

TESIS

**PENGARUH DIET TINGGI KALORI INTERMITEN DAN
LATIHAN KONTINU INTENSITAS SEDANG TERHADAP
DIAMETER KARDIOMIOSIT DAN EKSPRESI *BRAIN*
NATRIURETIC PEPTIDE (BNP) PADA OTOT JANTUNG
MENCIT BETINA YANG DIPAPAR DIET TINGGI KALORI**

IKKA IKK
TKO.26/21
Eka
P



**Eka Arum Cahyaning Putri
011914553003**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

TESIS

**PENGARUH DIET TINGGI KALORI INTERMITEN DAN
LATIHAN KONTINU INTENSITAS SEDANG TERHADAP
DIAMETER KARDIOMIOSIT DAN EKSPRESI *BRAIN*
NATRIURETIC PEPTIDE (BNP) PADA OTOT JANTUNG
MENCIT BETINA YANG DIPAPAR DIET TINGGI KALORI**

**Eka Arum Cahyaning Putri
011914553003**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

**PENGARUH DIET TINGGI KALORI INTERMITEN DAN
LATIHAN KONTINU INTENSITAS SEDANG TERHADAP
DIAMETER KARDIOMIOSIT DAN EKSPRESI *BRAIN*
NATRIURETIC PEPTIDE (BNP) PADA OTOT JANTUNG
MENCIT BETINA YANG DIPAPAR DIET TINGGI KALORI**

TESIS

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

**Eka Arum Cahyaning Putri
011914553003**

**PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN OLAAHRAGA
JENJANG MAGISTER FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS UNTUK DIUJI
PADA TANGGAL, 3 Mei 2021

Oleh:
Pembimbing I



Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes
NIP. 197503142003122001

Pembimbing II



Dr. Yudi Her Oktaviano, dr., Sp.JP(K), M.M.
NIP. 196510081990011001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
Jenjang Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes.
NIP. 198008282006041002

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji pada
Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga Jenjang Magister
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Pada tanggal 3 Mei 2021

Panitia Penguji,

1. Prof. Dr. Widjiati, M.Si., drh.
2. Dr. Lilik Herawati, dr., M.Kes.
3. Dr. Yudi Her Oktaviano, dr., Sp.JP(K), M.M..
4. Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes.
5. Dr. Citrawati Dyah Kencono Wungu, dr., M.Si.

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya, peserta Program Magister:

Nama : Eka Arum Cahyaning Putri

NIM : 011914553003

Program Studi : Ilmu Kesehatan Olahraga

Judul : Pengaruh diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomyosit dan ekspresi *Brain Natriuretic Peptide* (BNP) pada otot jantung mencit betina yang dipapar diet tinggi kalori.

Menyatakan bahwa tesis saya adalah asli karya saya sendiri dan bukan hasil karya orang lain dengan mengatasnamakan saya. Tesis saya bukan merupakan peniruan atau penjiplakan dari karya orang lain. Pada tesis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan daftar kepustakaan. Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini maka saya bersedia menerima sanksi oleh pimpinan fakultas.

Surabaya, 3 Mei 2021



Eka Arum Cahyaning Putri

RINGKASAN

**PENGARUH DIET TINGGI KALORI INTERMITEN DAN LATIHAN
KONTINU INTENSITAS SEDANG TERHADAP DIAMETER
KARDIOMIOSIT DAN EKSPRESI BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (BNP)
PADA MENCIT BETINA YANG DIPAPAR DIET TINGGI KALORI**

Prevalensi obesitas adalah 8% pada tahun 2002 dan meningkat menjadi 11,5% pada tahun 2011 di Indonesia. Wanita (1,6%) lebih banyak terkena penyakit jantung dan gagal jantung dibanding pria (1,3%) di Indonesia. Hipertrofi jantung merupakan tanda adanya gagal jantung serta sebagai prediktor kuat penyakit kardiovaskular misalnya pada *Left Ventricular Hypertrophy* (LVT) yang sekaligus merupakan tahap penyakit lanjut. Hormon BNP berperan pada keseimbangan cairan tubuh dan disekresi oleh ventrikel jantung. Ekspresi BNP semakin mengalami peningkatan pada kelompok obesitas dibandingkan pada kelompok tikus berat badan normal. Latihan intensitas sedang menyebabkan pembesaran diameter kardiomiosit sebagai adaptasi dan homeostasis terhadap respon yang diterima. Diet tinggi kalori intermiten serta latihan kontinu intensitas sedang masing-masing mempunyai efek pada diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP pada otot jantung namun efek kombinasi keduanya belum diketahui sehingga perlu untuk dilakukan penelitian.

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan desain *randomize posttest only control group design*, dalam *true experiment*. Subjek penelitian $n=6$ pada masing-masing kelompok yaitu K1 (kelompok kontrol dengan diet tinggi kalori), K2 (kelompok perlakuan diet tinggi kalori intermiten), K3 (kelompok latihan kontinu intensitas sedang), K4 (kelompok perlakuan kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang). Variabel yang diukur adalah diameter kardiomiosit (μm) dan ekspresi BNP pada otot jantung, keduanya diperiksa dibawah mikroskop kemudian hasil diujikan dengan taraf bermaknasi 5% dan diolah dengan program SPSS.

Nilai rerata dan simpang baku diameter kardiomiosit (K1) dalam penelitian ini adalah $(27,94 \pm 5,65)$ dengan nilai minimal 19,07 dan maksimal 34,43. Rerata dan simpang baku diameter kardiomiosit (K2) dalam penelitian ini adalah $(20,99 \pm 11,80)$ dengan nilai minimal 10,09 dan maksimal 39,41. Rerata dan simpang baku diameter kardiomiosit (K3) dalam penelitian ini adalah $(25,08 \pm 9,14)$ dengan nilai minimal 16,80 dan maksimal 42,30. Rerata dan simpang baku diameter kardiomiosit (K4) dalam penelitian ini adalah $(24,52 \pm 5,90)$ dengan nilai minimal 14,50 dan maksimal 30,69. Pada hasil uji beda ANOVA diperoleh nilai P (P-value) = 0,578 sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter kardiomiosit keempat kelompok tidak berbeda secara bermakna.

Nilai rerata dan simpang baku ekspresi BNP (K1) dalam penelitian ini adalah $(6,00 \pm 1,50)$, dengan nilai minimal 4,20 dan maksimal 7,80. Rerata dan simpang baku ekspresi BNP (K2) dalam penelitian ini adalah $(4,67 \pm 1,00)$, dengan nilai minimal

3,10 dan maksimal 6,0. Rerata dan simpang baku ekspresi BNP (K3) dalam penelitian ini ($5,42 \pm 2,09$), dengan nilai minimal 2,40 dan maksimal 7,50. Rerata dan simpang baku ekspresi BNP (K4) dalam penelitian ini adalah ($6,27 \pm 1,54$), dengan nilai minimal 4,40 dan maksimal 8,40. Pada hasil uji beda ANOVA diperoleh nilai P (P-value) = 0,335 sehingga dapat disimpulkan bahwa rata-rata ekspresi BNP keempat kelompok tidak berbeda secara bermakna.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka tidak ada pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP pada otot jantung mencit betina yang dipapar diet tinggi kalori. Meski tidak berbeda secara bermakna namun kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang mampu menekan pelebaran diameter kardiomiosit melalui jalur penekanan adipositas tubuh. Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh faktor jaringan adiposit subjek yang tidak diukur pada penelitian ini. Sedangkan pada variabel ekspresi BNP otot jantung, kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang meningkatkan ekspresi BNP melalui jalur stres metabolik ventrikel kiri sehingga menyebabkan fungsi diastolik ventrikel kiri terganggu. Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh faktor disfungsi jantung yang tidak diukur pada penelitian ini.

**THE EFFECT OF INTERMITTENT HIGH-CALORIE DIET AND
MODERATE INTENSITY CONTINUE TRAINING ON CARDIOMIOCYTE
DIAMETER AND BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (BNP) EXPRESSION IN
FEMALE MICE EXPOSED TO HIGH-CALORIE DIET**

The prevalence of obesity was 8% in 2002 and increased to 11.5% in 2011 in Indonesia. Women (1.6%) have more heart disease and heart failure than men (1.3%) in Indonesia. Cardiac hypertrophy is a sign of heart failure as well as a strong predictor of cardiovascular disease, for example in Left Ventricular Hypertrophy (LVT) which is also an advanced stage of disease. The hormone BNP plays a role in the balance of body fluids and is secreted by the ventricles of the heart. The expression of BNP increased more in the obese group than in the normal weight group of rats. Moderate intensity exercise causes an enlargement of the cardiomyocyte diameter as an adaptation and homeostasis to the response received. The intermittent high-calorie diet and moderate intensity continuous exercise each have an effect on cardiomyocyte diameter and BNP expression in heart muscle, but the combined effect of the two is not yet known so it is necessary to conduct research.

This research is a laboratory experimental study using a randomized posttest only control group design, in a true experiment. The research subjects were $n = 6$ in each group namely K1 (control group with high calorie diet), K2 (intermittent high calorie diet treatment group), K3 (moderate intensity continuous exercise group), K4 (treatment group combination of intermittent high calorie diet and intermittent high calorie diet, moderate intensity continuous exercise). The variables measured were the diameter of the cardiomyocytes (μm) and the expression of BNP in the heart muscle, both were examined under a microscope, then the results were tested with a significance expression of 5% and processed with the SPSS program.

The mean and standard deviation values of cardiomyocyte diameter (K1) in this study were (27.94 ± 5.65) with a minimum value of 19.07 and a maximum of 34.43. The mean and standard deviation of cardiomyocyte diameter (K2) in this study were (20.99 ± 11.80) with a minimum value of 10.09 and a maximum of 39.41. The mean and standard deviation of cardiomyocyte diameter (K3) in this study were (25.08 ± 9.14) with a minimum value of 16.80 and a maximum of 42.30. The mean and standard deviation of cardiomyocyte diameter (K4) in this study were (24.52 ± 5.90) with a minimum value of 14.50 and a maximum of 30.69. In the ANOVA difference test results obtained P value (P-value) = 0.578 so it can be concluded that the average diameter of the cardiomyocytes of the four groups did not differ significantly.

The mean and standard deviation of the BNP expression (K1) in this study were (6.00 ± 1.50) , with a minimum value of 4.20 and a maximum of 7.80. The mean and standard deviation of the BNP expression (K2) in this study were (4.67 ± 1.00) , with a minimum value of 3.10 and a maximum of 6.0. The mean and standard deviation of BNP expression (K3) in this study (5.42 ± 2.09) , with a minimum value of 2.40 and a maximum of 7.50. The mean and standard deviation of BNP expression (K4) in this study were (6.27 ± 1.54) , with a minimum value of 4.40 and a maximum

of 8.40. In the ANOVA difference test results obtained P value (P-value) = 0.335 so it can be concluded that the average BNP expression of the four groups is not significantly different.

Based on the results of this study, there was no effect of the combination of a high-calorie intermittent diet and moderate-intensity continuous exercise on cardiomyocyte diameter and BNP expression in the heart muscle of female mice exposed to a high-calorie diet. Although not significantly different, the combination of an intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise was able to suppress the widening of the cardiomyocyte diameter through the body adiposity suppression pathway. The results that were not significantly different were probably due to the subject's adipocyte tissue factors that were not measured in this study. Whereas in the heart muscle BNP expression variable, the combination of an intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise increased BNP expression through the left ventricular metabolic stress pathway, causing impaired left ventricular diastolic function. The results that were not significantly different were probably due to cardiac dysfunction factors that were not measured in this study.

ABSTRAK

**PENGARUH DIET TINGGI KALORI INTERMITEN DAN LATIHAN
KONTINU INTENSITAS SEDANG TERHADAP DIAMETER
KARDIOMIOSIT DAN EKSPRESI BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (BNP)
PADA OTOT JANTUNG MENCIT BETINA YANG DIPAPAR DIET TINGGI
KALORI**

Pendahuluan: Prevalensi obesitas yang semakin meningkat dari tahun ke tahun menjadi faktor risiko hipertrofi jantung, lebih banyak ditemui pada wanita. Hormon BNP yang disekresi oleh ventrikel jantung mengalami peningkatan pada kelompok obesitas dibandingkan pada kelompok berat badan normal. Latihan intensitas sedang menyebabkan pembesaran diameter kardiomiosit sebagai adaptasi dan homeostasis terhadap respon yang diterima.

Tujuan: Mengetahui efek kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang pada individu yang dipapar diet tinggi kalori.

Metode: Desain penelitian adalah *randomize posttest only control group design*, dalam *true experiment*. Subjek penelitian $n=6$ pada masing-masing kelompok yaitu kelompok kontrol dengan diet tinggi kalori (K1), kelompok diet tinggi kalori intermiten (K2), kelompok latihan kontinu intensitas sedang (K3), kelompok kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang (K4). Variabel tergantung adalah diameter kardiomiosit (μm) dengan pewarnaan *haematoxylin eosin* dan ekspresi BNP kardiomiosit dengan metode *immunohistochemistry*.

Hasil: Diameter kardiomiosit K1 ($27,94 \pm 5,65$), K2 ($20,99 \pm 11,80$), K3 ($25,08 \pm 9,14$), K4 ($24,52 \pm 5,90$) serta hasil uji ANOVA $p=0,578$. Sedangkan hasil ekspresi BNP K1 ($6,00 \pm 1,50$), K2 ($4,67 \pm 1,00$), K3 ($5,42 \pm 2,09$), K4 ($6,27 \pm 1,54$) serta hasil uji ANOVA $p=0,335$. Hasil penelitian menunjukkan tidak berbeda secara bermakna namun kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang mampu menekan pelebaran diameter kardiomiosit melalui jalur penekanan adipositas tubuh. Sedangkan pada kelompok kombinasi diduga peningkatan ekspresi BNP akibat stres metabolik ventrikel kiri sehingga fungsi diastolik ventrikel kiri terganggu.

Kesimpulan: Tidak ada pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP pada otot jantung.

Kata Kunci: Diet Tinggi Kalori Intermiten, Latihan Kontinu Intensitas Sedang, Diameter Kardiomiosit, Ekspresi BNP.

ABSTRACT

THE EFFECT OF INTERMITTENT HIGH-CALORIE DIET AND MODERATE INTENSITY CONTINUE TRAINING ON CARDIOMIOCYTE DIAMETER AND BRAIN NATRIURETIC PEPTIDE (BNP) EXPRESSION IN FEMALE MICE EXPOSED TO HIGH-CALORIE DIET

Introduction: The prevalence of obesity, which is increasing from year to year, is a risk factor for cardiac hypertrophy, which is more common in women. The hormone BNP, which is secreted by the cardiac ventricles, was increased in the obese group than in the normal weight group. Moderate intensity exercise causes an enlargement of the cardiomyocyte diameter as an adaptation and homeostasis to the response received.

Objective: To determine the effect of the combination of an intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise on individuals exposed to a high calorie diet.

Methods: The study design was a randomize posttest only control group design, in a true experiment. The research subjects were $n = 6$ in each group, namely the control group with the high calorie diet (K1), the intermittent high calorie diet group (K2), the moderate intensity continuous exercise group (K3), the combination group of intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise. (K4). The dependent variable was cardiomyocyte diameter (μm) with haematoxylyn eosin staining and cardiomyocyte BNP expression by immunohistochemistry method.

Results: Cardiomyocyte diameter K1 (27.94 ± 5.65), K2 (20.99 ± 11.80), K3 (25.08 ± 9.14), K4 (24.52 ± 5.90) and test results. ANOVA $p = 0.578$. While the results of the BNP expression K1 (6.00 ± 1.50), K2 (4.67 ± 1.00), K3 (5.42 ± 2.09), K4 (6.27 ± 1.54) and the test results ANOVA $p = 0.335$. The results showed that there was no significant difference, but the combination of an intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise was able to suppress the widening of the cardiomyocyte diameter through the body adiposity suppression pathway. Whereas in the combination group it is suspected that the increase in BNP expression is due to left ventricular metabolic stress so that the left ventricular diastolic function is impaired.

Conclusion: There is no effect of combination of intermittent high calorie diet and moderate intensity continuous exercise on cardiomyocyte diameter and BNP expression in heart muscle.

Keywords: Intermittent High Calorie Diet, Moderate Intensity Continue Training, Cardiomyocyte Diameter, BNP Expression.

DAFTAR ISI

SAMPUL DALAM	i
TESIS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
RINGKASAN	viii
ABSTRACT	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xix
DAFTAR SINGKATAN	xx
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Praktis	4
1.4.2 Manfaat Teoritis	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Kardiovaskuler	5
2.2 Jantung dan Struktur Kardiomyosit	6
2.3 <i>Brain Natriuretic Peptide</i> (BNP)	10
2.4 Diet Tinggi Kalori	12

2.5 Sindrom Metabolik	14
2.6 Radikal Bebas dan ROS	16
2.7 Sistem Pertahanan Antioksidan dan Stres Oksidatif	18
2.8 Latihan Fisik.....	19
2.8.1 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Kardiovaskuler	25
2.8.2 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Kardiomyosit	27
2.8.3 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Ekspresi BNP	27
2.9 Karakteristik Jantung Mencit	28
BAB III.....	29
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	29
3.1 Kerangka Konseptual.....	29
3.2 Narasi Kerangka Konseptual.....	30
3.3 Hipotesis Penelitian	32
BAB IV	33
METODE PENELITIAN.....	33
4.1 Rancangan Penelitian	33
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian.....	34
4.2.1 Populasi.....	34
4.2.2 Sampel.....	34
4.2.3 Besar Sampel	34
4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel	35
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	35
4.3.1 Variabel Penelitian.....	35
4.3.2 Definisi Operasional.....	35
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	37
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
4.6 Pengumpulan Data.....	38
4.7 Kerangka Operasional Penelitian	40
4.8 Analisis Data.....	41
4.9 <i>Ethical Clearance</i>	41

BAB 5	43
ANALISIS HASIL PENELITIAN	43
5.1 Hasil Statistik Deskriptif	43
5.1.1 Berat Badan Hewan Coba	43
5.1.2 Variabel Diameter Kardiomyosit	45
5.1.3 Variabel Ekspresi BNP	46
5.2 Hasil Uji Beda	47
BAB 6	49
PEMBAHASAN	49
6.1 Pengaruh Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Diameter Kardiomyosit	49
6.2 Pengaruh Latihan Kontinu Intensitas Sedang terhadap Diameter Kardiomyosit	51
6.3 Pengaruh Kombinasi Latihan Kontinu Intensitas Sedang dan Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Diameter Kardiomyosit	53
6.4 Pengaruh Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Ekspresi BNP Kardiomyosit	55
6.5 Pengaruh Latihan Kontinu Intensitas Sedang terhadap Ekspresi BNP Kardiomyosit	57
6.6 Pengaruh Kombinasi Latihan Kontinu Intensitas Sedang dan Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Ekspresi BNP Kardiomyosit	59
BAB 7	61
PENUTUP	61
7.1 Kesimpulan	61
7.2 Saran	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN	68

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Intensitas Aktivitas Fisik Berdasarkan Energi Predominan.....	20
Tabel 2.2 Intensitas Aktivitas Fisik untuk Kecepatan dan Kekuatan.....	21
Tabel 4.1 Definisi Operasional	35
Tabel 4.2 Jadwal Pelaksanaan Diet Tinggi Kalori,Latihan Kontinu dan Diet Tinggi Kalori Intermiten	39
Tabel 5.1 Nilai Rerata dan SD Berat Badan.....	44
Tabel 5.2 Nilai Rerata dan SD Diameter Kardiomiosit.....	45
Tabel 5.3 Nilai Rerata dan SD Ekspresi BNP.....	46
Tabel 5.4 Hasil Uji Beda.....	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi Jantung dan Pembuluh Darah.....	9
Gambar 2.2 Pembentukan NT-proBNP dan BNP.....	11
Gambar 2.3 Sindrom Metabolik.....	16
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	29
Gambar 4.1 Rancangan Penelitian.....	33
Gambar 4.2 Kerangka Operasional Penelitian.....	40
Gambar 5.1 Diagram Deskriptif Rerata dan SD Berat Badan.....	44
Gambar 5.2 Diagram Deskriptif Rerata dan SD Diameter Kardiomyosit.....	45
Gambar 5.3 Hasil Pengukuran Diameter pada otot jantung.....	46
Gambar 5.4 Diagram Deskriptif Rerata dan SD Ekspresi BNP.....	47
Gambar 5.5 Hasil Pengukuran Ekspresi BNP pada otot jantung.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Surat Keterangan Layak Etik.....	68
Lampiran 2 Analisis Struktur Kardiomyosit.....	69
Lampiran 3. Prosedur Pengambilan Sampel Organ Jantung.....	69
Lampiran 4. Analisis Ekspresi BNP dengan <i>Immunohistochemistry</i>	70
Lampiran 5 Analisis Hasil Penelitian.....	72

DAFTAR SINGKATAN

ATP : *Adenosin Tri Phosphate*
A-V : *Atrioventrikular*
BNP : *Brain Natriuretic Peptide*
cGMP : *cyclic-Guanosine Monophosphate*
CNS : *Central Nervous System*
D40 : *Dextrose40*
DNA : *Deoxyribosa Nucleic Acid*
GPX : *Glutathione Peroxidase*
H₂O₂ : *Hidrogen Peroxide*
IL-6 : *Interleukine-6*
IMT : *Indeks Massa Tubuh*
LA : *Lactid Acid*
LVT : *Left Ventricular Hypertrophy*
MCP-1 : *Monocyte Chemoattractant Protein-1*
MEK-5 : *Mitogen-Activated Protein Kinase-5*
mtDNA : *Deoxyribosa Nucleic Acid-mitochondria*
NADPH : *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate*
NO : *Nitric Oxyde*
NT-proBNP : *N-Terminal pro-Brain Natriuretic Peptide*
PAI-1 : *Plasminogen Aktivator Inhibitor-1*
PBS : *Phosphate Buffered Saline*
PJK : *Penyakit Jantung Koroner*
p-STAT-3 : *phospho-Signal Transducer and Activator of Transcription-3*
ROS : *Reactive Oxygen Species*
S-A : *Sinoatrium*
SOD : *Superoxide Dismutase*
STAT-3 : *Signal Transducer and Activator of Transcription-3*
WHO : *World Health Organization*

BAB I
PENDAHULUAN

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi obesitas adalah 8% pada tahun 2002 dan meningkat menjadi 11,5% pada tahun 2011 di Indonesia (Rachmi *et al.*, 2017). Hasil Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menyatakan bahwa masyarakat yang berusia di atas 18 tahun sebanyak 13,6% mengalami *overweight* dan 21,8% mengalami *obese* (Kemenkes RI, 2018). Prevalensi *obese* dan *overweight* lebih tinggi pada wanita (15,1%) daripada pria (11,1%) di dunia (WHO, 2016).

Wanita (1,6%) lebih banyak terkena penyakit jantung dan gagal jantung dibanding pria (1,3%) di Indonesia (Kemenkes RI, 2018). Sejumlah 6.638 wanita yang terdiagnosa Penyakit Jantung Koroner (PJK) di dunia memiliki Indeks Massa Tubuh (IMT) normal (27,6%), *overweight* (35,72%), *obese* (31,21%), dan *extreme obese* (5,47%) (McTigue *et al.*, 2006). *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa sejumlah 17,9 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskuler pada tahun 2016 dan mewakili 31% dari seluruh kematian di dunia (WHO, 2017).

Faktor-faktor yang mempengaruhi terjadinya penyakit kardiovaskuler adalah hipertensi, dislipidemia, dan disfungsi endotel (Kit *et al.*, 2015), serta faktor risiko penyakit metabolisme yaitu resistensi insulin dan hiperglikemia (De Jesus, 2011). Gaya hidup meliputi diet buruk, aktivitas fisik kurang, dan merokok dapat

meningkatkan prevalensi hipertensi, hiperglikemia, hiperlipidemia, dan obesitas sehingga memicu penyakit kardiovaskuler (WHO, 2017).

Hipertrofi jantung merupakan tanda adanya gagal jantung serta sebagai prediktor kuat penyakit kardiovaskular. Ventrikel juga lebih sering menjadi hipertrofi daripada atrium, misalnya pada *Left Ventricular Hypertrophy* (LVT) yang sekaligus merupakan tahap penyakit lanjut (Karason *et al.*, 2003). Perubahan secara histologi struktur kardiomyosit kelompok obesitas yaitu adanya peningkatan interstitial fibrosis dibandingkan pada kelompok berat badan normal pada tikus (Chen *et al.*, 2014).

Pada konsentrasi fisiologis, BNP adalah neurohormon yang berperan pada keseimbangan cairan tubuh dan tonus vaskuler terutama disekresi oleh ventrikel jantung (Tsutamoto and Horie, 2004). Ekspresi BNP semakin mengalami peningkatan pada kelompok obesitas dibandingkan pada kelompok tikus berat badan normal (Chen *et al.*, 2014).

Latihan fisik renang intensitas sedang yang dilakukan 20 menit dan 3 kali dalam seminggu dapat menyebabkan pembesaran diameter serat otot jantung sebagai adaptasi dan homeostasis terhadap respon yang diterima (Darsana *et al.*, 2019). Latihan fisik terbukti menurunkan BNP dan *N-Terminal pro Brain Natriuretic Peptide* (NT-proBNP) secara bermakna (Smart and Steele, 2010) akibat respon neurohormonal saat fase istirahat (Passino *et al.*, 2006).

Efek latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP telah diketahui namun efek kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang pada individu yang dipapar diet tinggi kalori belum diketahui sehingga perlu untuk dilakukan penelitian.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ada pengaruh diet tinggi kalori intermiten terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit?
2. Apakah ada pengaruh latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit?
3. Apakah ada pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit mencit betina yang dipapar diet tinggi kalori.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan pengaruh diet tinggi kalori intermiten terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
2. Membuktikan pengaruh latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
3. Membuktikan pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Praktis

Dari segi keilmuan dapat menambah referensi mengenai pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap variabel diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP pada otot jantung mencit betina yang dipapar diet tinggi kalori.

1.4.2 Manfaat Teoritis

Dapat menambah pengetahuan tentang kegunaan pengaturan frekuensi diet tinggi kalori dan latihan fisik dalam menghambat kejadian hipertrofi jantung melalui pemeriksaan diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP kardiomyosit.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Kardiovaskuler

Prevalensi penyakit kardiovaskuler di Indonesia pada tahun 2018 adalah sebesar 1,5%. Dari seluruh kematian akibat penyakit kardiovaskuler, sebanyak 7,4 juta orang (42,3%) disebabkan oleh PJK dan 6,7 juta orang (38,3%) disebabkan oleh penyakit stroke (Kemenkes RI, 2018). Remaja obesitas memiliki risiko lebih tinggi terjangkit kesehatan buruk dibandingkan remaja tidak obesitas, termasuk risiko terjangkit penyakit kardiovaskular.

Penyakit kardiovaskuler meliputi aterosklerosis, kardiomiopati, dan hipertrofi jantung. Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab kematian tertinggi di dunia. Stres oksidatif mempunyai hubungan dengan peningkatan kerusakan *Deoxyribosa Nucleic Acid-mitochondria* (mtDNA) pada pasien dengan penyakit kardiovaskuler. Penghasil ROS pada jantung adalah miosit, sel endotel dan neutrofil. Peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) menyebabkan jejas seluler dan penurunan kapasitas antioksidan yang berakibat pada gangguan fungsi mitokondria dan kerusakan mtDNA, disfungsi endotel, dan perubahan ekspresi gen. Penurunan kapasitas oksidatif mitokondria menyebabkan gangguan fungsi jantung. Produksi ROS berlebihan secara langsung dapat mengganggu kinerja otot jantung. Penelitian terbaru menunjukkan peranan ROS, sitokin proinflamasi, perubahan biogenesis mitokondria,

kerusakan mtDNA, dan perubahan morfologi mitokondria mempunyai peranan dalam perjalanan penyakit jantung (Ardiaria, 2019).

2.2 Jantung dan Struktur Kardiomiosit

Jantung merupakan bagian dari sistem kardiovaskuler. Sistem ini penting karena memompa darah ke seluruh tubuh (sirkulasi sistemik) dan antara jantung dengan paru-paru (sirkulasi pulmonal). Jantung juga mendistribusikan oksigen, zat besi, hormon, dan sel-sel imun ke seluruh tubuh; membuang karbon dioksida dan sampah metabolisme; meregulasi suhu. Di seluruh tubuh, dinding jantung dan pembuluh darah yang menyusun sistem kardiovaskuler mengandung tiga lapisan:

1. Tunika intima: lapisan terdalam yang berisi sel-sel indotel pipih yang ditunjang oleh membran basal dan jaringan kolagen yang rapi;
2. Tunika media: lapisan otot intermedia;
3. Tunika adventisia: lapisan jaringan penunjang terluar (kadang-kadang disebut tunika eksterna).

Ketiga lapisan jantung (Tunika intima, Tunika media, dan Tunika eksterna) masing-masing secara berturut-turut disebut endokardium, miokardium, dan epikardium.

Endokardium terdiri dari epitel gepeng (endotelium) yang melapisi endokardium dan lapisan ikat di bawahnya serta lapisan tengah berisi sel otot polos. Lapisan jaringan penyambung terdalam disebut subendokardium. Lapisan ini mengandung sel-sel khusus untuk konduksi yaitu sel purkinje. Lapisan epitel yang

melapisi berkesinambungan dengan epitel yang melapisi semua pembuluh darah dalam sistem sirkulasi.

Serabut (sel) purkinje adalah serabut otot jantung yang dikhususkan untuk konduksi, serabut ini ditemukan dalam subendokardium ventrikel (lapisan jaringan ikat). Serabut purkinje berbeda dengan sel-sel jantung normal dalam beberapa hal berikut: serabut purkinje tidak mengandung banyak miofibril dan serabut ditemukan di bagian tepi (subendokardium) yang diperlihatkan disini oleh pemulasan yang kurang kuat dibandingkan dengan otot jantung. Serabut purkinje memiliki kadar glikogen yang lebih tinggi dibandingkan kardiomiosit; tidak terdapat diskus interkalaris antar-sel, namun terdapat desmosom dan *gap junction* dan menghubungkan serabut-serabut ini satu sama lain. Serabut purkinje lebih besar dibandingkan sel otot jantung dan tidak memiliki tubulus T.

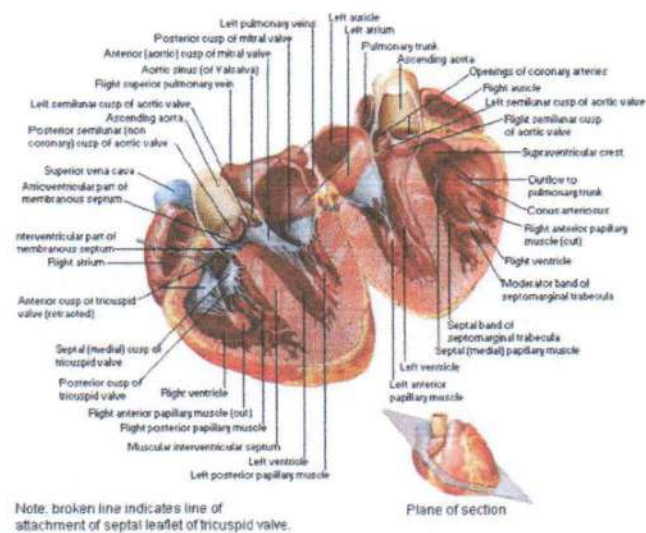
Jantung distimulasi untuk berkontraksi secara ritmis oleh impuls yang dihasilkan oleh nodus sinoatrium (S-A). Impuls dari nodus S-A dikonduksikan melalui jaras internodus menuju nodus atrioventrikular (A-V) kemudian ke ventrikel. Cabang kanan dan kiri serabut purkinje bertanggung jawab untuk menyebarkan impuls disekitar ventrikel. Lapisan 'di bagian tengah' jantung ini disebut miokardium. Miokardium mengandung sel otot jantung (kardiomiosit), pembuluh darah, fibroblas, dan sejumlah kecil jaringan ikat. Diskus interkalaris menghubungkan kardiomiosit satu sama lain. *Gap junction* pada diskus interkalaris berperan penting untuk komunikasi antar-kardiomiosit dan penyebaran konduksi listrik ke sekeliling jantung. Tampilan lurik kardiomiosit disebabkan oleh susunan teratur sarkomer otot dalam miofibril yang dikemas kedalam sel-sel ini.

Gambaran dan pembesaran kuat dari miokardium yang diambil dari pasien yang baru saja mengalami serangan jantung menunjukkan bagaimana kardiomyosit telah menjadi rusak. Jaringan disekitar kardiomyosit menjadi penuh akan sel darah putih (terutama neutrofil dan makrofag) yang keluar dari pembuluh darah dan menelan jaringan yang rusak.

Lapisan terluar jantung disebut epikardium. Epikardium terdiri dari selapis sel epitel yang pipih dan jaringan ikat dibawahnya. Lapisan epitel ini disebut mesotel karena lapisan ini menyelubungi rongga perikardium tertutup dan mengelilingi jantung. Mesotelium mensekresi cairan kedalam rongga perikardium yang melubrikasi gerakan epikardium pada perikardium. Epikardium berisi arteri, vena, vasa vasorum, jaringan ikat, dan saraf otonom yang mempersarafi miokardium. Vasa vasorum merupakan pembuluh darah kecil yang memasok jantung dan pembuluh darah yang lebih besar seperti aorta.

Otot jantung ditemukan di miokardium jantung dan bersifat involuter. Otot ini dipersarafi oleh aktivitas pacu jantung regular dari nodus sinoatrium. Otot jantung tersusun dari sel-sel fungsional yang hanya memiliki satu atau dua nukleus yang berlokasi di sentral. Sel-sel otot ini disebut kardiomyosit. Serupa dengan serabut otot skelet, kardiomyosit memiliki tampilan lurik (bergaris-garis) yang berasal dari susunan teratur filamen tipis yang mengandung aktin dan filamen tebal yang mengandung miosin pada sarkomer otot. Panjang sarkomer pada otot jantung saat istirahat (sekitar 2,2 mikrometer), sedikit lebih pendek dibandingkan dari panjangnya pada otot skelet.

Kardiomyosit jauh lebih kecil (panjangnya sekitar 80-100 mikrometer dan diameternya sekitar 15 mikrometer) dibandingkan serabut otot skelet. Diskus interkalaris menghubungkan kardiomyosit satu dengan lainnya. Struktur ini mengandung *tight junction* dan desmosom yang menghubungkan dengan erat sel-sel yang berdekatan sertagap *junction*. *Gap Junction* memasang kardiomyosit secara elektrik, memungkinkan menyebabkan kontraksi secara cepat ke sekeliling jantung. Penghubung struktural dan elektrik yang erat ini menghasilkan sinsitium fungsional. Meskipun tidak secara langsung distimulasi oleh saraf, sel-sel jantung distimulasi untuk berkontraksi oleh *influx* ion kalsium sebagai akibat dari depolarisasi tubulus T. Pelepasan kalsium berasal dari retikulum sarkoplasma dan ambilan kalsium berasal dari rongga ekstraselular.



Gambar 2.1 Anatomi Jantung dan Pembuluh Darah (Frank H. Netter, 1989)

Sel-sel otot jantung dapat mengalami hipertrofi atau hipotrofi sebagai akibat kebutuhan jantung yang berubah, namun sel-sel otot jantung telah berdiferensiasi akhir dan tidak dapat membelah. Jantung tidak mengandung sel-sel punca yang

serupa dengan sel-sel satelit otot skelet, oleh sebab itulah hanya memiliki kemampuan terbatas untuk beregenerasi saat mengalami kerusakan (Peckham, 2011).

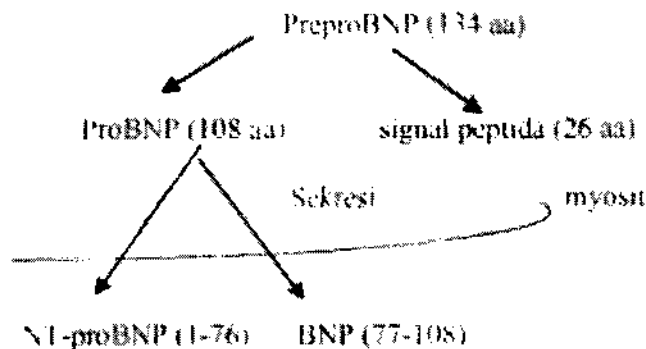
2.3 Brain Natriuretic Peptide (BNP)

Brain Natriuretic Peptide yang juga disebut *B-Type Natriuretic Peptide* adalah anggota famili hormon *natriuretic peptide*. BNP terdiri dari 32 asam amino. Pada konsentrasi fisiologis, neurohormon ini berperan pada keseimbangan cairan tubuh dan tonus vaskuler. Pada manusia, BNP terutama disekresi oleh jantung dan terbanyak dari ventrikel, baik pada orang sehat maupun pada pasien dengan gagal jantung kongestif. BNP menjadi satu-satunya *natriuretic peptide* yang spesifik untuk ventrikel, *precursor* BNP (pro-BNP) disimpan dalam granula sekresi dalam miosit ventrikel, setelah disintesa di ventrikel, pro-BNP dipotong sebagian oleh protease menjadi bentuk aktif dan *N-terminal pro BNP* (NT-pro BNP) yang terdiri dari 76 asam amino dan merupakan bentuk inaktif BNP. Dibanding BNP aktif, NT-pro BNP mempunyai waktu paruh yang lebih panjang dan tidak dipengaruhi oleh pemberian BNP dari luar seperti nesiritide (Tsutomoto and Horie, 2004).

Ekpresi gen dan sekresi BNP dari ventrikel terjadi lebih cepat dari pada ANP pada overload cairan akut, hal ini menunjukkan bahwa BNP berperan sebagai neurohormon emergensi, sehingga BNP dipertimbangkan lebih superior dibanding ANP sebagai marker diagnosis yang potensial pada gagal jantung akut. Pada orang sehat tanpa kelainan kardiovaskuler, expression BNP tergantung pada jenis kelamin dan umur, wanita mempunyai konsentrasi plasma yang lebih tinggi dibanding laki-

laki, tetapi expression BNP sama meningkatnya pada laki-laki dan wanita usia lanjut (Tsutamoto and Horie, 2004).

Brain Natriuretic Peptide berasal dari pre-proBNP, suatu 134 peptida asam amino yang kemudian mengalami degradasi menjadi pro-BNP (108 asam amino). Pro-BNP diregulasi pada tingkat gen dan tidak membentuk granul. Pro-BNP selanjutnya dipecah menjadi NT-proBNP (terdiri dari 1-76 asam amino) yang secara biologi merupakan bentuk yang tidak aktif. Keduanya dilepaskan dalam sirkulasi darah, dalam molaritas yang sama. Dibandingkan dengan BNP, NT-proBNP lebih besar dan memiliki waktu paruh yang lebih panjang (90 menit). NT-proBNP dalam sirkulasi memiliki kadar yang lebih tinggi dibandingkan BNP dan lebih mudah diukur. Secara invitro, stabilitas NT-proBNP lebih baik dibanding BNP. Bentuk BNP aktif, terdiri dari 32 asam amino dengan 17 cincin asam amino tertutup oleh ikatan disulfida diantara dua *cystein* (Tsutamoto and Horie, 2004).



Gambar 2.2 Pembentukan NT-proBNP dan BNP (Tsutamoto and Horie, 2004)

Brain Natriuretic Peptide mempunyai peran penting pada gagal jantung kongestif sebagai konterregulasi hormon terhadap angiotensin-II, *norephinephrin*, dan endotelin, oleh karena BNP menurunkan sintesa dari beberapa neurohormon

tersebut dan bekerja sebagai *balance* vasodilator. Selanjutnya sebagai hasil pengaruh hemodinamikya dan kerja langsung pada tubulus, BNP mempunyai pengaruh natriuresis dan diuresis. Pada vaskuler perifer, BNP menurunkan tonus simpatis dengan mengurangi baroreseptor, dengan menekan pelepasan katekolamin dari saraf autonom, dan dengan menekan keluarnya simpatis dari *Central Nervous System* (CNS). BNP menurunkan aktivasi nilai ambang vagal aferen, menekan reflek takikardi dan vasokonstriksi yang disertai menurunnya *preload* jantung dan menjamin tahanan beban menurun pada tekanan arteri rata-rata (Tsutamoto and Horie, 2004).

Brain Natriuretic Peptide merangsang dilatasi arteriol afferen ginjal dan konstriksi arteriol efferen, hal ini meningkatkan tekanan dalam kapiler glomerulus dan menyebabkan peningkatan filtrasi glomerulus. BNP juga meningkatkan akumulasi *cyclic-Guanosine Monophosphate* (cGMP) pada sel mesangial, yang mana menyebabkan relaksasi sel mesangial dan selanjutnya meningkatkan area permukaan efektif untuk filtrasi. BNP menghambat transport sodium pada duktus koledokus, menurunkan sekresi renin dari macula densa, menghambat pelepasan aldosteron dan menghambat transport air dengan kerja antagonisnya terhadap vasopresin (Tsutamoto and Horie, 2004).

2.4 Diet Tinggi Kalori

Makanan siap saji atau *junk food* adalah makanan tinggi kalori-rendah zat gizi. Terdapat hubungan yang positif antara frekuensi konsumsi makanan berkalori

tinggi dengan *overweight* dan obesitas (Garcia-Continente, *et al.*, 2014; Mistry and Puthussery, 2015). Suatu penelitian telah membuktikan bahwa peningkatan konsumsi makanan siap saji berhubungan dengan obesitas dan penyakit kronis pada anak-anak maupun remaja (Payab, *et al.*, 2015).

Diet yang tidak sehat mempengaruhi beragam faktor risiko kardiometabolik, termasuk tidak hanya obesitas dan LDL, tetapi juga tekanan darah, homeostasis glukosa-insulin, konsentrasi dan fungsi lipoprotein, stres oksidatif, peradangan, struktur endotel, fungsi hati, metabolisme adiposit, fungsi jantung, pengeluaran metabolisme, perubahan berat badan, dan lemak viseral (Mozaffarian, 2016). Peningkatan prevalensi obesitas di negara barat disebabkan oleh besarnya konsumsi karbohidrat, gula, dan lemak jenuh (Payab, *et al.*, 2015). Pada orang stunting, konsumsi makanan tinggi kalori-rendah zat gizi akan semakin memicu terjadinya obesitas karena adanya gangguan proses oksidasi lemak (Paulo *et al.*, 2000). Kelebihan kalori yang melebihi takaran, maka tubuh akan mengubah dan menyimpan nutrien energi ini sebagai trigliserida dalam jaringan adiposa. Kelebihan kalori ini dikonsumsi terus tanpa peningkatan pengeluaran energi maka akan disimpan dalam timbunan lemak dan berkembang menjadi obesitas (Wilborn *et al.*, 2005).

Karbohidrat yang masuk tubuh akan dipecah menjadi glukosa, selanjutnya glukosa akan mengalami glikolisis menjadi 2 piruvat, dimana masing-masing piruvat dioksidasi menjadi asetil KoA. Lemak akan dipecah menjadi asam lemak dan gliserol terjadi lipolisis menjadi asetil KoA. Protein dipecah menjadi asam amino melalui proses deaminasi maupun transaminasi menjadi asetil KoA. Asetil KoA yang

terbentuk selanjutnya menuju siklus krebs untuk menghasilkan energi (Guyton and Hall, 2016).

Apabila kebutuhan energi sudah mencukupi, asetil KoA dapat mengalami lipogenesis menjadi asam lemak dan selanjutnya dapat disimpan sebagai trigliserida di dalam jaringan adiposa. Asetil KoA merupakan prekursor dari kolesterol. Kenaikan jumlah prekursor dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah (Murray *et al.*, 2003). Diet tinggi kalori menyebabkan kehilangan daya ingat, sindrom metabolik, dan stres oksidatif pada tikus jenis *Rat* (Treviño *et al.*, 2015). Pada tikus jenis *Meriones shawi* yang diberi diet tinggi kalori menjadi obesitas, diabetes, resistensi insulin, dan hipertensi. Kejadian ini merupakan ciri khas sindrom metabolik dan hal tersebut dikaitkan dengan perubahan reaktivitas vaskular serta peningkatan pelepasan *Nitric Oxyde* (NO) (Iyousi *et al.*, 2018). Komponen makanan secara bermakna mempengaruhi fungsi endotelium. Diet tinggi kalori dalam jangka panjang, menyebabkan disfungsi endotel. Disfungsi endotel merupakan keadaan utama yang mencetus perkembangan sindrom metabolik dan konsekuensi patologisnya, termasuk aterosklerosis, diabetes, dan hipertensi (Wojtala *et al.*, 2017)

2.5 Sindrom Metabolik

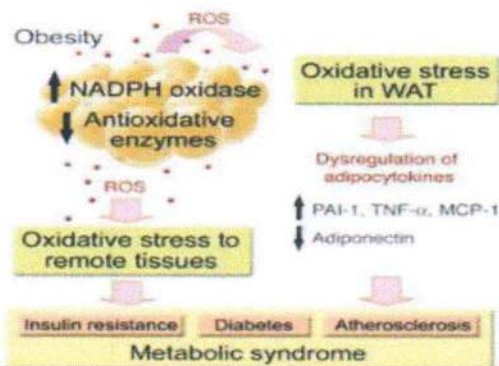
Mitokondria merupakan organel sitoplasmik yang berperan dalam menentukan hidup matinya sel. Fungsi utama mitokondria adalah produksi ATP dan melakukan berbagai proses seluler yang meliputi metabolisme energi, menghasilkan ROS dan homeostasis ion kalsium. Perubahan struktur dan fungsi mitokondria

dilaporkan terjadi pada proses penuaan, kanker, sindrom metabolik yang mencakup komponen stroke, iskemia, prediabetes, diabetes, obesitas, hipertensi, dislipidemia, penyakit jantung, dan neurodegeneratif. Studi menunjukkan bahwa ketidaknormalan mitokondria yang meliputi gangguan dinamika mitokondria, defek pada biogenesis mitokondria, disfungsi mitokondria, dan stres oksidatif secara primer terlibat dalam patogenesis sindrom metabolik (Ardiaria, 2019).

Obesitas adalah faktor penyebab utama dalam perkembangan sindrom metabolik. Peningkatan stres oksidatif pada lemak yang terakumulasi merupakan patogen yang penting dalam mekanisme sindrom metabolik yang terkait obesitas. Akumulasi lemak berkorelasi dengan stres oksidatif sistemik pada manusia dan tikus. Produksi ROS meningkat secara selektif di jaringan adiposa tikus obesitas, disertai dengan ekspresi *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate* (NADPH) oksidase dan penurunan ekspresi enzim antioksidan. Pada kultur jaringan adiposit, peningkatan kadar asam lemak juga dapat meningkatkan stres oksidatif melalui aktivasi NADPH oksidase dan stres oksidatif menyebabkan produksi *adipocytokine* (hormon yang diturunkan dari lemak) tidak teratur, termasuk adiponektin, *Plasminogen Aktivator Inhibitor-1* (PAI-1), *Interleukine-6* (IL-6), dan *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1) (Furukawa *et al.*, 2017).

Penelitian terhadap protein-protein di jantung yang berhubungan dengan terjadinya hipertrofi jantung diperiksa yaitu IL-6, *Signal Transducer and Activator of Transcription-3* (STAT-3), *phospho-Signal Transducer and Activator of Transcription-3* (p-STAT-3), *Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 5* (MEK5, ERK5, dan p-ERK5) menunjukkan peningkatan bermakna terhadap jantung tikus

obesitas dibandingkan dengan tikus normal. Temuan ini menunjukkan bahwa jalur IL-6-STAT3 dan IL-6-MEK5-ERK5 diaktifkan pada tikus obesitas dibandingkan dengan tikus normal sehingga memicu hipertrofi jantung (Chen *et al.*, 2014). Peningkatan stres oksidatif dalam akumulasi lemak adalah pencetus awal terjadinya sindrom metabolik dan bahwa keadaan redoks dalam jaringan adiposa adalah target terapi yang berpotensi dan berguna untuk obesitas terkait sindrom metabolik (Furukawa *et al.*, 2017).



Gambar 2.3 Sindrom Metabolik (Furukawa *et al.*, 2017)

2.6 Radikal Bebas dan ROS

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang mempunyai elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya dan dapat berdiri sendiri (Wikanta *et al.*, 2005). Sebagian besar radikal bebas bereaksi secara cepat dengan atom lain untuk mengisi orbital yang tidak berpasangan, sehingga radikal bebas dalam keadaan normal dapat berdiri sendiri namun hanya dalam periode waktu yang singkat sebelum akhirnya menyatu dengan atom lain (Halliwell and Whiteman, 2004).

Produksi radikal bebas didalam tubuh dapat memicu perubahan kimia dan kerusakan terhadap protein, lemak, dan karbohidrat. Bila radikal bebas didalam sel melebihi mekanisme normal akan menimbulkan gangguan metabolik dan seluler. Mekanisme kerusakan jaringan dan kerusakan sel akibat dari radikal bebas dapat diketahui dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di dalam membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang menjadi komponen penting penyusunan membran sel (Mulyono, 2011).

Simbol untuk radikal bebas adalah sebuah titik yang berada di dekat simbol atom (R^*). ROS atau senyawa reaktif oksigen adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif yang terdiri atas kelompok radikal bebas dan kelompok nonradikal. Kelompok radikal bebas antara lain *superoxide anion*, *hydroxyl radicals*, dan *peroxyl radicals*. Sedangkan kelompok yang nonradikal misalnya *hydrogen peroxide*, dan *organic peroxides* (Halliwell and Whiteman, 2004).

Senyawa oksigen reaktif ini dihasilkan dalam proses metabolisme oksidatif dalam tubuh misalnya pada proses oksidasi makanan menjadi energi. Bentuk radikal bebas yang lain adalah *hydroperoxyl*, *alkoxyl*, *carbonate*, *carbon dioxide*, *atomic chlorine*, dan *nitrogen dioxide* (Halliwell and Whiteman, 2004).

Nilai produksi dan pembersihan ROS berada dalam keadaan seimbang pada tubuh yang sehat. Bila ada penambahan oksidan eksogen seperti asap rokok, polusi udara, sinar ultraviolet, radiasi, obat seperti cisplatin dan aminoglikosida, atau asupan kalori yang berlebihan, maka keseimbangan ini akan bergeser ke arah pembentukan ROS yang lebih banyak (Nindl, 2004).

2.7 Sistem Pertahanan Antioksidan dan Stres Oksidatif

Radikal bebas yang diproduksi dalam jumlah yang normal, penting untuk fungsi biologis, seperti sel darah putih yang menghasilkan *hidrogen peroksida* (H_2O_2) untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan jamur serta pengaturan pertumbuhan sel, namun ia tidak menyerang sasaran spesifik, sehingga ia juga akan menyerang asam lemak tidak jenuh ganda dari membran sel, organel sel, atau DNA, sehingga dapat menyebabkan kerusakan struktur dan fungsi sel (Winarsi, 2007).

Namun tubuh dilengkapi oleh seperangkat sistem pertahanan untuk menangkal serangan radikal bebas atau oksidan sehingga dapat membatasi kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sistem pertahanan antioksidan ini antara lain adalah enzim *Superoxide Dismutase* (SOD) yang terdapat di mitokondria dan sitosol, *Glutathione Peroxidase* (GPX), *glutathione reductase*, dan *catalase* (Werdhasari, 2014). Selain itu terdapat juga sistem pertahanan atau antioksidan yang berupa mikronutrien yaitu β -karoten, vitamin C, dan vitamin E (Hariyatmi, 2004). Sistem pertahanan ini bekerja dengan beberapa cara antara lain berinteraksi langsung dengan radikal bebas, oksidan dan / atau oksigen tunggal, mencegah pembentukan ROS dan / atau mengubah senyawa reaktif menjadi kurang reaktif (Winarsi, 2007). Namun dalam keadaan tertentu, produksi radikal bebas atau ROS melebihi sistem pertahanan tubuh. Kondisi ini disebut sebagai stres oksidatif (Agarwal, *et al.*, 2005).

Pada kondisi stres oksidatif, keseimbangan normal antara produksi radikal bebas atau ROS dengan kemampuan antioksidan alami tubuh untuk mengeliminasi mengalami gangguan sehingga menggoyahkan rantai reduksi-oksidasi normal. Hal tersebut menyebabkan kerusakan oksidatif jaringan. Kerusakan jaringan ini juga

tergantung pada beberapa faktor, antara lain: target molekuler, tingkat stres yang terjadi, mekanisme yang terlibat, waktu, dan sifat alami dari sistem yang diserang (Winarsi, 2007).

2.8 Latihan Fisik

Aktivitas fisik, latihan fisik dan program latihan fisik mempunyai pengertian yang berbeda. Aktivitas fisik adalah semua bentuk pergerakan tubuh akibat adanya kontraksi otot rangka (Robergs and Keteyian, 2003). Latihan fisik adalah suatu aktivitas yang dilakukan berulang-ulang secara sistematis dalam jangka panjang yang bersifat individual dan digunakan untuk meningkatkan sistem fisiologis serta mengekspresikan kebugaran tubuh (Purnomo, 2011). Program latihan fisik adalah serangkaian latihan yang dilakukan dengan tujuan meningkatkan kebugaran (Robergs, AR. and Keteyian, 2003).

Latihan fisik terdapat tiga jenis (Arthritis, 2011) yaitu :

- a) Latihan anaerobik. Terdiri dari dua macam latihan yaitu isometrik dan isotonik. Latihan isotonik menguatkan otot dengan mengikutsertakan pergerakan sendi. Sedangkan latihan isometrik menguatkan otot tanpa melibatkan pergerakan sendi. Beberapa contoh latihan anaerobik adalah latihan fungsional, lari cepat, dan latihan beban.
- b) Latihan aerobik. Latihan ini merupakan latihan yang menggerakkan otot-otot besar tubuh secara berirama dan terus menerus. Latihan aerobik berfungsi untuk menguatkan fungsi tubuh secara keseluruhan terutama fungsi pernapasan, jantung,

dan pembuluh darah serta otot dan tulang. Beberapa contoh latihan aerobik adalah berjalan, berlari, dan bersepeda.

c) Latihan fleksibilitas. Latihan ini biasa dilakukan sebelum dan sesudah latihan fisik sebagai metode pemanasan dan pendinginan. Latihan fleksibilitas disebut juga peregangan yang meningkatkan rentang gerak dari sendi dan otot. Peregangan membantu melindungi sendi dan otot dari trauma saat latihan fisik berlangsung dan sebagai metode relaksasi di akhir latihan (Arthritis, 2011).

Komponen (dosis) latihan fisik yaitu beban latihan fisik yang terukur dan terdiri dari intensitas, durasi, frekuensi, dan jenis latihan. Jenis latihan adalah karakteristik latihan berdasarkan intensitas, durasi, dan frekuensi. Di dalam olahraga baik renang, lari maupun sepeda, ketiga komponen tersebut penting dalam menerapkan prinsip pembebanan berlebih (Foss, M.L. and Keteyian, 2006).

Klasifikasi intensitas aktivitas berdasarkan energi dominan di bawah ini:

Tabel 2.1 Intensitas Aktivitas Fisik Berdasarkan Energi Predominan (Bompa, *et al.*, 2009)

No.	Waktu Kerja	Tingkat Intensitas	Sistem Energi	Ergogenesis (%)	
				Anaerob	Aerob
1.	1-15 detik	<i>Limits</i>	ATP-PC	100-95	0-5
2.	15-60 detik	Maksimal	ATP-PC-LA	90-80	10-20
3.	1-6 menit	Submaksimal	LA-O ₂	70-(40-30)	30-(60-70)
4.	6-30 menit	Menengah	O ₂	10-(40-30)	90-(60-70)
5.	>30 menit	Rendah	O ₂	5	95

Zona intensitas yang ketiga disebut zona submaksimal yang melibatkan aktivitas olahraga dengan jangka waktu 1-6 menit dengan dominan asam laktat dan oksigen, dengan ergogenesis berkisar antara 70% anaerob atau *Lactid Acid* (LA) dan 30% aerob. Ditinjau dari presentase penampilan maksimal berkisar 80%-90% dari kapasitas maksimal. Makin berat intensitas, maka energi yang digunakan anaerob

(LA) makin tinggi dan aerob (O_2) makin rendah disebut *strenuous submaximal intensity* (waktu pendek). Apabila intensitas makin ringan maka energi yang digunakan aerob (O_2) makin tinggi dan anaerob (LA) makin rendah disebut *prolong submaximal intensity* (waktu panjang) (Bompa, *et al.*, 2009).

Olahraga pada intensitas ini memerlukan kecepatan dan daya tahan yang prima untuk mencapai keberhasilan dalam olahraga misalnya cabang olahraga renang, mendayung untuk nomor 400 meter, lari cepat 800 meter atau lari 1500 meter. Di zona ini sangat kompleks ditinjau dari energi dominan. Pada menit awal aktivitas, energi dipenuhi dari proses aerob dan diakhiri aktivitas atlet yang akan meningkatkan kecepatannya, sehingga energi dipenuhi dari proses glikolisis yang anaerob, sehingga terjadi timbunan asam laktat. Atlet dituntut untuk mengatur iramanya dari permulaan sampai akhir aktivitas fisik (Bompa, *et al.*, 2009).

Tabel 2.2 Intensitas Aktivitas Fisik untuk Kecepatan dan Kekuatan (Foss, M.L. and Keteyian, 2006)

No.	Prosentase penampilan intensitas maksimal	Intensitas
1.	30-50%	Rendah (<i>Low</i>)
2.	50-70%	Sedang (<i>Moderate</i>)
3.	70-80%	Menengah (<i>Intermediate</i>)
4.	80-90%	Submaksimal (<i>Submaximum</i>)
5.	90-100%	Maksimal (<i>Maximum</i>)
6.	100-105%	Supermaksimal (<i>Supermaksimum</i>)

Prinsip latihan fisik adalah memberikan tekanan atau stresor pada tubuh secara teratur, sistematis, dan berkesinambungan sedemikian rupa sehingga meningkatkan kapasitas fungsional tubuh dalam melakukan kerja. Latihan fisik diawali dengan peregangan yang meliputi otot dan ligamen yang dilanjutkan dengan pemanasan, latihan inti dan pendinginan (*colling down*). Peregangan bertujuan untuk

menjaga kelentukan dan mencegah cedera, sedangkan pemanasan untuk mempersiapkan sirkulasi darah serta mengoptimalkan temperatur sehingga reaksi enzimatik berjalan dengan baik (Bompa, *et al.*, 2009).

Pengembangan kondisi fisik dari hasil latihan tergantung dari tipe beban latihan yang diberikan serta tergantung dari kekhususan latihan. Setiap individu memiliki kemampuan yang berbeda dan juga kekhususan cabang olahraga yang memiliki energi dominan berbeda pula. Prinsip-prinsip dasar latihan fisik yang dapat dijadikan pedoman dalam pelaksanaan suatu latihan fisik, antara lain:

1. Prinsip pemanasan dan pendinginan. Untuk melakukan latihan fisik secara baik harus diawali dengan pemanasan dan setelah latihan fisik diakhiri dengan pendinginan. Pemanasan dapat dikerjakan secara umum dan khusus dengan berbagai macam latihan.
2. Prinsip kekhususan. Prinsip ini menyangkut beberapa aspek yang perlu mendapat perhatian khusus seperti sistem energi yang digunakan, khusus terhadap kelompok otot yang dilatih, khusus terhadap pada gerak yang sesuai dengan keterampilan cabang olahraga yang dikembangkan.
3. Prinsip kontinu. Rangkaian latihan fisik tidak boleh mengabaikan prinsip kontinu yaitu adanya istirahat yang disisipkan pada waktu melakukan latihan fisik. Istirahat di antara latihan tersebut dapat berupa istirahat aktif atau pasif tergantung dari sistem energi yang dikembangkan. Istirahat di antara latihan sangat penting sebab bagian tubuh yang mendapat beban latihan sebelumnya harus dipulihkan lagi. Istirahat yang terlalu panjang atau terlalu pendek dapat menghambat efektivitas suatu latihan. Setiap

rangsangan gerak menyebabkan penggunaan energi dan pengurangan cadangan energi, akan tetapi juga mengandung rangsangan untuk pembentukkan energi lain.

4. Prinsip beban-lebih secara progresif. Setelah melakukan latihan fisik beberapa kali, tubuh akan memiliki daya adaptasi terhadap beban latihan. Jika beban latihan telah mencapai suatu kriteria tertentu, tubuh akan semakin terbiasa dengan beban tersebut dan apabila beban latihan berikutnya tidak dinaikkan, kemampuannya tidak akan bertambah. Beban latihan harus ditingkatkan sedikit demi sedikit untuk meningkatkan perkembangannya. Beban latihan harus bersifat individual. Peningkatan beban latihan atau intensitas latihan dilakukan dengan progresif, dengan cara mengubah salah satu komponen kontinu seperti, jarak diperpanjang (repetisi dan istirahat tetap) atau gerakan dipercepat atau repetisi ditambah atau istirahat di antara istirahat dipersingkat.

5. Prinsip latihan beraturan. Prinsip ini bertujuan agar beban latihan tertuju dan tersusun menurut kelompok otot-otot yang bekerja. Latihan dimulai dari otot besar menuju otot yang lebih kecil. Latihan pada kelompok otot besar memiliki keuntungan yaitu disamping tidak mudah lelah juga lebih mudah dalam pelaksanaan latihan apabila dibandingkan latihan pada kelompok otot kecil.

6. Prinsip perbedaan individu. Kemampuan masing-masing individu untuk mendapat rangsangan latihan adalah tidak sama, oleh sebab itu besar intensitas latihan juga harus ditetapkan secara individual (Foss, M.L. and Keteyian, 2006).

Latihan merupakan salah satu stresor fisik, sehingga latihan yang dilakukan harus sesuai dengan kemampuan tubuh. Secara fisiologis tujuan dari latihan adalah memberikan stres fisik pada tubuh yang dapat menghasilkan adanya perubahan

sistem tubuh (proses adaptasi). Latihan yang berlebihan atau melebihi kemampuan tubuh dapat menyebabkan terganggunya proses adaptasi selama latihan. Selain itu proses homeostasis dalam tubuh akan terganggu sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan serta meningkatnya radikal bebas. Setiap latihan yang dilakukan akan direspon oleh tubuh dan tubuh akan beradaptasi dengan respon yang diterima untuk menjaga homeostasis tubuh (Sugiharto, 2014).

Latihan kontinu (tanpa istirahat) adalah jenis latihan fisik yang melibatkan aktivitas tanpa istirahat. Jenis pelatihan ini bisa dengan intensitas tinggi, intensitas sedang dengan durasi diperpanjang, atau pelatihan *fartlek*. Latihan fisik berupa lari secara terus-menerus dapat digunakan untuk mengembangkan kapasitas aerobik yaitu untuk meningkatkan efisiensi hubungan antara penyerapan oksigen dan energi yang keluar (Syafuruddin, 2011).

Latihan kontinu adalah metode latihan dengan durasi panjang. Metode tersebut ditandai oleh intensitas beban yang relatif rendah dan volume beban yang besar. Latihan kontinu adalah latihan yang relatif mudah dilakukan dalam jangka waktu yang lama. Dalam latihan ini atlet hanya berlari secara terus-menerus untuk jangka waktu tertentu tanpa adanya istirahat. Hal tersebut memiliki tujuan untuk mempertahankan beban kerja yang sedang dilakukan dan memberi penekanan ke sistem energi aerobik. Hasil dari ini adalah atlet membangun sistem aerobik yang lebih baik sehingga daya tahan dan tingkat kebugaran stamina akan lebih baik (Rothig and Grossing, 2004). Metode latihan kontinu merupakan bentuk latihan yang dapat meningkatkan daya tahan aerobik secara bermakna (Zulbahri, 2018).

2.8.1 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Kardiovaskuler

Individu dengan tingkat aktivitas fisik yang tinggi memiliki prevalensi yang lebih rendah dan tingkat kematian yang lebih rendah terhadap kejadian penyakit kardiovaskuler. Latihan fisik telah dilakukan tidak hanya sebagai cara untuk mempertahankan gaya hidup sehat tapi juga sebagai resep nonfarmakologis yang penting dan aman untuk pencegahan dan pengobatan penyakit kardiovaskuler (Fletcher, *et al.*, 2011; Thompson, *et al.*, 2015).

Pengaruh aktivitas fisik terhadap stres oksidatif dibagi menjadi respon akut dan respon kronik (Candrawati, 2013). Pada respon akut, aktivitas fisik dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas sehingga meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh, sedangkan pada respon kronik aktivitas fisik secara teratur dapat meningkatkan kapasitas antioksidan endogen sehingga menurunkan stres oksidatif dalam tubuh (George, 2010; Candrawati, 2013). Untuk memperbaiki fungsi jantung, latihan fisik aerobik lebih baik daripada latihan fisik anaerobik (Flora, 2017).

Respon akibat latihan terus-menerus atau kontinu akan merangsang pusat otak dan apabila latihan terus dilakukan akan memberikan signal mekanisme umpan balik pada pusat kardiovaskuler di batang otak sehingga menimbulkan perubahan-perubahan perfusi otot dan peningkatan *cardiac output* untuk meningkatkan ambilan oksigen yang pada akhirnya meningkatkan darah di arteri. Setidaknya ada 3 mekanisme persarafan yang berpartisipasi dalam regulasi kardiovaskuler pada saat latihan yaitu: 1) *exercise pressor* dimana terjadi perubahan mekanikal dan metabolisme pada otot dan tendon ini akan memberi impuls ke medula untuk menstimulasi sistem kardiovaskuler; 2) *central command* adalah proses apakah akan

menstimulasi sistem kardiovaskuler dengan saraf simpatis atau saraf parasimpatis; 3) *arterial baroreflex* yang mengatur *heart rate* dan aliran darah pada daerah perifer (Kadir, 2011).

Perubahan fisiologis dalam tubuh yang dimaksud adalah: 1) peningkatan denyut nadi setelah latihan sebab kebutuhan penyediaan darah yang lebih banyak pada waktu latihan; 2) peningkatan *stroke volume* yaitu jumlah darah yang dipompakan oleh jantung dalam sekali denyutan. *Stroke volume* ini dipengaruhi oleh jumlah darah yang kembali ke jantung; 3) peningkatan *cardiac output*, dengan meningkatnya denyut nadi dan *stroke volume* maka *cardiac output* akan meningkat juga; 4) peningkatan *VO₂max*, saat beban kerja meningkat maka konsumsi oksigen juga akan meningkat dan pengambilan oksigen akan mencapai nilai maksimal (Wilmore, 2005). Peningkatan *VO₂max* pada latihan lari kontinu selama 3 kali seminggu dalam 4 minggu dapat meningkatkan *VO₂max* secara bermakna (Sutyantara *et al.*, 2014).

Latihan fisik intensitas sedang dapat meningkatkan fungsi vaskular sedangkan latihan fisik intensitas tinggi dapat menurunkan fungsi vaskular dengan meningkatkan ketebalan dan kekakuan dinding pembuluh darah serta dengan mendorong hipereaktivitas tunika media. Stres oksidatif kemungkinan memediasi efek ini sehingga sangat penting bagi individu yang terbiasa melakukan latihan intensitas tinggi untuk mengetahui efek peningkatan beban aterosklerotik dan risiko terjadi aterosklerosis (Rubies *et al.*, 2015).

2.8.2 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Kardiomiosit

Latihan fisik yang dilakukan secara teratur dengan memperhatikan jumlah frekuensi, intensitas dan durasi saat latihan dapat merangsang serat otot (miosit) jantung untuk beradaptasi (Wang, *et al.*, 2010). Adaptasi yang terjadi ditandai dengan adanya pembesaran pada diameter serat otot jantung (Medeiros, 2004) serta jumlah dari serat otot jantung menjadi bertambah (Waring, *et al.*, 2014).

Latihan fisik renang intensitas sedang secara teratur 3 kali seminggu durasi 20 menit selama 8 minggu memiliki pengaruh bermakna terhadap pembesaran diameter serat otot jantung. Hal ini disebabkan tubuh mengalami adaptasi dan homeostasis terhadap respon dari latihan yang diterima (Darsana, *et al.*, 2019). Latihan fisik aerobik dengan intensitas sedang yang dilakukan sekurang-kurangnya sekitar 30 menit selama minimal 5 hari dalam seminggu adalah salah satu cara yang dapat dilakukan sebagai upaya preventif pencegahan penyakit kardiovaskular (Golbidi and Laher, 2012).

2.8.3 Pengaruh Latihan Kontinu terhadap Ekspresi BNP

Latihan fisik menurunkan BNP dan NT-proBNP secara bermakna. Selain itu intensitas latihan dan pengeluaran energi olahraga minimum mingguan dapat menentukan besarnya dan tingkat perubahan dalam BNP dan bagian N-terminal BNP pada pasien gagal jantung (Smart and Steele, 2010). Penurunan ekspresi BNP berhubungan dengan latihan fisik dapat terjadi akibat respons neurohormonal saat fase istirahat (Passino *et al.*, 2006). Latihan fisik meningkatkan sensitivitas *baroreflex*

dan variabilitas detak jantung, serta mengurangi aliran simpatis, kadar plasma katekolamin, angiotensin-II, vasopresin, dan BNP saat istirahat (Gademan *et al.*, 2007).

2.9 Karakteristik Jantung Mencit

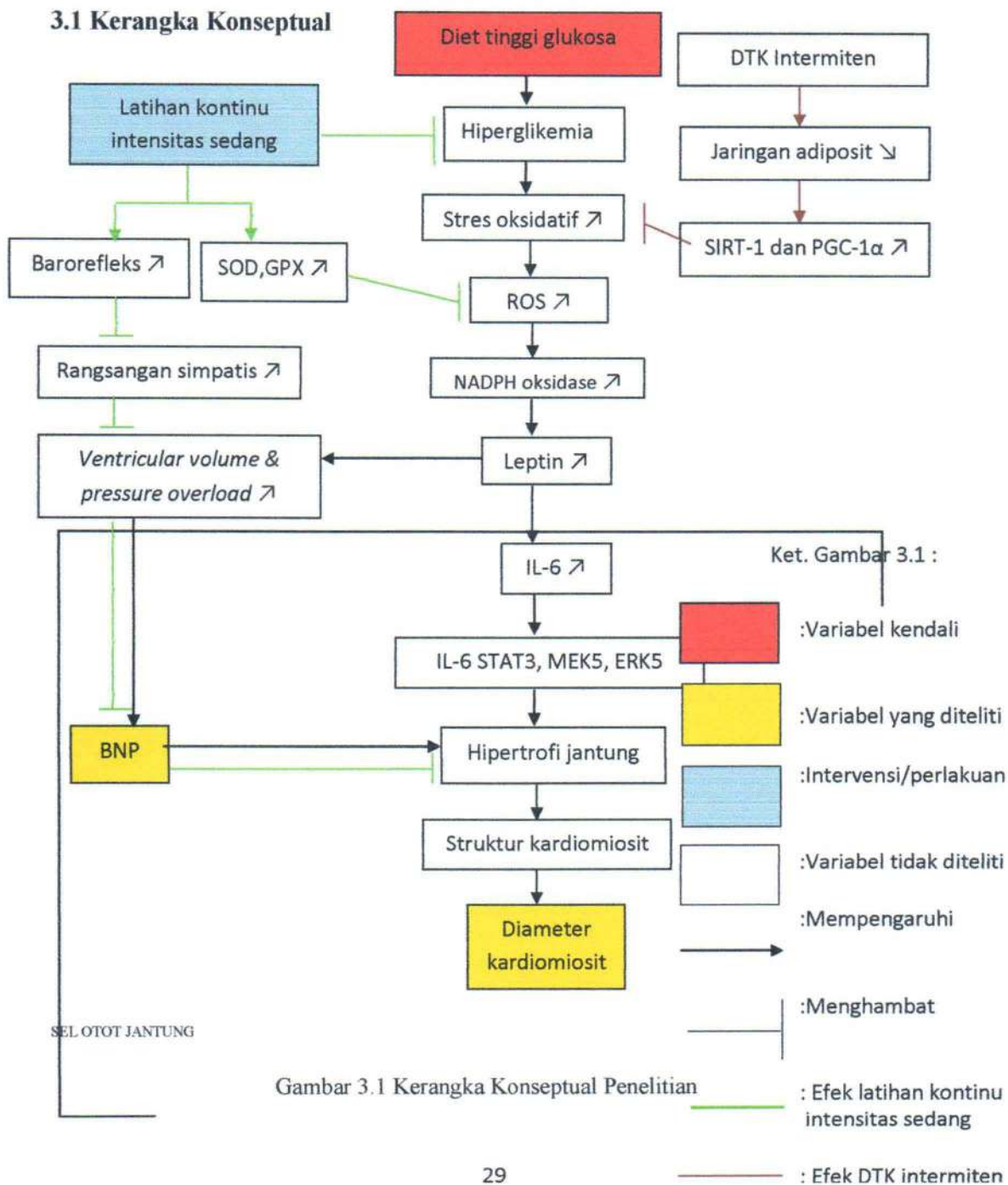
Berat relatif organ mencit melebihi berat relatif organ tikus dengan ekspresi yang lebih besar daripada limpa, diikuti oleh jantung dan organ lain seperti ginjal kanan dan kiri, hati dan usus besar dengan ekspresi lebih kecil. Arteri dan vena mengikuti percabangan bronkial, dinding vena paru mengandung otot jantung (lurik). Pada mencit, jantung memiliki empat ruang, dua atrium yang dipisahkan oleh septum interatrial dan dua ventrikel yang dipisahkan oleh septum interventrikular. Jantung terdiri dari miosit berserat di potongan transversal. Jantung didasari oleh miosit yang terspesialisasi dalam sistem konduksi (sel Purkinje). Vena paru bergabung dalam pertemuan yang masuk melalui foramen tunggal pada dinding dorsal atrium kiri. Keunggulan antara berat relatif jantung mencit dapat dihubungkan dengan pengaturan serat miokardium, dengan jumlah miokardiosit yang lebih besar diamati pada pemeriksaan histologi. Faktor penting lain yang dapat berkontribusi untuk hasil ini adalah detak jantung mencit saat istirahat (500 hingga 780 bpm) lebih tinggi daripada tikus (250 hingga 480 bpm) (Silva-Santana *et al.* 2019).

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL
DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian

3.2 Narasi Kerangka Konseptual

Asupan glukosa yang meningkat dapat menyebabkan perubahan parameter fisiologis yaitu peningkatan kadar glukosa darah atau disebut hiperglikemia. Dampak hiperglikemia berkelanjutan adalah peningkatan stres oksidatif di dalam tubuh. Stres oksidatif yang meningkat mengacu pada produksi ROS yang berlebihan dan menyebabkan akumulasi. Produksi ROS yang meningkat secara selektif di jaringan adiposa disertai dengan ekspresi NADPH oksidase yaitu enzim yang diekspresikan di jantung. Meningkatnya aktivasi NADPH oksidase juga meningkatkan produksi *adipocytokine*.

Adipocytokine adalah mediator bioaktif yang dilepaskan dari jaringan adiposa termasuk adiposit dan sel lain yang ada dalam jaringan lemak. *Adipocytokine* dalam kerangka konsep ini adalah leptin. Leptin yang meningkat atau disebut hiperleptinemia akan meningkatkan sitokin proinflamasi interleukin 6 melalui jalur IL-6 STAT3, MEK5, ERK5 menyebabkan hipertrofi jantung.

Hipertrofi jantung ditandai oleh adanya perubahan struktur kardiomiosit. Variabel yang diteliti terkait struktur kardiomiosit adalah diameter kardiomiosit. Kadar leptin berkorelasi erat dengan massa lemak dan menurun dengan penurunan berat badan. Saat terjadi hiperleptinemia akibat massa lemak yang meningkat maka beban ventrikel untuk memompa darah ke seluruh tubuh akan semakin meningkat. Hal tersebut ditandai dengan *ventricular volume and pressure overload* atau yang disebut stres ventrikel. Stres ventrikel tersebut menyebabkan peningkatan sekresi BNP di ventrikel jantung.

Brain Natriuretic Peptide adalah penanda adanya hipertrofi jantung dan gagal jantung sehingga variabel selanjutnya yang diteliti adalah ekspresi BNP kardiomyosit. Hipertrofi jantung telah diketahui dapat dihambat oleh intervensi latihan kontinu intensitas sedang. Latihan fisik (dalam hal ini yang dimaksud adalah latihan kontinu intensitas sedang) melalui peningkatan sensitivitas barorefleks dapat menghambat rangsangan simpatis menuju jantung sehingga menghambat stres ventrikel jantung dan neurohormon BNP akan ditekan sehingga menghambat terjadinya hipertrofi jantung. Latihan fisik juga dapat memicu produksi antioksidan endogen (SOD dan GPX) yang menghambat produksi ROS sehingga selanjutnya secara terus-menerus menghambat terjadinya hipertrofi jantung.

Latihan kontinu intensitas sedang dapat menghambat kadar glukosa darah yang meningkat akibat paparan diet tinggi kalori, juga selanjutnya dalam jangka waktu yang lama dapat menghambat terjadinya hipertrofi jantung melalui hambatan sitokin proinflamasi. Diet tinggi kalori intermiten dapat menurunkan jaringan adiposit tubuh kemudian melalui aktivitas SIRT-1 dan PGC-1 α menghambat stres oksidatif dan seterusnya menghambat hipertrofi jantung. Efek latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP telah diketahui namun efek kombinasi diet tinggi intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang pada individu yang dipapar diet tinggi kalori belum diketahui sehingga perlu untuk dilakukan penelitian ini.

3.3 Hipotesis Penelitian

1. Ada pengaruh diet tinggi kalori intermiten terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
2. Ada pengaruh latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
3. Ada pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.

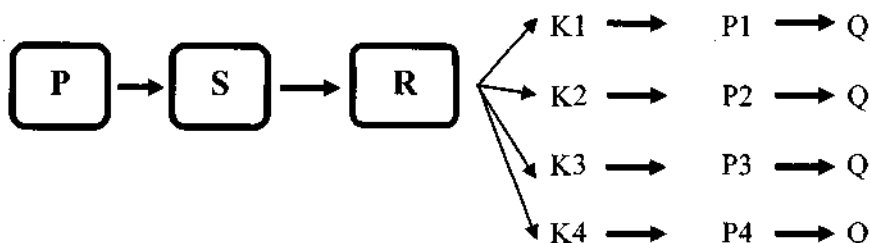
BAB IV
METODE PENELITIAN

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium. Rancangan penelitian ini menggunakan desain *randomize posttest onlycontrol group design*, yaitu terdapat kelompok eksperimen yang diberikan perlakuan dan kelompok kontrol tanpa perlakuan dan termasuk dalam *true experiment*. Secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian

Keterangan Gambar 4.1:

P : Populasi

S : Sampel penelitian

R : *Randomized* sampel.

K1 : Kelompok diet tinggi kalori

K2 : Kelompok diet tinggi kalori intermiten

K3 : Kelompok diet tinggi kalori dan latihan kontinu intensitas sedang

K4 : Kelompok diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang

P1 : Diet tinggi kalori

P2 : Diet tinggi kalori intermiten

P3 : Diet tinggi kalori dan latihan kontinu intensitas sedang

P4 : Diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang

Q : Pemeriksaan struktur kardiomyosit dan ekspresi BNP

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) strain Balb/c.

4.2.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) dengan kriteria sebagai berikut.

Kriteria Inklusi:

1. Jenis kelamin betina.
2. Berat badan $\pm 20-30$ gram.
3. Usia ± 8 minggu.

Kriteria Eksklusi:

1. Kelainan anatomi secara visual (cacat).
2. Sakit.

4.2.3 Besar Sampel

Dalam menentukan besar sampel dapat menggunakan rumus Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$, “t” adalah banyak kelompok perlakuan dan “n” adalah besar sampel tiap kelompok. Besar sampel (n) pada penelitian ini:

$$\begin{aligned}
 (t-1)(n-1) \geq 15 & \leftrightarrow (4-1)(n-1) \geq 15 \\
 & \leftrightarrow 3(n-1) \geq 15 \\
 & \leftrightarrow 3n-3 \geq 15 \\
 & \leftrightarrow 3n \geq 18
 \end{aligned}$$

$$\leftrightarrow n \geq 6$$

Berdasarkan hasil penghitungan sampel menggunakan rumus *Federer* didapatkan $n = 6$. Faktor risiko berupa kematian sampel ditentukan 20% sehingga didapatkan $6 + (20\% \times 6) = 6 + 1,2 = 7,2 \rightarrow 8$ sehingga total sampel dengan 4 kelompok penelitian sebesar 32.

4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel menggunakan *probability sampling* dengan jenis *simple random sampling*.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

Variabel-variabel dalam penelitian ini antara lain adalah sebagai berikut:

1. Variabel Bebas : Diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang.
2. Variabel Tergantung : Diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
3. Variabel Kendali : Jenis kelamin, berat badan dan usia, perawatan dan pemeliharaan mencit.

4.3.2 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Metode Pengukuran	Skala Data
Variabel Bebas				

1.	Diet tinggi kalori intermiten	Pengkondisian diet diberikan dengan pemberian <i>ad libitum</i> pakan mencit ditambah sonde larutan D40. Sonde diberikan dengan dosis 3-5% kalori (0,013 gram/BB) atau 0,0325 ml/gramBB (Herawati, 2018). Frekuensi pemberian diet tinggi kalori adalah 3x/minggu yaitu pada hari Selasa, Kamis dan Sabtu	Dilakukan atau tidak	Nominal
2.	Latihan kontinu intensitas sedang	Latihan berupa renang dengan beban 6% dari berat badan mencit yang diikatkan pada pangkal ekor (Prasetya <i>et al.</i> , 2018) dengan durasi 15 menit (Wen <i>et al.</i> , 2011) dilakukan selama 3 kali/minggu (Darsana <i>et al.</i> , 2019) pada hari Senin, Rabu, dan Jum'at pukul 15.00 WIB.	Dilakukan atau tidak	Nominal
Variabel Tergantung				
1.	Diameter kardiomyosit	Diawali dengan pembacaan slide yang berisi kardiomyosit menggunakan dengan <i>Olympus CX 21 LED</i> (mikroskop), kemudian diambil gambar dengan cara difoto menggunakan <i>Optilab Camera Viewer</i> dengan perbesaran (400x) pada 5 luas lapang pandang dan disimpan menggunakan format JPEG, lalu dianalisa (diukur dan	<i>Hematoxylin Eosin</i> (HE).	Rasio

		dihitung jumlah dan diameter kardiomyosit menggunakan aplikasi <i>Software Optilab Image Roaster</i> pada komputer serta diambil rerata di setiap kelompok (Darsana <i>et al.</i> , 2019).		
2.	Ekspresi BNP	Dianalisis dengan mengambil jaringan otot ventrikel kiri pada satu hari setelah perlakuan terakhir.	<i>Immunohistochemistry</i>	Rasio

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak untuk berenang mencit yaitu berdiameter 50cm dan tinggi 70 cm, *stopwatch*, timbangan berat badan mencit (gram), kandang mencit, makanan mencit jenis BR1, minuman mencit berupa air PDAM beserta botolnya, sekam/kulit padi sebagai alas kandang mencit, logam untuk pembebanan renang mencit, (klip dan isi *staples*), *sput* 1cc untuk sonde mencit, larutan asam pikrat 10% untuk penomoran mencit, tabung *Eppendorf* dan pot tabung untuk organ jantung, benang wol untuk mengikat beban latihan, *chloroform* untuk pembiusan pra pembedahan, parafin, *glyserin* 99,5%, *Phosphate Buffered Saline* (PBS), larutan HE, alat-alat pembedahan (talenan, pisau bedah scalpel, pinset, saringan, *tissue casset*, alat-alat pemroses jaringan (mesin *processor* otomatis, mesin *vaccum*, mesin *bloking*, *freezer* (-20°C), mesin beserta pisau *microtome*, *water bath* 46°C, kaca obyek beserta penutup, rak khusus untuk pewarnaan, oven 60°C, larutan *dextrose* 40 (D40) otsu.

4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di dua tempat yang berbeda, yaitu:

1. Kandang Hewan Coba dan Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sebagai tempat pemeliharaan, pembedahan hewan coba dan pengambilan sampel.
2. Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, sebagai tempat analisis diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP .
3. Penelitian dilaksanakan selama 4 minggu.

4.6 Pengumpulan Data

1. Melakukan aklimatisasi pada mencit selama seminggu di kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
2. Mencit ditimbang berat badannya sebagai berat badan awal sebelum perlakuan dan ditimbang setiap satu minggu untuk menentukan berat beban latihan masing-masing mencit.
3. Setelah aklimatisasi 7 hari, mencit kemudian dibagi menjadi 4 kelompok, kemudian dilakukan pengundian untuk memberikan kesempatan yang sama menjadi kelompok kontrol atau kelompok perlakuan.
4. Mencit beradaptasi dengan perlakuan renang di bak kolam berdiameter 50 cm dan tinggi 70 cm, serta suhu 25°C. Perlakuan renang diberikan 3 kali/minggu selama 4 minggu.

5. Pengkondisian diet diberikan *ad libitum* ditambah sonde larutan D40. Sonde diberikan dengan dosis 3-5% kalori (0,013 gram/BBatau 0,0325 ml/gramBB) (Herawati, 2018) setiap hari pada pukul 10.00 WIB.
6. Pembuatan beban latihan renang yaitu 6% dari berat badan mencit pada kelompok K3, dan K4. Beban diberikan 6% dari masing-masing mencit dan dikaitkan pada pangkal ekor mencit.
7. Latihan kontinu intensitas sedang yaitu perlakuan renang dengan beban 6% dari berat badan selama 15 menit pada kelompok K3 dan K4. Latihan dilakukan pada pukul 15.00 WIB setiap hari senin, rabu dan jumat selama 4 minggu.
8. Kelompok non latihan juga diberikan perlakuan dengan berendam tanpa beban sebanyak 3 kali/minggu di bak yang berisi air setinggi telapak kaki mencit.
9. Setelah pemberian perlakuan selama 4 minggu, dilakukan pembedahan dan pengambilan organ jantung.

Tabel 4.2 Jadwal pelaksanaan diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu

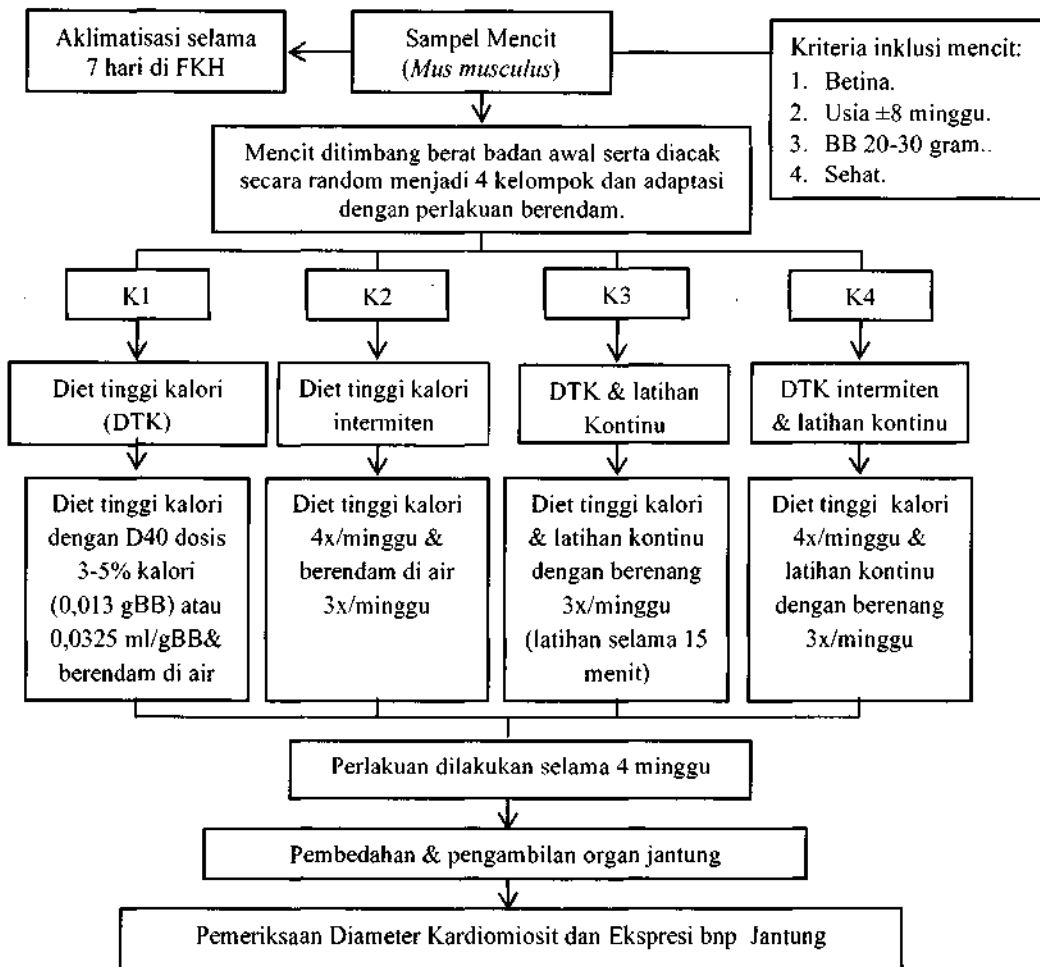
Perlakuan	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu	Minggu
Kontrol, Diet Tinggi Kalori (K1)	DTK	DTK	DTK	DTK	DTK	DTK	DTK
Diet Tinggi Kalori Intermiten (K2)	DTK	DTKI	DTK	DTKI	DTK	DTKI	DTK
Latihan kontinu (K3)	DTK+ LK	DTK	DTK+ LK	DTK	DTK+ LK	DTK	DTK
Kombinasi Diet Tinggi Kalori Intermiten dan Latihan kontinu (K4)	DTK+ LK	DTKI	DTK+ LK	DTKI	DTK+ LK	DTKI	DTK

*DTK : Pemberian Diet Tinggi Kalori

*DTKI : Pemberian Diet Tinggi Kalori Intermiten

*LK : Latihan Kontinu Intensitas Sedang

4.7 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.2 Kerangka operasional penelitian

4.8 Analisis Data

Setelah pengukuran dilakukan maka tahap selanjutnya yaitu menganalisis data hasil perlakuan hewan coba. Adapun analisis data yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Uji Statistik Deskriptif.
2. Uji Normalitas digunakan $\alpha=5\%$ atau 0,05 (taraf bermaknasi), dengan menggunakan Uji *Shapiro-wilk*.
3. Uji Homogenitas (*Levene's homogeneity-of-variance test*) dengan $\alpha=5\%$ atau 0,05 (taraf bermaknasi/kepercayaan).
4. Jika data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan Uji *Anova* dan jika data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan Uji *Kruskal-Wallis*.
5. Jika Uji *Anova* bermakna maka dilanjutkan LSD dan jika Uji *Kruskal-Wallis* bermakna maka dilanjutkan Uji *Mann-Whitney*.

4.9 Ethical Clearance

Penelitian dilakukan dengan memperhatikan kode etik penelitian yaitu:

1. *Replacement* yaitu perhitungan pemanfaatan hewan coba secara seksama baik dari pengalaman terdahulu maupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian.
2. *Reduction* yaitu pemakaian hewan coba sesedikit mungkin namun tetap memberikan hasil yang optimal.

3. *Refinement* yaitu memperlakukan hewan secara manusiawi, memelihara hewan dengan baik, tidak menyakiti hewan serta meminimalisasi perlakuan yang menyakitkan sehingga menjamin kesejahteraan hewan coba sampai akhir penelitian.

BAB V
HASIL PENELITIAN

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Jumlah sampel pada hewan coba tikus ditentukan dengan rumus Federer sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok. Empat kelompok tersebut adalah kelompok kontrol dengan pemberian diet tinggi kalori (K1), Kelompok K2 dengan pemberian diet tinggi kalori dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang, Kelompok K3 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten, serta Kelompok K4 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang.

Hasil penelitian meliputi berat badan hewan sebelum perlakuan, ekspresi BNP dan diameter kardiomiosit (μm). Pengukuran terhadap variabel ekspresi BNP dan diameter kardiomiosit (μm) dilakukan sebanyak 1 kali, yaitu setelah perlakuan. Tujuan penelitian ini untuk membuktikan pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP mencit betina yang dipapar diet tinggi kalori.

5.1 Hasil Statistik Deskriptif

5.1.1 Berat Badan Hewan Coba

Hasil analisis deskriptif berupa rerata dan simpang baku data berat badan hewan coba pada masing-masing kelompok K1, K2, K3 dan K4 dapat dilihat pada

tabel 5.1.

Tabel 5.1 Nilai Rerata dan SD Berat Badan (gram)

Variabel	Kelompok			
	K1 (n=6)	K2 (n=6)	K3 (n=6)	K4 (n=6)
Berat Badan (gram)	20,50±5,89	24,17±2,86	19,67±3,14	21,33±2,66

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa rerata BB menciit sebelum perlakuan terendah ada pada kelompok K3 (19,67±3,14) dan tertinggi pada kelompok K2 (24,17±2,86).



Gambar 5.1 Diagram Batang hasil analisis berat badan (gram) pada kelompok kontrol dengan pemberian diet tinggi kalori (K1), kelompok K2 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten, kelompok K3 pemberian diet tinggi kalori dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang, serta kelompok K4 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang.

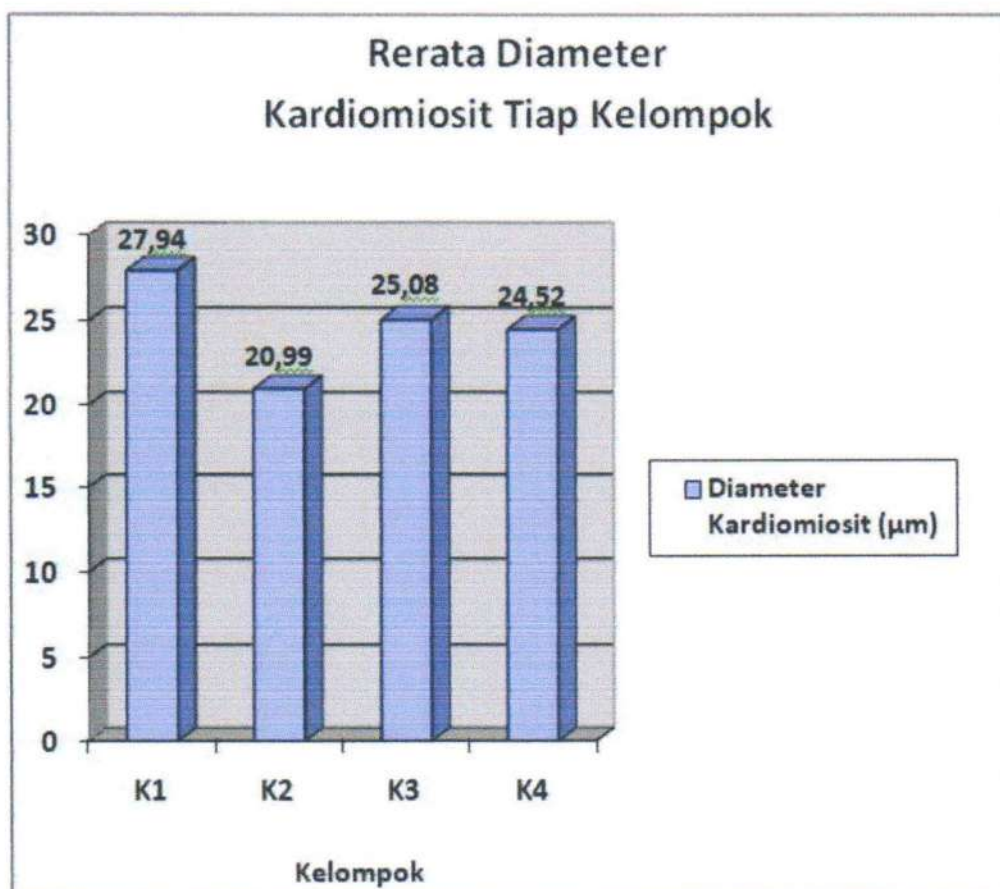
5.1.2 Variabel Diameter Kardiomiosit

Data deskriptif variabel diameter kardiomiosit subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 5.2.

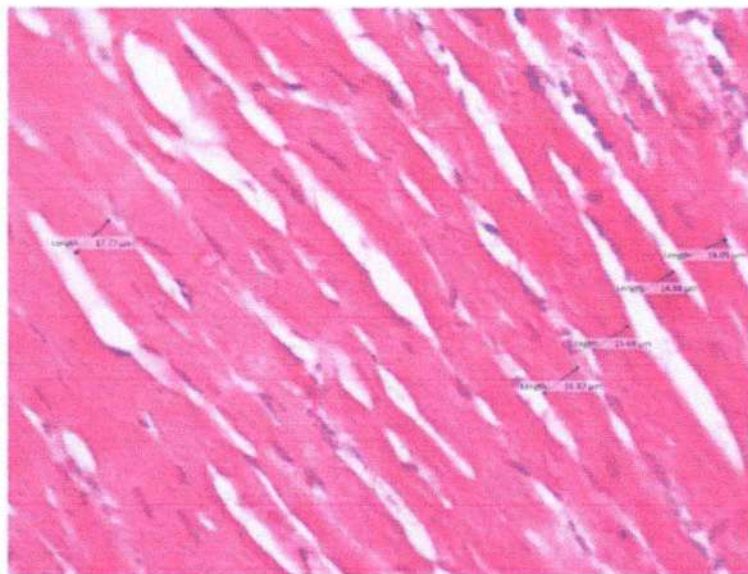
Tabel 5.2 Nilai Rerata dan SD Variabel penelitian diameter kardiomiosit (μm)

Variabel	Kelompok			
	K1 (n=6)	K2 (n=6)	K3 (n=6)	K4 (n=6)
Diameter Kardiomiosit (μm)	Rerata \pm SD 27,94 \pm 5,65	Rerata \pm SD 20,99 \pm 11,80	Rerata \pm SD 25,08 \pm 9,14	Rerata \pm SD 24,52 \pm 5,90

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa rerata diameter kardiomiosit menciit terendah ada pada kelompok K2 (20,99 \pm 11,80) dan tertinggi pada kelompok K1 (27,94 \pm 5,65).



Gambar 5.2 Diagram Batang hasil analisis diameter kardiomiosit (μm) pada kelompok kontrol dengan pemberian diet tinggi kalori (K1), kelompok K2 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten, kelompok K3 pemberian diet tinggi kalori dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang, serta kelompok K4 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang.



Gambar 5.3 Pengukuran diameter otot jantung. (Pewarnaan HE : 400x)

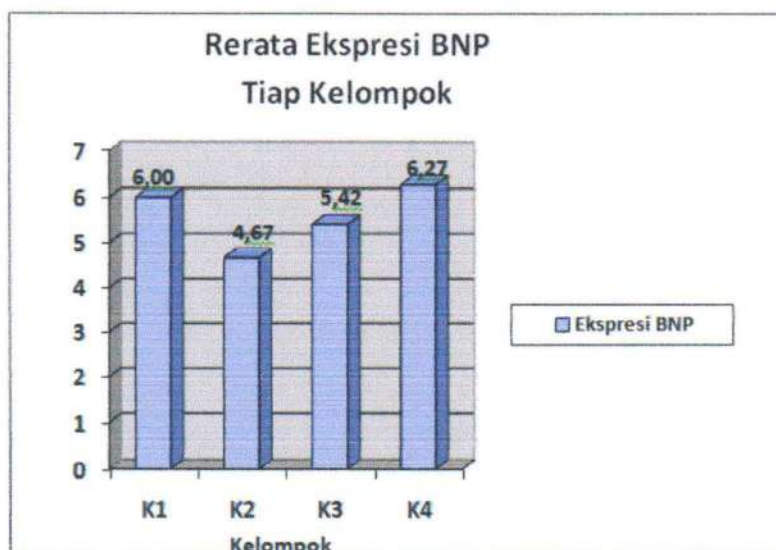
5.1.3 Variabel Ekspresi BNP

Data deskriptif variabel ekspresi BNP subjek penelitian dapat dilihat pada tabel 5.3

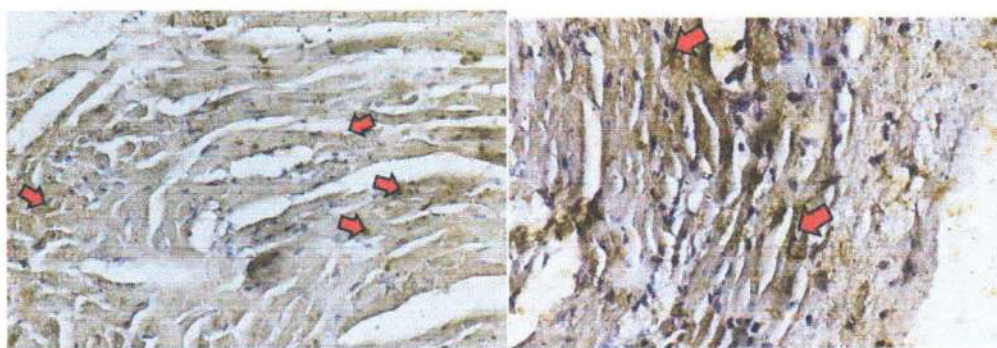
Tabel 5.3 Nilai Rerata dan SD Variabel penelitian ekspresi BNP

Variabel	Kelompok			
	K1 (n=6)	K2 (n=6)	K3 (n=6)	K4 (n=6)
Ekspresi BNP	Rerata \pm SD 6,00 \pm 1,50	Rerata \pm SD 5,42 \pm 2,09	Rerata \pm SD 4,67 \pm 1,00	Rerata \pm SD 6,27 \pm 1,54

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa rerata ekspresi BNP menci terendah ada pada kelompok K3 ($4,67 \pm 1,00$) dan tertinggi pada kelompok K4 ($6,27 \pm 1,54$).



Gambar 5.4 Diagram Batang hasil analisis ekspresi BNP otot jantung pada kelompok kontrol dengan pemberian diet tinggi kalori (K1), kelompok K2 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten, kelompok K3 pemberian diet tinggi kalori dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang, serta kelompok K4 dengan pemberian diet tinggi kalori intermiten dan perlakuan latihan kontinu intensitas sedang.



Gambar 5.5 Perbandingan gambaran ekspresi BNP pada otot jantung. Tanda panah menunjukkan adanya ekspresi BNP yang ditandai dengan adanya warna coklat *chromogen* (tanda panah). Pemeriksaan IHC dengan pembesaran mikroskop 400x.

5.2 Hasil Uji Beda

Uji beda diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP dari setiap kelompok menggunakan uji ANOVA karena semua data berdistribusi normal dan homogen, maka ditunjukkan pada tabel 5.4 dibawah ini.

Tabel 5.4 Hasil Uji ANOVA diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP

Uji ANOVA	Variabel	
	Diameter Kardiomyosit	Ekspresi BNP
Nilai p (Sig)	0,578	0,335

Dari tabel ANOVA, pada kolom Sig. diperoleh nilai P (P-value) =0,578 pada diameter kardiomyosit dan $p = 0,335$ pada ekspresi BNP. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa rata-rata diameter kardiomyosit dan ekspresi BNP mencit betina berdasarkan keempat kelompok perlakuan tidak berbeda secara bermakna.

BAB VI
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pengaruh Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Diameter Kardiomiosit

Hasil penelitian merupakan data pengukuran yang didapat dari penelitian mencakup data keseluruhan variabel yaitu variabel bebas (*independen*), variabel tergantung (*dependen*), dan variabel kendali. Data yang diperoleh dari hasil penelitian berupa berat badan hewan coba dan ekspresi BNP yang diambil dari organ jantung hewan coba setelah perlakuan diet tinggi kalori dan latihan kontinu intensitas sedang, yang diujikan dengan taraf bermaknasi 5% dan diolah dengan program SPSS.

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari diameter kardiomiosit kelompok perlakuan diet tinggi kalori intermiten dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda diameter kardiomiosit kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.3 bahwa rerata diameter kardiomiosit pada kelompok diet tinggi kalori intermiten cenderung lebih rendah ($20,99 \pm 11,80$) dibandingkan kelompok kontrol ($27,94 \pm 5,65$).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kobara, *et al* mencit jenis c57BL6 jantan dengan asupan kalori *ad libitum* (AL) dan c57BL6 jantan dengan asupan kalori terbatas 40% (CR) selama 6 minggu menunjukkan hasil histologis pada jantung mencit tersebut yaitu terjadi peningkatan ketebalan dinding ventrikel kiri dan

pelebaran diameter kardiomyosit serta munculnya fibrosis pada kelompok AL. Hal tersebut terkait dengan peningkatan ekspresi BNP dan kolagen III pada kelompok AL. Pada kelompok AL, stres oksidatif di jaringan jantung dan mitokondria meningkat dan aktivitas oksidase NADPH serta produksi ROS mitokondria meningkat. Sebaliknya, perubahan ketebalan dinding ventrikel kiri dan pelebaran diameter kardiomyosit secara bermakna dilemahkan pada kelompok CR. Selain itu, dalam sistem antioksidan, aktivitas GPX dan SOD ditingkatkan pada kelompok CR (Kobara *et al.*, 2015).

Pada tekanan yang *overload* kronis meningkatkan kerusakan oksidatif jantung serta terkait dengan hipertrofi jantung dan fibrosis. Pembatasan asupan kalori jangka pendek menekan stres oksidatif dan meningkatkan fungsi jantung, serta menunjukkan bahwa pembatasan asupan kalori jangka pendek menjadi strategi yang berguna untuk mencegah cedera jantung yang diinduksi oleh tekanan (Kobara *et al.*, 2015).

Hasil tersebut sama dengan penelitian ini bahwa pada kelompok kontrol yang diberi perlakuan diet tinggi kalori kontinu, meski tidak berbeda bermakna, diameter kardiomyosit lebih mengalami pembesaran ($27,94 \pm 5,65$) dibandingkan pada kelompok perlakuan diet tinggi kalori intermiten ($20,99 \pm 11,80$). Perlakuan diet tinggi kalori intermiten menghambat kerusakan oksidatif jantung melalui jalur peningkatan sistem antioksidan antara lain GPX dan SOD (Kobara *et al.*, 2015). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh sistem antioksidan GPX dan SOD yang tidak diukur pada penelitian ini.

6.2 Pengaruh Latihan Kontinu Intensitas Sedang terhadap Diameter Kardiomiosit

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari diameter kardiomiosit kelompok perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda diameter kardiomiosit kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.3 bahwa nilai rerata diameter kardiomiosit pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang cenderung lebih rendah ($25,08 \pm 9,14$) dibandingkan kelompok kontrol ($27,94 \pm 5,65$).

Rerata diameter kardiomiosit pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori menunjukkan hasil lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol. Hasil yang berlawanan, didapat pada penelitian dengan subjek tikus jantan usia 12-14 minggu yang diberikan latihan kontinu intensitas sedang selama 5 minggu menunjukkan hasil peningkatan kepadatan kapiler di sekitar kardiomiosit (angiogenesis) dan hipertrofi kardiomiosit (Hassan and Kamal, 2013). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa tikus c57BL6 dewasa muda (berusia 2 bulan) yang diberi perlakuan berjalan di atas roda dengan kecepatan yang terpantau (rata-rata $5,57 \pm 0,63$ km/hari) selama 8 minggu menunjukkan remodeling jantung fisiologis yang ditandai dengan peningkatan massa jantung dan hipertrofi kardiomiosit (Allen *et al.*, 2001; Boström *et al.*, 2010; Vujic *et al.*, 2018).

Latihan fisik renang intensitas sedang yang dilakukan 20 menit dan 3 kali dalam seminggu dapat menyebabkan pembesaran diameter serat otot jantung sebagai

adaptasi dan homeostasis terhadap respon yang diterima (Darsana *et al.*, 2019). Latihan fisik yang dilakukan secara teratur dengan memperhatikan jumlah frekuensi, intensitas dan durasi saat latihan dapat merangsang serat otot (miosit) jantung untuk beradaptasi (Wang, *et al.*, 2010). Adaptasi yang terjadi ditandai dengan adanya pembesaran pada diameter serat otot jantung (Medeiros, 2004) serta jumlah dari serat otot jantung menjadi bertambah (Waring, *et al.*, 2014).

Tikus muda jantan (usia 1 bulan) yang diberi makan diet tinggi kalori baik disertai rendah lemak (LFD) maupun tinggi lemak (HFD) selama 10 minggu menyebabkan hipertrofi ventrikel kiri, yang dikaitkan dengan penurunan selektif dalam aktivitas kompleks fosforilasi oksidatif mitokondria (OXPHOS) jantung I dan III serta berkaitan dengan peningkatan produksi MDA, penanda stres oksidatif, jika dibandingkan dengan tikus yang diberi diet rendah kalori dan lemak standar (SCD). Tikus muda yang diberi HFD memiliki kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan mencit yang diberi makan LFD dan SCD. Tikus yang diberi HFD dan LFD memiliki bobot badan yang lebih tinggi, massa ventrikel, ketebalan dinding posterior dan septal, serta diameter kardiomiosit yang meningkat dibandingkan dengan tikus yang diberi makan SCD (Emelyanova *et al.*, 2019).

Hasil tersebut sama dengan penelitian ini bahwa pada kelompok kontrol yang diberi perlakuan diet tinggi kalori kontinu, meski tidak berbeda bermakna, diameter kardiomiosit lebih mengalami pembesaran ($27,94 \pm 5,65$) dibandingkan pada kelompok perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori ($25,08 \pm 9,14$). Kemungkinan adanya faktor pemberian diet tinggi kalori kontinu lebih menyebabkan diameter kardiomiosit meningkat melalui jalur OXPHOS jantung I dan

III serta MDA (Emelyanova *et al.*, 2019). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh proses stres oksidatif yang diterima jantung semakin tinggi pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang yang diberi diet tinggi kalori

6.3 Pengaruh Kombinasi Latihan Kontinu Intensitas Sedang dan Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Diameter Kardiomiosit

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari diameter kardiomiosit kelompok kombinasi perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori intermiten dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda diameter kardiomiosit kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.3 bahwa rerata diameter kardiomiosit pada kelompok kombinasi perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori intermiten cenderung lebih rendah ($24,52 \pm 5,90$) dibandingkan kelompok kontrol ($27,94 \pm 5,65$).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Basilio *et al.*, tikus wistar jantan tua (usia 30 minggu) yang diberi perlakuan kombinasi diet kalori terbatas intermiten dan latihan fisik 5x per minggu intensitas sedang (ETI) selama 12 minggu dibandingkan dengan kelompok perlakuan latihan fisik intensitas sedang 5x per minggu (ET), maupun kelompok perlakuan diet kalori terbatas intermiten (IF). Penelitian tersebut menunjukkan hasil bahwa kelompok ETI menghasilkan diameter kardiomiosit yang jauh lebih kecil dibandingkan dengan kelompok ET dan IF (Basilio *et al.*, 2020).

Penelitian yang dilakukan oleh Okoshi *et al* , tikus wistar jantan berumur dua bulan dengan diet kalori *ad libitum* (AL) dibandingkan dengan diet kalori terbatas intermiten (IF) selama 12 minggu. Struktur jantung dan fungsi ventrikel kiri (LV) dinilai dengan ekokardiogram transtorasik. Diameter kardiomiosit juga diukur pada studi ini menggunakan metode slide yang diwarnai *hematoksilin-eosin* dari jaringan ventrikel kiri, kemudian 50 kardiomiosit diukur diameternya yaitu jarak terkecil antar tepi miosit yang melintasi inti sel (nukleus). Hasil menunjukkan kelompok IF mengurangi hipertrofi miosit dan pelebaran ventrikel kiri (Okoshi *et al.*, 2019).

Pelepasan insulin meningkat dengan adanya ketersediaan nutrisi yang lebih besar, seperti selama periode postprandial. Peningkatan sensitivitas insulin pada diet tinggi kalori intermiten juga ditemukan dalam penelitian terbaru pada tikus. Di sisi lain, kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan fisik menurunkan adipositas tubuh. Latihan fisik menyebabkan adaptasi kardiorespirasi, saraf, dan hormonal. Dalam konteks endokrin, latihan fisik juga mempengaruhi sekresi hormon (Basilio *et al.*, 2020). Latihan aerobik selama 12 bulan meningkatkan sensitivitas insulin, dengan penurunan 19,4% di area bawah kurva toleransi glukosa oral pada orang dewasa (Baumeier *et al.*, 2015).

Hasil tersebut sama dengan penelitian ini bahwa pada kelompok kontrol yang diberi perlakuan diet tinggi kalori kontinu, meski tidak berbeda bermakna, diameter kardiomiosit lebih mengalami pembesaran ($27,94 \pm 5,65$) dibandingkan pada kelompok kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang ($24,52 \pm 5,90$). Kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang menekan pelebaran diameter kardiomiosit melalui jalur penekanan

adipositas tubuh (Basilio *et al.*, 2020). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh faktor jaringan adiposit subjek yang tidak diukur pada penelitian ini.

6.4 Pengaruh Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Ekspresi BNP Kardiomiosit

Pengukuran ekspresi BNP kardiomiosit pada penelitian ini menggunakan pemeriksaan histopatologi. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui ekspresi BNP pada otot jantung. Data setiap sampel dinilai secara semikuantitatif menurut metode Remmele yang sudah dimodifikasi (Nowak *et al.*, 2007), dimana Indeks skala Remmele (*Immuno Reactive Score/IRS*) merupakan hasil perkalian antara skor persentase sel immunoreaktif dengan skor intensitas warna pada sel immunoreaktif.

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari ekspresi BNP kelompok perlakuan diet tinggi kalori intermiten dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda ekspresi BNP kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.1 bahwa ekspresi BNP pada kelompok diet tinggi kalori intermiten cenderung lebih rendah ($4,67 \pm 1,00$) dibandingkan kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$).

Temuan tersebut sejalan dengan penelitian lain yang menyebutkan bahwa ekspresi BNP pada ventrikel kiri tikus DahlS.Z-Lepr^{fa}/Lepr^{fa} (DS) yang obesitas mengalami penurunan setelah diberi pengurangan jumlah makanan sebesar 65%

selama 4 minggu (Takatsu *et al.*, 2013). Ekspresi BNP plasma yang secara klinis digunakan sebagai penanda gagal jantung memiliki peningkatan bermakna pada tikus tua (umur 24 bulan). Diet tinggi kalori intermiten selama 6 bulan secara bermakna menurunkan ekspresi BNP pada tikus tua, namun tidak pada tikus muda (umur 6 bulan). Ekspresi mRNA BNP ventrikel kiri meningkat pada tikus tua yang diberi diet standar (2550 kalori/gram) selama 6 bulan (Niemann *et al.*, 2010).

Frekuensi pemberian diet tinggi kalori mempunyai hubungan terhadap ekspresi BNP yang menyebabkan kardiomiopati. Dalam studi tersebut menyajikan bukti dari efek kardioprotektif diet tinggi kalori intermiten melalui *Sirtuin 1* (SIRT-1) dan *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator-1 α* (PGC-1 α). Aktivitas SIRT-1 dan PGC-1 α terbukti menekan stres oksidatif, fibrosis, dan inflamasi pada jantung sehingga diet tinggi kalori intermiten mampu menurunkan ekspresi BNP pada otot jantung yang rusak atau terganggu (kardiomiopati) (Waldman *et al.*, 2018).

Hasil tersebut sama dengan penelitian ini bahwa pada kelompok diet tinggi kalori intermiten, meski tidak berbeda bermakna, ekspresi BNP kardiomyosit lebih rendah ($4,67 \pm 1,00$) dibandingkan pada kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$) akibat adanya aktivitas SIRT-1 dan PGC-1 α melalui penekanan stres oksidatif pada kardiomyosit (Waldman *et al.*, 2018). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh penanda stres oksidatif yang tidak diukur pada penelitian ini.

6.5 Pengaruh Latihan Kontinu Intensitas Sedang terhadap Ekspresi BNP Kardiomyosit

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari ekspresi BNP kelompok perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda ekspresi BNP kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.2 bahwa ekspresi BNP pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang cenderung lebih rendah ($5,42 \pm 2,09$) dibandingkan kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$).

Latihan fisik dapat menurunkan ekspresi BNP akibat respons neurohormonal saat fase istirahat (Passino *et al.*, 2006). Mencit yang melakukan latihan fisik berupa renang 2 kali sehari durasi 10 menit dan ditambah durasinya setiap hari 10 menit hingga tercapai 90 menit memiliki ekspresi BNP yang tidak berbeda bermakna (Xiao *et al.*, 2014). Program latihan yang menghasilkan pengeluaran energi mingguan rata-rata kurang dari 400 Kkal/minggu tidak menunjukkan perubahan yang bermakna dalam ekspresi BNP (Meyer *et al.*, 2004; Sarullo *et al.*, 2006). Penelitian lain menyebutkan bahwa total pengeluaran energi olahraga mingguan minimum sekitar 400–450 Kkal/minggu diprediksi dapat menghasilkan perubahan bermakna ekspresi BNP. Perubahan ekspresi BNP juga tidak tergantung pada frekuensi pelatihan dan program serta durasi sesi latihan (Smart and Steele, 2010).

Sementara studi lainnya menyebutkan bahwa BNP mempunyai efek sitoproteksi dan anti-iskemia pada jantung sehingga pada latihan aerobik (*treadmill* pada tikus dengan kecepatan 20 m/menit selama 30 menit) suplai oksigen ke otot

jantung terpenuhi, sehingga tidak terjadi hipoksia dan tidak menyebabkan adanya rangsangan terhadap pembentukan BNP (Flora, 2017).

Frekuensi pemberian diet tinggi kalori mempunyai hubungan terhadap ekspresi BNP yang menyebabkan kardiomiopati. Di jantung normal, insulin merangsang pengambilan glukosa dan oksidasi. Ikatan insulin ke reseptor permukaannya memunculkan kaskade pensinyalan yang mencakup aktivasi PI3K, AKT dan PKC yang mengarah ke translokasi transporter glukosa ke membran kardiomyosit sehingga memfasilitasi pengambilan glukosa (Waldman *et al.*, 2018). Resistensi insulin pada diet tinggi kalori mengakibatkan gangguan pengambilan glukosa jantung dan hiperglikemia (Abel *et al.*, 2012). Peralihan awal menuju penggunaan asam lemak bebas ini meningkatkan turunan asam lemak bebas intraseluler, seperti MDA. Selanjutnya, terjadi peningkatan pembentukan ROS dan kerusakan oksidatif di mitokondria yang diisolasi dari jantung akibat diet tinggi kalori. Gen yang berhubungan dengan hipertrofi jantung dan gagal jantung yaitu BNP. Ekspresi BNP meningkat pada tikus dengan diet tinggi kalori dan menurun pada diet tinggi kalori intermiten (Waldman *et al.*, 2018).

Pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang, ekspresi BNP kardiomyosit lebih rendah ($5,42 \pm 2,09$) dibandingkan pada kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh proses stres oksidatif (Waldman *et al.*, 2018) yang diterima jantung semakin tinggi pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang yang diberi diet tinggi kalori.

6.6 Pengaruh Kombinasi Latihan Kontinu Intensitas Sedang dan Diet Tinggi Kalori Intermiten terhadap Ekspresi BNP Kardiomiosit

Hasil uji beda anova menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna dari ekspresi BNP kelompok perlakuan kombinasi latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori intermiten dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p > 0,05$). Kelompok kontrol adalah diet tinggi kalori kontinu setiap hari. Meskipun uji beda ekspresi BNP kedua kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan yang bermakna, namun dapat dilihat pada tabel 5.1 bahwa ekspresi BNP pada kelompok kombinasi perlakuan latihan kontinu intensitas sedang dan diet tinggi kalori intermiten cenderung lebih tinggi ($6,27 \pm 1,54$) dibandingkan kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$).

Pengaruh kombinasi stres metabolik dan fisiologis pada kinerja jantung individu dewasa muda yang terlatih mengakibatkan kekurangan kalori yang ekstrim selama empat hari pasca aktivitas fisik yang cukup intens dan berkepanjangan. Hal tersebut mengakibatkan perubahan pada fungsi diastolik ventrikel kiri tanpa efek pada fungsi sistolik ventrikel kiri serta terjadi penurunan ekspresi BNP yang berkorelasi dengan penurunan berat badan dan penurunan kadar natrium (Planer *et al.*, 2012).

Selama dalam kondisi kekurangan kalori, metabolisme miokardium bergeser dari glukosa ke metabolisme asam lemak bebas. Telah terbukti bahwa pada subjek sehat yang melakukan tiga hari diet sangat rendah kalori mengakibatkan akumulasi trigliserida miokardium yang disertai dengan disfungsi diastolik (Van Der Meer *et al.*, 2007). Meskipun pada latihan kontinu terjadi disfungsi ventrikel kanan yang

merupakan tanda awal dari ketegangan jantung akibat latihan (Dávila-Román *et al.*, 1997), dalam penelitian yang lain disebutkan bahwa latihan kontinu tidak menyebabkan perubahan bermakna pada fungsi atau tekanan ventrikel kanan (Planer *et al.*, 2012) .

Berdasarkan analisis tersebut, pada kelompok latihan kontinu intensitas sedang, ekspresi BNP kardiomyosit meski tidak berbeda bermakna, namun lebih tinggi ($6,27 \pm 1,54$) dibandingkan pada kelompok kontrol ($6,00 \pm 1,50$). Kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang meningkatkan ekspresi BNP melalui jalur stres metabolik ventrikel kiri sehingga menyebabkan fungsi diastolik ventrikel kiri terganggu (Van Der Meer *et al.*, 2007). Hasil yang tidak berbeda bermakna kemungkinan disebabkan oleh faktor disfungsi jantung yang tidak diukur pada penelitian ini.

BAB VII
PENUTUP

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP pada mencit yang dipapar diet tinggi kalori adalah :

1. Tidak ada pengaruh diet tinggi kalori intermiten terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
2. Tidak ada pengaruh latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.
3. Tidak ada pengaruh kombinasi diet tinggi kalori intermiten dan latihan kontinu intensitas sedang terhadap diameter kardiomiosit dan ekspresi BNP kardiomiosit.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang disimpulkan, maka dapat disarankan sebagai berikut :

1. Penelitian lanjutan diperlukan dengan memeriksa variabel penanda stres oksidatif seperti ROS dan MDA serta antioksidan seperti SOD, GPX.
2. Penelitian lanjutan diperlukan dengan memeriksa variabel jaringan adiposit tubuh.
3. Penelitian lanjutan diperlukan dengan memeriksa fungsi diastolik ventrikel kiri.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Abel, E.D., O'Shea, K.M., Ramasamy, R., 2012. Insulin resistance: Metabolic mechanisms and consequences in the heart. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32, 2068–2076. <https://doi.org/10.1161/atvbaha.111.241984>
- Allen, D.L., Harrison, B.C., Maass, A., Bell, M.L., Byrnes, W.C., Leinwand, L.A., 2001. Cardiac and skeletal muscle adaptations to voluntary wheel running in the mouse. *J. Appl. Physiol.* 90, 1900–1908. <https://doi.org/10.1152/jappl.2001.90.5.1900>
- Ardiaria, M., 2019. Disfungsi Mitokondria dan Stress Oksidatif. *JNH (Journal Nutr. Heal.* 7, 50–55.
- Arthritis, F., 2011. Types of Exercise. Available at: <http://www.arthritis.org/types-exercise.php>.
- Basilio, P.G., Oliveira, A.P.C. de, Castro, A.C.F. de, Carvalho, M.R. de, Zagatto, A.M., Martinez, P.F., Okoshi, M.P., Okoshi, K., Ota, G.E., Reis, F.A. dos, Oliveira-Junior, S.A. de, 2020. Dieta Intermitente Atenua a Remodelação Cardíaca Causada pelo Exercício Físico. *Arq. Bras. Cardiol.* 115, 184–193. <https://doi.org/10.36660/abc.20190349>
- Baumeier, C., Kaiser, D., Heeren, J., Scheja, L., John, C., Weise, C., Eravci, M., Lagerpusch, M., Schulze, G., Joost, H.G., Schwenk, R.W., Schürmann, A., 2015. Caloric restriction and intermittent fasting alter hepatic lipid droplet proteome and diacylglycerol species and prevent diabetes in NZO mice. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids* 1851, 566–576. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.01.013>
- Bompa, Tudor O, dan Haff, G.G., 2009. *Periodization. Theory and Methodology of Training.* Fifth Edition. Human Kinetics. United States of America.
- Boström, P., Mann, N., Wu, J., Quintero, P.A., Plovie, E.R., Panáková, D., Gupta, R.K., Xiao, C., MacRae, C.A., Rosenzweig, A., Spiegelman, B.M., 2010. C/EBP β controls exercise-induced cardiac growth and protects against pathological cardiac remodeling. *Cell* 143, 1072–1083. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.11.036>
- Candrawati, 2013. Pengaruh aktivitas fisik terhadap stress oksidatif. *Mandala Heal.* 6, 454–461.
- Chen, W.K., Yeh, Y.L., Lin, Y.M., Lin, J.Y., Tzang, B.S., Lin, J.A., Yang, A.L., Wu, F.L., Tsai, F.J., Cheng, S.M., Huang, C.Y., Lee, S. Da, 2014. Cardiac hypertrophy-related pathways in obesity. *Chin. J. Physiol.* 57, 111–120. <https://doi.org/10.4077/CJP.2014.BAB146>
- Cira Rubies, Montserrat Battle, Nadia Castillo, Ana P Dantas, Marta Sitges, Josep Brugada, Lluís Mont, and E.G., 2015. Abstract 18108: Extreme Physical Activity Reverses Beneficial Vascular Effects of Moderate Physical Activity. Study in an Animal Model. *Circulation* 132.
- Darsana, P.D., Kinanti, R.G., Merawati, D., 2019. Pengaruh latihan teratur terhadap diameter serat otot jantung tikus wistar. *J. Sport Sci.* 9.
- Darsana, Prayogi Dwi, Kinanti, R.G., Merawati, D., 2019. Pengaruh Latihan Teratur terhadap Serat Otot Jantung Wistar. *J. Chem. Inf. Model.* 53, 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Dávila-Román, V.G., Guest, T.M., Tuteur, P.G., Rowe, W.J., Ladenson, J.H., Jaffe, A.S., 1997. Transient right but not left ventricular dysfunction after strenuous exercise at high

- altitude. *J. Am. Coll. Cardiol.* 30, 468–473. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(97\)00179-4](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(97)00179-4)
- De Jesus, J.M., 2011. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: Summary report. *Pediatrics* 128, 213–256. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2107C>
- Emelyanova, L., Boukatina, A., Myers, C., Oyarzo, J., Lustgarten, J., Shi, Y., Jahangir, A., 2019. High calories but not fat content of lard-based diet contribute to impaired mitochondrial oxidative phosphorylation in C57BL/6J mice heart. *PLoS One* 14, 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217045>
- Fletcher, Flipse, Safford, 2011. Exercise in health and cardiovascular disease. Fuster V, Walsh R, Harringt. RA, Ed. 2, 2176–87.
- Flora, R., 2017. Indikator Beban Berlebih Pada Otot Jantung Tikus Wistar Yang Diberi Perlakuan Latihan Fisik Akut The Indicator of Overload in Rat Myocardium That Given Acute Physical Exercise. *Biomed. J. Indones.* 1, 35–39.
- Foss, M.L. and Keteyian, S.J., 2006. *Fox's Physiological Basis for Exercise and Sport*. McGraw-Hill New York.
- Frank H. Netter, 1989. *Atlas of Human Anatomy*.
- Furukawa, S., Matsuda, M., Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., 2017. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome Find the latest version: Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 114, 1752–1761. <https://doi.org/10.1172/JCI200421625.1752>
- Garcia-Contiente, Allué, Pérez-Giménez, Ariza, Sánchez- Martínez, López, 2014. Eating habits, sedentary behaviors and overweight and obesity among adolescents in Barcelona (Spain). 2014; 83: 3–10. *An Pediatr* 83, 3–10.
- George, S., Johnson, J., 2010. *Atherosclerosis: molecular and cellular mechanism*. United Kingdom John Wiley Sons.
- Gerçek, Mustafa, Gerçek, Muhammed, Kant, S., Simsekiymaz, S., Kassner, A., Milting, H., Liehn, E.A., Leube, R.E., Krusche, C.A., 2017. Cardiomyocyte Hypertrophy in Arrhythmogenic Cardiomyopathy. *Am. J. Pathol.* 187, 752–766. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2016.12.018>
- Golbidi, S., Laher, I., 2012. Exercise and the Cardiovascular System. *Cardiol Res Pr.* 15.
- Guyton, A., Hall, J., 2016. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (13th Edition)*.
- Halliwell, B., Whiteman, M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 142, 231–255.
- Hariyatni, 2004. Kemampuan vitamin E sebagai antioksidan terhadap radikal bebas pada lanjut usia. *MIPA* 14, 52–60.
- Hassan, A.F., Kamal, M.M., 2013. Effect of Exercise Training and Anabolic Androgenic Steroids on Hemodynamics , Glycogen Content , Angiogenesis and Apoptosis of Cardiac Muscle in Adult Male Rats. *Int. J. Health Sci. (Qassim).* 7, 47–60. <https://doi.org/10.12816/0006020>
- Herawati, L., 2018. Mekanisme Pengaruh Prekondisi Diet Glukosa Secara Kontinyu-bertahap Terhadap Ekspresi AKT, PDX1, HSP27, Insulin Sel Beta Pankreas Yang Dipapar Diet Tinggi Glukosa. Universitas Airlangga.
- Kadir, A., 2011. *Adaptasi Cardiovascular Terhadap Latihan Fisik*. Universitas Wijaya Kusuma. Surabaya.
- Karason, K., Sjöström, L., Wallentin, I., Peltonen, M., 2003. Impact of blood pressure and insulin on the relationship between body fat and left ventricular structure. *Eur. Heart J.* 24, 1500–1505. [https://doi.org/10.1016/S0195-668X\(03\)00312-9](https://doi.org/10.1016/S0195-668X(03)00312-9)

- Kemenkes RI, 2018. Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. <https://doi.org/10.1016/j.jamapediatrics.2014.3216> Desember 2013
- Kit, B.K., Kuklina, E., Carroll, M.D., Ostchega, Y., Freedman, D.S., Ogden, C.L., 2015. Prevalence of and trends in dyslipidemia and blood pressure among us children and adolescents, 1999-2012. *JAMA Pediatr.* 169, 272–279. <https://doi.org/10.1016/j.jamapediatrics.2014.3216>
- Kobara, M., Furumori-Yukiya, A., Kitamura, M., Matsumura, M., Ohigashi, M., Toba, H., Nakata, T., 2015. Short-Term Caloric Restriction Suppresses Cardiac Oxidative Stress and Hypertrophy Caused by Chronic Pressure Overload. *J. Card. Fail.* 21, 656–666. <https://doi.org/10.1016/j.cardfail.2015.04.016>
- Iyousi, B., Cherkaoui-Tangi, K., Morel, N., Wibo, M., 2018. Characterization of vascular dysregulation in meriones shawi after high-calorie diet feeding. *Clin. Exp. Hypertens.* 40, 353–362. <https://doi.org/10.1080/10641963.2017.1377219>
- McTigue, K., Larson, J.C., Valoski, A., Burke, G., Kotchen, J., Lewis, C.E., Stefanick, M.L., Van Horn, L., Kuller, L., 2006. Mortality and cardiac and vascular outcomes in extremely obese women. *J. Am. Med. Assoc.* 296, 79–86. <https://doi.org/10.1001/jama.296.1.79>
- Medeiros, 2004. Swimming Training Increases Cardiac Vagal Activity And Induces Cardiac Hypertrophy In Rats , 37: 1909–1917. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 37, 1909–1917.
- Meyer, T., Schwaab, B., Gorge, G., Scharhag, J., Herrmann, M., Kindermann, W., 2004. Can serum NT-proBNP detect changes of functional capacity in patients with chronic heart failure? *Z. Kardiol.* 93, 540–545. <https://doi.org/10.1007/s00392-004-0095-z>
- Mistry, S., Puthussery, S., 2015. Risk factors of overweight and obesity in childhood and adolescence in South Asian countries: A systematic review of the evidence. *Public Health* 129, 200–209.
- Mozaffarian, D., 2016. Dietary and Policy Priorities for Cardiovascular Disease, Diabetes, and Obesity. *Circulation* 133, 187–225. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.115.018585>
- Mulyono, 2011. Pengaruh Pemberian Glutathion Pasca Aktivitas Fisik Submaksimal Terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Plasma Tikus (*Rattus Norvegicus*). Thesis. Universitas Airlangga.
- Murray, R., Granner, D., Mayes, P., Rodwell, V., 2003. *Biokimia Harper Edisi 25*. Jakarta: EGC.
- Niemann, B., Chen, Y., Issa, H., Silber, R.E., Rohrbach, S., 2010. Caloric restriction delays cardiac ageing in rats: Role of mitochondria. *Cardiovasc. Res.* 88, 267–276. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq273>
- Nindl, G., 2004. Nindl G. Hydrogen peroxide from oxidative stressor to redox regulator. *Cell Sci Rev* 1, 1–12.
- Nowak, M., Madej, J.A., Dzięgiel, P., 2007. Intensity of COX2 expression in cells of soft tissue fibrosarcomas in dogs as related to grade of tumour malignancy. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 51, 275–279.
- Okoshi, K., Cezar, M.D.M., Polin, M.A.M., Paladino, J.R., Martinez, P.F., Oliveira, S.A., Lima, A.R.R., Damatto, R.L., Paiva, S.A.R., Zornoff, L.A.M., Okoshi, M.P., 2019. Influence of intermittent fasting on myocardial infarction-induced cardiac remodeling. *BMC Cardiovasc. Disord.* 19, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12872-019-1113-4>
- Osman, A.H.K., Minamino, N., Marei, H.E., 2019. Identification and mapping of brain natriuretic peptide in the normal ventricular myocardium of a desert-dwelling mammalian model, the camel (*Camelus dromedarius*): Immunohistochemical and ultrastructural study. *J. Cell. Physiol.* 234, 3067–3077.

- <https://doi.org/10.1002/jcp.27126>
- Passino, C., Severino, S., Poletti, R., Piepoli, M.F., Mammini, C., Clerico, A., Gabutti, A., Nassi, G., Emdin, M., 2006. Aerobic Training Decreases B-Type Natriuretic Peptide Expression and Adrenergic Activation in Patients With Heart Failure. *J. Am. Coll. Cardiol.* 47, 1835–1839. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.12.050>
- Paulo, S., Hoffman, D., Sawaya, A., Verreschi, I., Tucker, K., Roberts, S., 2000. Why are nutritionally stunted children at increased risk of obesity? Studies of metabolic rate and fat oxidation in shantytown children. 6, 702–707.
- Payab, M., Kelishadi, R., Qorbani, M., 2015. Association of junk food consumption with high blood pressure and obesity in Iranian children and adolescents : the CASPIAN-IV Study & *J Pediatr (Rio J)* 91, 196–205.
- Peckham, M., 2011. At a Glance Histologi.
- Planer, D., Leibowitz, D., Hadid, A., Erlich, T., Sharon, N., Paltiel, O., Jacoby, E., Lotan, C., Moran, D.S., 2012. The effect of prolonged physical activity performed during extreme caloric deprivation on cardiac function. *PLoS One* 7, 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031266>
- Rachmi, C.N., Li, M., AlisonBaur, L., 2017. Overweight and obesity in Indonesia: prevalence and risk factors—a literature review. *Public Health*, 147, 20–29. *Publuic Heal.* 147, 20–29.
- Robergs, AR. and Keteyian, S., 2003. *Fundamental of Exercise Physiology* 2nd ed. New York : Mc Graw Hill.
- Rothig, Grossing, 2004. *Pengetahuan Training Olahraga.* (terjemahan oleh Syafruddin). Padang: Fakultas Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Padang.
- Sarullo, F.M., Gristina, T., Brusca, I., Milia, S., Raimondi, R., Sajeve, M., la Chiusa, S.M., Serio, G., Paterna, S., di Pasquale, P., Castello, A., 2006. Effect of physical training on exercise capacity, gas exchange and N-terminal pro-brain natriuretic peptide expression in patients with chronic heart failure. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 13, 812–817. <https://doi.org/10.1097/01.hjr.0000238396.42718.61>
- Silva-Santana, G.; Aguiar-Alves, F.; Silva, L.E.; Barreto, M.L.; Silva, J.F.R.; Gonçalves, A.; Mattos-Guaraldi, A.L.; Lenzi-Almeida, K.C., 2019. Compared Anatomy and Histology between *Mus musculus* Mice (Swiss) and *Rattus norvegicus* Rats (Wistar). *Preprints* 87, 2019070306. <https://doi.org/10.20944/preprints201907.0306.v1>
- Smart, N.A., Steele, M., 2010. Systematic review of the effect of aerobic and resistance exercise training on systemic brain natriuretic peptide (BNP) and N-terminal BNP expression in heart failure patients. *Int. J. Cardiol.* 140, 260–265. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2009.07.004>
- Sugiharto, 2014. *Fisiologi Olahraga: Teori dan Aplikasi Pembinaan Olahraga.* Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sutyantara, K., Arsani, N.L.K., Sudarmana, I.N., 2014. Pengaruh Pelatihan Sirkuit dan Lari-Lari Kontinyu Intensitas Rendah Terhadap Daya Tahan Kardiovaskuler Pada Siswa Putra Kelas VIII SMPN 2 Nusa Penida Tahun Pelajaran 2013/2014. *E-Journal IKOR Univ. Pendidik. Ganesha.* 1.
- Syafruddin, 2011. *Ilmu Kepelatihan Olahraga Teori dan Aplikasinya Dalam Pembinaan Olahraga.* Padang: UNP Press.
- Takatsu, M., Nakashima, C., Takahashi, K., Murase, T., Hattori, T., Ito, H., Murohara, T., Nagata, K., 2013. Calorie restriction attenuates cardiac remodeling and diastolic dysfunction in a rat model of metabolic syndrome. *Hypertension* 62, 957–965. <https://doi.org/10.1161/Hypertensionaha.113.02093>
- Thompson, P., Baggish, A., 2015. *Excercise and sports cardiology.* Braunwald's *Hear. Dis. a*

- Textb. *Cardiovasc. Med.* 1771–8.
- Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J.A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J.C., Toxqui, V., Venegas, B., Diaz, A., 2015. A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse* 69, 421–433. <https://doi.org/10.1002/syn.21832>
- Tsutamoto, T., Horie, M., 2004. Brain natriuretic peptide. *Rinsho Byori.* 52, 655–668. <https://doi.org/10.3109/9780203488669-3>
- Van Der Meer, R.W., Hammer, S., Smit, J.W.A., Frölich, M., Bax, J.J., Diamant, M., Rijzewijk, L.J., De Roos, A., Romijn, J.A., Lamb, H.J., 2007. Short-term caloric restriction induces accumulation of myocardial triglycerides and decreases left ventricular diastolic function in healthy subjects. *Diabetes* 56, 2849–2853. <https://doi.org/10.2337/db07-0768>
- Vujic, A., Lerchenmüller, C., Wu, T. Di, Guillemier, C., Rabolli, C.P., Gonzalez, E., Senyo, S.E., Liu, X., Guerin-Kern, J.L., Steinhauser, M.L., Lee, R.T., Rosenzweig, A., 2018. Exercise induces new cardiomyocyte generation in the adult mammalian heart. *Nat. Commun.* 9, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04083-1>
- Waldman, M., Cohen, K., Yadin, D., Nudelman, V., Gorfil, D., Laniado-Schwartzman, M., Kornwoski, R., Aravot, D., Abraham, N.G., Arad, M., Hochhauser, E., 2018. Regulation of diabetic cardiomyopathy by caloric restriction is mediated by intracellular signaling pathways involving “SIRT1 and PGC-1 α .” *Cardiovasc. Diabetol.* 17, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12933-018-0754-4>
- Wang, Y., Wisloff, Kemi, O., 2010. Animal Models In The Study Of Exercise-Induced Cardiac Hypertrophy. *Physiol. Res.* 59, 633–644.
- Waring, C.D., Carla, V., Angela, P., Andrew, J.S., Saranya, P., David, F.G., Bernardo, N.G., Torella, D., & Georgina, M., 2014. The Adult Heart Responds To Increased Workload With Physiologic Hypertrophy, Cardiac Stem Cell Activation, And New Myocyte Formation. *Eur. Heart J.* 35, 2722–2731.
- Wen, C.P., Wai, J.P.M., Tsai, M.K., Yang, Y.C., Cheng, T.Y.D., Lee, M.C., Chan, H.T., Tsao, C.K., Tsai, S.P., Wu, X., 2011. Minimum amount of physical activity for reduced mortality and extended life expectancy: A prospective cohort study. *Lancet* 378, 1244–1253. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60749-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60749-6)
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Indones. J. Biotechnol. Med.* 3, 59–68. <https://doi.org/10.22435/jbmi.v3i2.4203.59-68>
- WHO, 2017. Cardiovascular Disease WHO.pdf.
- Wikanta, T., Januar, H., Nursid, M., 2005. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhodymenia palmate*. *J. Penelit. Perikan. Indones.* 11, 41–49.
- Wilborn, C., Beckham, J., Campbell, B., Harvey, T., Galbreath, M., Bounty, P., Nassar, E., Wismann, J., Kreider, R., 2005. Obesity: Prevalence, Theories, Medical Consequences, Management, and Research Directions. *J. Int. Soc. Sports Nutr.*
- Wilmore, J., 2005. *Athletic Training and Physical Fitness.* Boston, Sydney : Allyn and Bacon.
- Winarsi, H., 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan.* Kanisius, Yogyakarta.
- Wojtala, M., Pirola, L., Balcerczyk, A., 2017. Modulation of the vascular endothelium functioning by dietary components, the role of epigenetics. *BioFactors* 43, 5–16. <https://doi.org/10.1002/biof.1306>
- World Health Organization, n.d. . 2016. Glob. Heal. Obs. data Overweight obesity. Diambil 3 Juli 2019, dari WHO website https://www.who.int/gho/ncd/risk_factors

- [/overweight_obesity/obesity_adolescents/en/](#).
- Xiao, J., Xu, T., Li, J., Lv, D., Chen, P., Zhou, Q., Xu, J., 2014. Exercise-induced physiological hypertrophy initiates activation of cardiac progenitor cells. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 7, 663–669.
- Zulbahri, 2018. Peningkatan kemampuan daya tahan aerobik dengan metode latihan kontinyu atlet bolavoli kabupaten rokan hulu. *Pros. Semin. Nas. Univ. Pasir Pengaraian* ISSN: 2654, 636–639.

LAMPIRAN

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Layak Etik



KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
UNIVERSITAS AIRLANGGA SCHOOL OF MEDICINE
SURABAYA, INDONESIA

KETERANGAN LAYAK ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL EXEMPTION
"ETHICAL EXEMPTION"

No. 12/EC/KEPK/FKUA/2020

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The research protocol proposed by

Peneliti Utama : Muchammad Rifat Fawaid As'ad, S.Or
Principal in Investigator

Tempat Penelitian : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Alocation of Research

Dengan judul:
Title

"Pengaruh Kombinasi Restriksi Kalori dan Latihan Koutinu Intensitas Sedang terhadap Kadar C-Reactive Protein (CRP) serum dan Jumlah Sel β Pankreas pada Mencit Betina yang Dipapar Diet Tinggi Kalori"


"Combined Effects of Calorie Restriction and Moderate Intensity Continuous Training to Levels Serum C-Reactive Protein (CRP) and Numbers Pancreatic β Cells in Female Mice Exposed to a High-Calorie Diet"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 6 Januari 2020 sampai dengan tanggal 6 Januari 2021.

This declaration of ethics applies during the period January 6, 2020 until January 6, 2021.

January 6, 2020
Professor and Chairperson,

Prof. Dr. H. Paddy Bagus Wasito, dr, MS., Sp.MK (K)

Lampiran 2. Prosedur Pengambilan Sampel Organ Jantung

Setelah perlakuan selama 4 minggu, mencit akan diambil organ jantungnya, dengan diistirahatkan selama 12 jam dan setelah itu dianalisis untuk diperiksa ekspresi BNP yang dilakukan oleh petugas laboratorium untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan data. Analisis dilakukan dilaboratorium Universitas Airlangga. Adapun langkah-langkah pengambilan darah sebagai berikut:

1. Setelah diistirahatkan selama 12 jam, mencit diambil dari kandang dan dilakukan penimbangan berat badan akhir, kemudian dilakukan pembiusan dengan cara memasukkan mencit ke dalam toples pembiusan yang sudah berisi kapas dan *chloroform*.
2. Mencit diambil dari dalam toples dan diletakan pada papan pembedahan.
3. Mencit dibedah menggunakan gunting, hingga jantungnya terlihat.
4. Setelah siap, pengambilan organ jantung serta disimpan di dalam pot tabung yang telah berisi larutan *Phosphate Buffered Saline* (PBS).

Lampiran 3. Analisis Struktur Kardiomiosit

Analisis struktur kardiomiosit menggunakan metode paraffin dan pewarnaan haemotoxylin eosin. Metode paraffin dilakukan dengan urutan fiksasi, dehidrasi, clearing, infiltrasi, embedding, section, affixing, dan mounting. Prosedurnya yang dilakukan sebagai berikut:

1. Fiksasi, Dehidrasi, dan *Clearing*

Organ jantung yang telah diambil dicuci dengan NaCl 0,9% dimasukkan dalam flakon berisi larutan fiksatif PBS-formalin selama 3 jam, kemudian dicuci alkohol 70%. Proses dehidrasi menggunakan alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai 70%, 80%, dan 90% masing-masing 1,5 jam. Selanjutnya digunakan alkohol absolut dan *xylol* dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 selama 30 menit. proses selanjutnya adalah *clearing*, organ jantung dijernihkan dengan *xylol* selama 4-6 jam.

2. Infiltrasi dan *Embedding* (Penanaman)

Infiltrasi *paraffin* dilakukan pada suhu 50-60°C menggunakan *paraffin* I, II, III sekama 1 jam. Organ ditanam dalam blok *paraffin* yang telah dicairkan. *Embedding* dilakukan secara bertingkat menggunakan *xylol*, *paraffin* selama 30 menit.

3. Penyayatan (*Sectioning*) dan Perekatan (*Affixing*)

Organ yang akan disayat direkatkan pada *holder* dengan menggunakan *scalpel* dan *bunsen*. Organ jantung disayat melintang menggunakan *rotary microtome* dengan ketebalan 8µm-10 µm. Sayatan direkatkan (*affixing*) pada gelas objek yang telah dilapisi perekat gliserin dan albumin, kemudian disimpan dalam inkubator 4°C selama 24 jam, sediaan diwarnai dengan *hematoxylin* dan *eosin*.

4. Pewarnaan (*Staining*)

Preparat jantung yang akan dilakukan pewarnaan, terlebih dahulu diparafinasi menggunakan *xylol* I dan II, masing-masing 15-30 menit. Kemudian dilakukan hidrasi bertingkat mulai dari absolut 95%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% dan aquades masing-masing 2 menit. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan *hematoxylin* selama 2-3 menit, kemudian dicuci dengan air mengalir. Dimasukkan kembali ke dalam alkohol bertingkat dari 20% hingga 70%. Selanjutnya dilakukan pewarnaan *eosin* selama 10 menit dilanjutkan alkohol bertingkat hingga *xylol* I dan II selama 2 menit.

5. Penutupan (*Mounting*)

Irisan diberi *Entellan* terlebih dahulu kemudian ditutup dengan *cover glass*, dikeringkan diatas *hot plate* agar terbebas dari gelembung udara dan dapat diamati pada mikroskop. Organ jantung yang telah dilakukan pewarnaan HE kemudian dilihat menggunakan mikroskop elektron dengan perbesaran 100x dalam 5 lapang pandang untuk menghitung diameter kardiomyosit (Gerçek *et al.*, 2017).

Lampiran 4. Analisis Ekspresi BNP dengan *Immunohistochemistry*

Serangkaian spesimen jaringan (0,5-1 cm³) dikumpulkan dari miokard ventrikel dan langsung diperbaiki dalam larutan Zamboni selama 2 hari pada suhu kamar (RT, 25 ° C). Setelah dicuci dengan 0,01 M dari buffered saline (PBS) fosfat

pada pH 7,4, jaringan didehidrasi dalam etanol, dibersihkan dalam xylene, tertanam dalam parafin dan dipotong pada ketebalan 3 μ m. Sebelum pewarnaan imunohistokimia, bagian yang dideparfinisasi diinkubasi dalam hidrogen peroksida 0,6% dalam metanol absolut selama 30 menit di RT untuk penghambatan aktivitas peroksidase intrinsik.

Pewarnaan imunohistokimia dilakukan dengan menggunakan kit avidin-biotin-peroksidase (ABC) (Vector Laboratories, Burlingame, CA). Secara singkat, pengikatan nonspesifik diblokir dengan 1% bovine serum albumin (BSA) dalam PBS, dan kemudian bereaksi semalam pada suhu 4 ° C dengan antibodi primer (*mouse* antibodi poliklonal # 158-4), diencerkan pada 1: 1.000 dengan blocking buffer (PBS mengandung 1% BSA).

Setelah dicuci tiga kali dalam PBS, bagian diinkubasi dengan antibodi sekunder, IgG anti-*mouse*biotinylated, (pengenceran 1: 200 dalam 0,1 M PBS) selama 1 jam pada larutan RT dan ABC (pengenceran 1: 100 dalam 0,1 M dari PBS; Kit ABC Vectastain; Laboratorium Vektor), selama 30 menit di RT. Produk imunoreaktif divisualisasikan menggunakan 3,3',3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB; 50 mg dalam 100 ml PBS) dan 0,01% hidrogen peroksida. Kemudian, bagian dicuci di PBS, counterstained dengan hematoxylin, didehidrasi, dibersihkan dalam xylene, dan ditutup-tutupi.

Bagian dari blok yang sama diobati dengan serum mencit normal, bukan antibodi primer tidak menunjukkan indikasi imunoreaktivitas. Semua bagian dilihat dan difoto di bawah Zeiss Axiophot 20 Microscope (Zeiss, Jena, Germany) yang dilengkapi dengan kamera digital Zeiss AxioCam yang terhubung dengan komputer Windows menggunakan perangkat lunak pemrosesan pencitraan Axiovision (Osman *et al.*, 2019)

Lampiran 5. Hasil Analisis Statistik**Descriptives
Kadar BNP**

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Diet Tinggi Kalori	6	6.0000	1.50599	.61482	4.4196	7.5804	4.20	7.80
Latihan Kontinu intensitas Sedang	6	5.4167	2.09324	.85456	3.2199	7.6134	2.40	7.50
DTK Intermitten	6	4.6667	1.00532	.41542	3.6116	5.7217	3.10	6.00
DTK Intermitten+Lat KIS	6	6.2667	1.54359	.63017	4.6466	7.8866	4.40	8.40
Total	24	5.5875	1.60524	.32767	4.9097	6.2653	2.40	8.40

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a	Shapiro-Wilk		Statistic			Sig.
		Statistic	df	Statistic	df	Sig.	
Kadar BNP	Diet Tinggi Kalori	.225	6	.200	6	.876	.252
	Latihan Kontinu intensitas Sedang	.261	6	.200	6	.881	.275
	DTK Intermitten	.233	6	.200	6	.935	.617
	DTK Intermitten+Lat KIS	.310	6	.074	6	.874	.242

Test of Homogeneity of Variances**Kadar BNP**

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.549	3	20	.233

ANOVA**Kadar BNP**

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.051	3	3.017	1.202	.335
Within Groups	50.215	20	2.511		
Total	59.266	23			

Diameter Kardiomost

95% Confidence Interval for Mean

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
Diet Tinggi Kalori	6	27,93850	5,645106	2,304605	22,01432	33,86258	19,073	34,430
Latihan Kontrol Intensitas Sedang	5	25,28258	5,137251	3,730271	15,49362	34,67155	16,803	42,298
DTK Intermiten	6	20,99479	11,799101	4,816963	8,61239	33,37718	10,087	39,407
DTK Intermiten+Lat. KIS	6	24,52233	5,898433	2,408025	18,33231	30,71236	14,493	30,690
Total	24	24,53455	8,322571	1,698838	21,12024	28,14886	10,087	42,298

Tests of Normality

Diameter Kardiomost	Normal	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diet Tinggi Kalori		,144	6	,200	,961	6	,825
Latihan kontrol intensitas Sedang		,285	6	,112	,822	6	,093
DTK Intermiten		,268	6	,200	,853	6	,198
DTK Intermiten+Lat. KIS		,293	6	,118	,882	6	,329

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Kardiomost

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,895	3	20	,163

ANOVA

Diameter Kardiomost

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	146,264	3	48,755	,674	,578
Within Groups	1446,835	20	72,342		
Total	1593,099	23			