374–380
26. Nabi U, Nagi AH, Sami W. 2008. Ki-67 proliferating index and histological grade, type and stage of colorectal carcinoma. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 20(4):44–8
27. Aude Bressenot, 2009. Assessment of Apoptosis by Immunohistochemistry to Active Caspase-3, Active Caspase-7, or Cleaved PARP in Monolayer Cells and Spheroid and Subcutaneous Xenografts of Human Carcinoma. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 57(4): 289–300
28. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. 2010. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*.48:757-767.