

TESIS

**PENGARUH LATIHAN RENANG INTENSITAS RINGAN DAN BERAT
TERHADAP PANJANG TULANG, TINGGI DAN JUMLAH SEL
KONDROSIT LEMPENG EPIFISE TIBIA
TIKUS PUTIH JANTAN USIA PERTUMBUHAN**

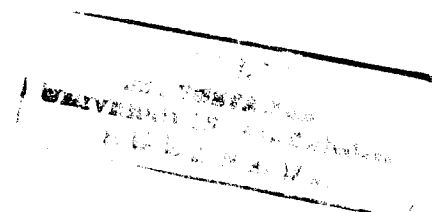
Penelitian Eksperimental Laboratoris

KK
TKO 03 07
Pur
P



DANIK AGUSTIN PURWANTININGRUM

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**



TESIS

**PENGARUH LATIHAN RENANG INTENSITAS RINGAN DAN BERAT
TERHADAP PANJANG TULANG, TINGGI DAN JUMLAH SEL
KONDROSIT LEMPENG EPIFISE TIBIA
TIKUS PUTIH JANTAN USIA PERTUMBUHAN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris



DANIK AGUSTIN PURWANTININGRUM

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

**PENGARUH LATIHAN RENANG INTENSITAS RINGAN DAN BERAT
TERHADAP PANJANG TULANG, TINGGI DAN JUMLAH SEL
KONDROSIT LEMPENG EPIFISE TIBIA
TIKUS PUTIH JANTAN USIA PERTUMBUHAN**

Penelitian Eksperimental Laboratoris

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga

Oleh :

DANIK AGUSTIN PURWANTININGRUM

NIM. 090415417 / M

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2006**

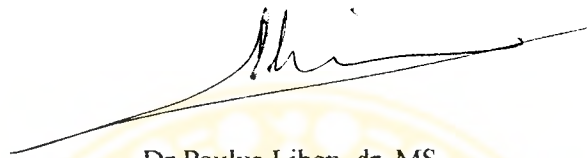
iii

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 7 AGUSTUS 2006

Oleh :

Pembimbing Ketua



Dr Paulus Liben, dr, MS

NIP. 130 531 788

Pembimbing

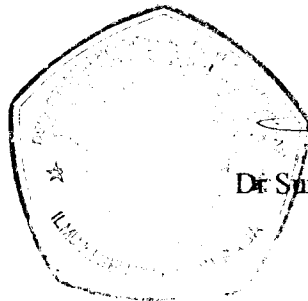


Dr Anwar Ma'ruf, drh, MKes

NIP. 132 049 017

Mengetahui :

Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Dr Sunarko Setyawan, dr, MS

NIP. 131 949 832

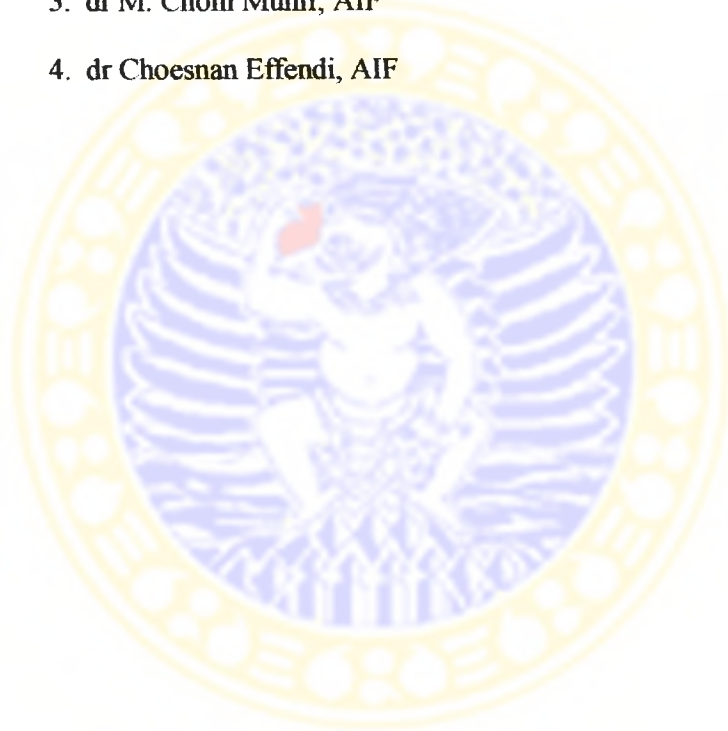
Diuji pada

Tanggal : 9 Agustus 2006

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dr Sunarko Setyawan dr, MS

Anggota : 1. Dr Paulus Liben dr, MS
2. Dr Anwar Ma'ruf drh, MKes
3. dr M. Cholil Munif, AIF
4. dr Choesnan Effendi, AIF



UCAPAN TERIMA KASIH

Syukur Alhamdulillah, hanya dengan rahmat Alloh SWT yang Maha Pengasih yang telah memberikan berkahNya dan kemudahan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sedalamnya saya sampaikan kepada Dr Paulus Liben, dr, MS sebagai Pembimbing Ketua yang ditengah kesibukan beliau masih berkenan meluangkan waktu dengan penuh kesabaran dan ketelitian telah memberi dorongan dan bimbingan yang sangat berharga selama pembuatan tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sedalamnya saya sampaikan kepada Dr Anwar Ma'ruf, drh, Mkes sebagai pembimbing yang dengan penuh perhatian telah memberi masukan, bantuan, dan bimbingan yang sangat berharga selama pembuatan tesis ini.

Ucapan terimakasih yang sedalamnya juga saya sampaikan kepada Dr Sunarko Setyawan, dr, MS sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga yang telah banyak memberikan semangat, perhatian, dan bimbingan semenjak awal kuliah sampai dengan penyelesaian tesis ini.

Menyadari bahwa tesis ini tidak mungkin terwujud tanpa bantuan dan peran berbagai pihak maka ucapan terima kasih yang setulusnya saya sampaikan kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. HM Fasich dan mantan rektor Prof.Dr.Med.Puruhito, dr, SpBTKV, serta Direktur Program Studi Pascasarjana Universitas Airlangga Prof.Dr.H.Muhammad Amin, dr, SpP yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan di Program Magister ini.
2. Rektor Universitas Brawijaya Prof Dr Ir Bambang Guritno dan mantan rektor Prof Dr. Eka Afnan Troena SE, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dr Harjanto MSPH , Kepala Laboratorium Anatomi Histologi Universitas Brawijaya

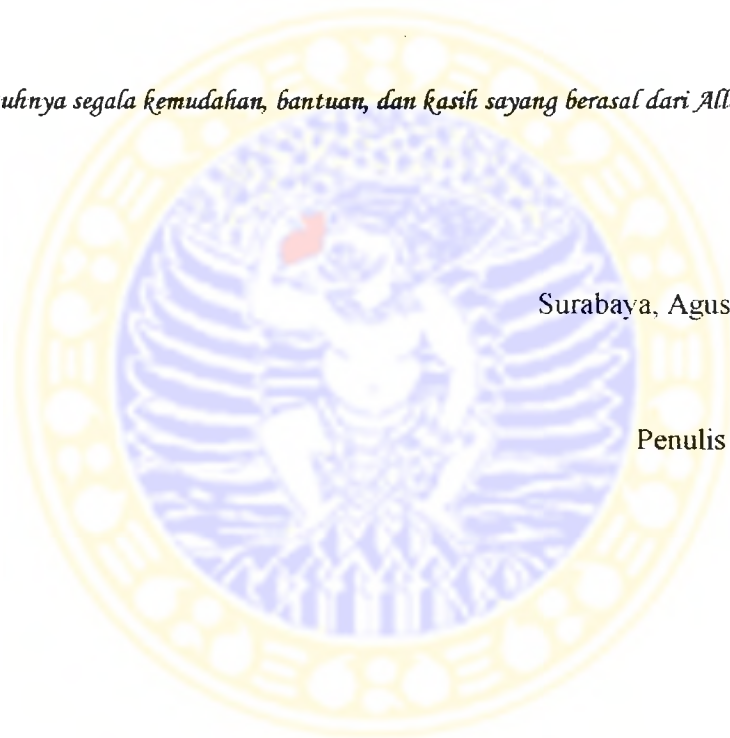
dr Onggung Napitupulu MKes dan mantan Kepala Laboratorium Anatomi Histologi dr Subandi MKes, DAHK yang telah memberikan ijin untuk menempuh pendidikan di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

3. Kepala Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang, Kepala Laboratorium Patologi Umum Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan ijin untuk menggunakan fasilitas laboratorium dalam rangka pelaksanaan penelitian.
4. Seluruh staf pengajar dan karyawan di Bagian Ilmu Kesehatan Olahraga Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah banyak membantu semenjak awal kuliah sampai dengan penyelesaian tesis ini.
5. dr Pudjo Sanjoto MKes, dr Subandi MKes, DAHK selaku staf pengajar Laboratorium Anatomi Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah banyak membantu memberi masukan untuk penyusunan tesis ini.
6. Teman-teman yang banyak terlibat langsung dalam penelitian ini : Mas Aries Sandy yang telah membantu dalam perawatan hewan coba, Bu Nurul Mahmudati, MKes yang telah banyak memberi bantuan dan semangat selama penyusunan tesis ini, Yulian Wiji Utami, SKp atas kerjasama kita yang sangat baik sehingga memberikan semangat kerja selama ini, beserta suami Mas Sudarsono ST yang telah membantu dalam pembelajaran program komputer.
7. Teman-teman S-2 Ilmu Kesehatan Olahraga : Pak Pardjiono SPd, Pak Arief Bulqini SPd, Pak Sholeh SS, dan Yulian Wiji Utami SKp, terimakasih atas kebersamaan dan kekompakan kita sehingga memberi warna ceria selama ini.
8. Kedua orangtua, dr Supardan SpBK dan ibu Soepadmini BA yang telah mendidik dan senantiasa tiada hentinya mendoakan saya. Terima kasih tak terhingga kepada bapak dan ibu tercinta.

9. Suamiku tersayang Bronto Widodo ST, terimakasih sedalamnya atas segala yang telah diberikan selama ini dengan tulus melebihi ungkapan kata-kata.
10. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung selama masa pendidikan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhirnya dengan segenap kerendahan hati, penulis sebagai manusia biasa mohon maaf atas segala kekurangan, serta mohon kritik dan saran demi kesempurnaan penyusunan tesis ini.

“Sesungguhnya segala kemudahan, bantuan, dan kasih sayang berasal dari Alloh SWT”



Surabaya, Agustus 2006

Penulis

RINGKASAN

**Pengaruh Latihan Renang Intensitas Ringan Dan Berat
terhadap Panjang Tulang, Tinggi, dan Jumlah
Sel Kondrosit Lempeng Epifise Tibia
Tikus Putih Jantan Usia Pertumbuhan**

Danik Agustin Purwantiningrum

Pertumbuhan memanjang tulang terjadi pada lempeng epifise tulang panjang dan ditentukan oleh aktivitas kondrosit didalamnya. Pada tempat tersebut, kartilago dibentuk melalui proliferasi dan hipertrofi kondrosit serta sintesis matriks ekstraseluler, sehingga pertumbuhan memanjang tulang dan dalam hal ini tinggi tubuh, merupakan hasil dari proliferasi dan hipertrofi kondrosit pada lempeng epifise.

Aktivitas lempeng pertumbuhan dikendalikan oleh beberapa faktor diantaranya yaitu genetik, endokrin, parakrin atau autokrin. Beberapa hormon berperan penting untuk pertumbuhan memanjang tulang yang normal, namun telah diketahui secara umum bahwa *Growth Hormone* (GH) merupakan hormon utama dalam hal ini. Sekresi *Growth Hormone* dipengaruhi oleh banyak faktor dan latihan fisik dengan intensitas yang tepat

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan intensitas renang terhadap panjang tulang, jumlah dan tinggi sel kondrosit lempeng epifise, serta hubungan antara intensitas renang dengan peningkatan panjang tulang. Studi ini menggunakan desain *separate sample pretest-posttest control group* yang terdiri dari 28 ekor tikus putih jantan, umur 3 minggu. Hewan coba secara acak dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 2 kelompok perlakuan, 1 kelompok kontrol *pretest*, dan 1 kelompok kontrol *posttest*. Kelompok perlakuan pertama adalah kelompok renang intensitas rendah dengan beban 3% BB, dan kelompok perlakuan kedua adalah kelompok renang intensitas berat dengan beban 9% BB. Latihan diberikan tiga kali seminggu selama 6 minggu.

Pengamatan secara histomorfometri dilakukan pada tulang tibia setelah dibersihkan, difiksasi, didekalsifikasi, direndam dalam paraffin, dipotong sejajar dengan sumbu panjang tulang setipis 6 μ , dan dicat dengan Haematoxylin-Eosin. Panjang tulang diukur menggunakan caliper sedangkan jumlah dan tinggi sel diukur berdasarkan foto menggunakan kamera digital yang dipasang pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali, dan dianalisa dengan program *Adobe photoshop 7.0*. Data dianalisa menggunakan analisa *multivariate analysis of variance* (MANOVA) dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa renang intensitas ringan dan berat meningkatkan panjang tulang, jumlah dan tinggi sel kondrosit lempeng epifise pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol *posttest*, namun peningkatan lebih tinggi terjadi pada kelompok renang intensitas berat. Panjang tulang pada intensitas ringan 31,91 \pm 1,32 mm, intensitas berat 35,02 \pm 0,96 mm, sedangkan kontrol *posttest* 30,17 \pm 0,99 mm. Tinggi kondrosit pada intensitas ringan 70,14 \pm 2,21 μ m, intensitas berat 81,22 \pm 1,88 μ m, dan kontrol *posttest* 57,02 \pm 0,95 μ m. Jumlah kondrosit pada intensitas ringan 9,41 \pm 0,34 sel/10⁴ μ m², intensitas berat 10,67 \pm 0,32 sel/10⁴, dan pada kontrol *posttest* 8,39 \pm 0,24 cells/10⁴ μ m².

Analisa lebih lanjut dengan Manova menunjukkan perbedaan yang bermakna pada panjang tulang, jumlah dan tinggi sel kondrosit diantara kelompok perlakuan. Hasil uji diskriminan mengungkapkan bahwa tinggi dan jumlah kondrosit memberikan kontribusi yang bermakna terhadap perbedaan tersebut. Uji korelasi membuktikan bahwa terdapat korelasi positif antara jumlah dan tinggi sel kondrosit dengan panjang tulang, dan antara intensitas latihan renang dengan panjang tulang.

Penelitian ini telah membuktikan bahwa latihan renang dengan intensitas yang tepat dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah dan tinggi sel kondrosit lempeng epifise tibia, dan terdapat korelasi positif antara jumlah dan tinggi sel kondrosit dengan panjang tulang, serta antara intensitas latihan renang dengan panjang tulang.



SUMMARY

The Effect of Low and High Swimming Intensity on Bone Length, Cell Height and Cell Numbers of Tibial Epiphyseal Plate Chondrocytes in Male White Rats during Growth Period

Danik Agustin Purwantiningrum

Longitudinal bone growth occurs at the epiphyseal plate of the long bone and chondrocyte activities within growth plate cartilage are the principal determinant of it. At this site, cartilage is formed by the proliferation and hypertrophy of chondrocytes and synthesis of the extracellular matrix, so longitudinal bone growth, and hence stature, are functions of epiphyseal plate chondrocyte proliferation and hypertrophy.

The growth plate activity is in turn subject to regulation by a number of factors, which might be of genetic, endocrine, paracrine, or autocrine origin. Several hormones are important for normal longitudinal bone growth, but it is generally accepted that *Growth Hormone* (GH) is the most important hormone in this respect. *Growth Hormone* secretion can be altered by many factors and exercise in appropriate intensity has long been recognized as a potent physiological stimulus of GH secretion.

This research was conducted to evaluate the effects of different intensity of swimming on bone length, cell numbers, and cell height of tibial epiphyseal plate chondrocytes, and the correlations between chondrocyte numbers and height with bone length, and between the intensity of swimming and bone length. This study used separate sample pretest-posttest control group design, consisting of 28 males white rats, 3 weeks old. They were randomly divided into 4 groups which is 2 groups of treatment, 1 control pretest group and 1 control posttest group. The 1st treatment was low swimming intensity group loaded with weight 3% of body weight, and the 2nd treatment was high swimming intensity group loaded with weight 9% of body weight. Training was given three times a week for 6 weeks.

Histomorphometric study was taken on tibial bone after dissected, fixed, decalcified, embedded in paraffin, cut parallel with bone longitudinal axis into 6 μ sections, and stained with Haematoxylin-Eosin. Bone length was measured using a caliper while cell numbers and height were measured through photomicrographs sections using digital camera-light microscope, taken at 400 x magnification, and analyzed with software *Adobe photoshop 7.0*. Data were analyzed using multivariate analysis of variance (Manova) with significance level of 95%.

The results showed that low and high swimming intensity increased bone length, cell numbers, and cell height of tibial epiphyseal plate chondrocytes in treatment group, compared to posttest control group. However, high swimming intensity exhibited more bone length, cell height and cell numbers compared with low intensity. Bone length in low intensity was $31,91 \pm 1,32$ mm, in high intensity was $35,02 \pm 0,96$ mm, and in posttest control group was $30,17 \pm 0,99$ mm. Chondrocyte height in low intensity was $70,14 \pm 2,21$ μ m, in high intensity was $81,22 \pm 1,88$ μ m, and in posttest control group was $57,02 \pm 0,95$ μ m. Chondrocyte numbers in low intensity was $9,41 \pm 0,34$ cells/ 10^4 μ m², in high intensity was $10,67 \pm 0,32$ cells/ 10^4 μ m², while in posttest control group was $8,39 \pm 0,24$ cells/ 10^4 μ m².

Further analysis using Manova showed that there were significant differences in bone length, cell numbers, and cell height among the treatments. The discriminant test revealed that chondrocyte height and numbers given a significant contribution in making differences between the two groups. The correlation test had proved that there was a positive correlation between cell numbers and cell height with bone length, and between the intensity of swimming and bone length.

This study had proved that swimming in appropriate intensity might increased bone length, cell numbers, and cell height of tibial epiphyseal plate chondrocytes. Indeed, there was a positive correlation between chondrocyte numbers and height with bone length, and between the intensity of swimming and bone length.



ABSTRACT

The Effect of Low and High Swimming Intensity on Skeletal Length, Cell Height and Cell Numbers of Tibial Epiphyseal Plate Chondrocytes in Male White Rats during Growth Period

Danik Agustin Purwantiningrum

Longitudinal bone growth, which is represented by bone length, chondrocyte height and its numbers is influenced by several factors and one of them is exercise. This study was conducted to evaluate the effects of low and high intensity swimming exercise on skeletal length, cell height, and cell numbers of tibial epiphyseal plate chondrocytes. This study used separate sample pretest-posttest control group design, consisting of 28 males white rats, 3 weeks old. They were randomly divided into 4 groups which is 2 groups of treatment, 1 control pretest group and 1 control posttest group. The 1st treatment was low intensity group, loaded with weight 3% of body weight, and the 2nd treatment was high intensity group, loaded with weight 9% of body weight. Treatments were given three times a week for 6 weeks.

Histomorphometric study was taken on tibial bone after dissected and stained with Haematoxylin-Eosin. Bone length was measured using a caliper while cell numbers and cell height were measured through photomicrographs sections using digital camera-light microscope, taken at 400 x magnification, and analyzed with software *Adobe photoshop 7.0*.

The results showed that low and high swimming intensity increased bone length, cell numbers, and cell height of tibial epiphyseal plate chondrocytes in treatment group, compared to posttest control group. Further analysis using Manova showed that there was a significant difference among independent variables between low and high swimming intensity groups. The correlation test proved that there was a positive correlation between cell numbers and cell height with bone length, and between the intensity of swimming and bone length.

This study had proved that swimming in appropriate intensity might increase bone length, chondrocyte numbers, and chondrocyte height of tibial epiphyseal plate. Indeed, there was a positive correlation between chondrocyte numbers and height with bone length, and between the intensity of swimming and bone length.

Keyword : *Swimming intensity, bone length, epiphyseal plate chondrocytes*

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Persetujuan.....	iv
Penetapan Panitia Penguji.....	v
Ucapan Terima Kasih.....	vi
Ringkasan.....	ix
Summary.....	xi
Abstract.....	xiii
DAFTAR ISI.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
DAFTAR TABEL.....	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
DAFTAR SINGKATAN.....	xxi
 BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Struktur Anatomi Tulang Panjang.....	5
2.2 Pertumbuhan Tulang Panjang.....	6
2.2.1 Pertumbuhan tebal tulang (<i>appositional bone growth</i>).....	7
2.2.2 Pertumbuhan memanjang tulang (<i>longitudinal bone growth</i>).....	7
2.3 Regulasi Pertumbuhan Tulang.....	9
2.3.1 Faktor hormonal.....	9
2.3.2 Faktor lokal.....	10
2.3.3 Nutrisi.....	11

2.3.4 Latihan Fisik.....	11
2.4 <i>Growth Hormone</i> (GH).....	12
2.4.1 Struktur GH.....	12
2.4.2 Fungsi fisiologis GH.....	12
2.4.3 Sekresi GH.....	13
2.4.4 Mekanisme sekresi GH pada latihan fisik.....	14
2.5 Struktur Kimia dan Sekresi Insulin-like Growth Factor I (IGF-I).....	15
2.6 Peran GH dan IGF-I dalam Pertumbuhan Memanjang Tulang.....	16
2.6.1 Peran GH dalam pertumbuhan memanjang tulang.....	16
2.6.2 Peran IGF-I dalam pertumbuhan memanjang tulang.....	18
2.7 Struktur Histologi Lempeng Epifise.....	19
2.7.1 Kondrosit.....	19
2.7.2 Matriks ekstraseluler (<i>extracellular matrix/ECM</i>).....	22
2.7.3 Interaksi sel dengan matriks ekstraseluler.....	23
2.8 Integrin.....	24
2.8.1 Struktur dan fungsi integrin.....	24
2.8.2 Alur transduksi sinyal integrin.....	25
2.8.3 Interaksi integrin dengan faktor pertumbuhan.....	27
2.9 Latihan Fisik.....	28
2.9.1 Definisi	28
2.9.2 Dosis latihan.....	28
2.9.3 Latihan fisik dan sekresi GH.....	29
2.10 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) strain Wistar.....	31
 BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual.....	33
3.2 Hipotesis Penelitian.....	35
 BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	36
4.2 Sampel, Besar Sampel dan tehnik Pengambilan Sampel.....	37
4.3 Variabel Penelitian.....	38

4.3.1 Variabel bebas.....	38
4.3.2 Variabel tergantung.....	38
4.3.3 Variabel kendali.....	38
4.3.4 Variabel moderator.....	38
4.3.5 Definisi operasional variabel.....	38
4.4 Bahan dan Alat Penelitian.....	40
4.4.1 Bahan penelitian.....	40
4.4.2 Alat penelitian.....	41
4.5 Prosedur Penelitian.....	41
4.5.1 Aklimatisasi.....	41
4.5.2 Pembagian kelompok hewan coba.....	41
4.5.3 Penimbangan berat badan.....	42
4.5.4 Pengambilan data <i>pretest</i>	42
4.5.5 Penentuan waktu renang maksimal.....	42
4.5.6 Penentuan waktu renang kelompok perlakuan.....	43
4.5.7 Penentuan program latihan.....	43
4.5.8 Pembiusan hewan coba.....	45
4.5.9 Pengukuran panjang tulang.....	45
4.5.10 Pembuatan sediaan histologi dan pewarnaan.....	45
4.5.11 Penghitungan jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi lempeng epifise.....	45
4.5.12 Pengukuran tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.....	47
4.5.13 Waktu perlakuan.....	48
4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	48
4.6.1 Lokasi penelitian.....	48
4.6.2 Waktu penelitian.....	48
4.7 Analisis Data.....	48
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1 Hasil Uji Normalitas.....	50
5.2 Hasil Uji Homogenitas.....	51

5.3 Hasil Analisis Variabel Moderator.....	51
5.3.1 Hasil analisis deskriptif variabel moderator.....	51
5.3.2 Hasil analisis Anova dan LSD variabel moderator berat badan akhir	52
5.4 Hasil Analisis Variabel Tergantung.....	52
5.4.1 Hasil analisis deskriptif variabel tergantung.....	52
5.4.2 Hasil analisis Manova variabel tergantung.....	53
5.5 Efek Maturasi.....	54
5.6 Hasil Analisis Peningkatan Variabel Tergantung sebagai Respon terhadap Perlakuan.....	55
5.6.1 Hasil analisis deskriptif peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	55
5.6.2 Hasil analisis Manova peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	56
5.6.3 Hasil analisis diskriminan peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	57
5.6.4 Penentuan pola kontribusi variabel pembeda terhadap perlakuan.....	58
5.7 Uji Korelasi.....	60
5.7.1 Korelasi latihan renang dengan peningkatan panjang tulang.....	60
5.7.2 Korelasi tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan panjang tulang.....	60
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Pembahasan Metode Penelitian.....	62
6.2 Pembahasan Hasil Penelitian.....	64
6.2.1 Pembahasan hasil analisis variabel moderator.....	64
6.2.2 Pembahasan hasil analisis variabel tergantung.....	64
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	71
7.2 Saran.....	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	78

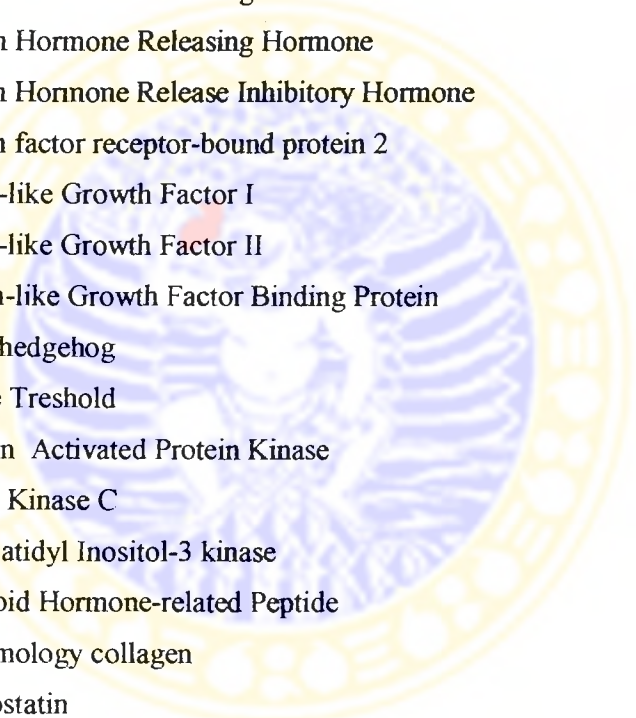
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur tulang panjang.....	6
Gambar 2.2 Pertumbuhan memanjang dan <i>remodeling</i> tulang.....	8
Gambar 2.3 Interaksi faktor lokal dalam proliferasi dan differensiasi Kondrosit.....	11
Gambar 2.4 Skema interaksi GH dan IGF-I pada pertumbuhan memanjang tulang.....	18
Gambar 2.5 Letak lempeng epifise pada tulang panjang.....	19
Gambar 2.6 Pembagian zona pada lempeng epifise.....	22
Gambar 2.7 Interaksi protein ECM dengan integrin.....	25
Gambar 2.8 Skema alur transduksi sinyal integrin.....	26
Gambar 2.9 Struktur kerangka tulang tikus.....	32
Gambar 4.1 Cara pemberian beban pada hewan coba.....	43
Gambar 4.2 Perlakuan renang pada hewan coba.....	44
Gambar 4.3 Penentuan lokasi penghitungan jumlah sel.....	46
Gambar 4.4 Skema alur kerja penelitian.....	49
Gambar 5.1 Diagram batang rerata variabel tergantung.....	53
Gambar 5.2 Diagram batang rerata peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	56
Gambar 5.3 Diagram batang kontribusi peningkatan tinggi dan jumlah sel sebagai respon terhadap perlakuan.....	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Hasil uji normalitas.....	50
Tabel 5.2 Hasil uji homogenitas.....	51
Tabel 5.3 Nilai rerata dan SD variabel moderator pada seluruh kelompok	51
Tabel 5.4 Hasil analisis Anova variabel moderator berat badan akhir.....	52
Tabel 5.5 Hasil analisis LSD variabel moderator berat badan akhir.....	52
Tabel 5.6 Nilai rerata dan SD variabel tergantung pada seluruh kelompok	53
Tabel 5.7 Tes multivariat variabel tergantung.....	53
Tabel 5.8 Tes univariat variabel tergantung.....	54
Tabel 5.9 Efek maturasi.....	54
Tabel 5.10 Nilai rerata dan SD peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	55
Tabel 5.11 Tes multivariat peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	56
Tabel 5.12 Tes univariat peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	57
Tabel 5.13 Hasil uji diskriminan peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan.....	57
Table 5.14 Hasil analisis <i>Stepwise statistics</i>	58
Tabel 5.15 Kontribusi rerata peningkatan tinggi dan jumlah sel menurut kelompok.....	59
Tabel 5.16 Koefisien fungsi diskriminan.....	59
Tabel 5.17 Nilai koefisien korelasi latihan renang dengan peningkatan panjang tulang.....	60
Tabel 5.18 Nilai koefisien korelasi tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan panjang tulang.....	60

DAFTAR SINGKATAN



BMP	:	Bone Morphogenic Protein
ECM	:	Extracellular Matrix
FAC	:	Focal Adhesion Complex
FAK	:	Focal Adhesion Kinase
FGF	:	Fibroblast Growth Factor
GH	:	Growth Hormone
GHR	:	Growth Hormone Receptor
GHRF	:	Growth Hormone Releasing Factor
GHRH	:	Growth Hormone Releasing Hormone
GHRH	:	Growth Hormone Release Inhibitory Hormone
Grb-2	:	Growth factor receptor-bound protein 2
IGF-I	:	Insulin-like Growth Factor I
IGF-II	:	Insulin-like Growth Factor II
IGFBP	:	Insulin-like Growth Factor Binding Protein
Ihh	:	Indian hedgehog
LT	:	Lactate Treshold
MAPK	:	Mitogen Activated Protein Kinase
PKC	:	Protein Kinase C
PI-3kinase	:	Phosphatidyl Inositol-3 kinase
PTHrP	:	Paratiroid Hormone-related Peptide
Shc	:	Src-homology collagen
SS	:	Somatostatin
SRIH	:	Somatotropin Release Ihibitory Hormone
VEGF	:	Vascular Endothelial Growth Factor

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Proporsi tubuh secara umum ditentukan oleh ukuran tulang (Lecointre, 1997), sedangkan penambahan tinggi badan disebabkan oleh pertumbuhan tulang terutama tulang panjang (Brooks, 1985). Selain dapat membawa dampak psikososial, tinggi badan juga memegang peranan penting pada beberapa cabang olahraga (Eerden, 2003). Terdapat korelasi positif antara tinggi tubuh dengan kinerja seorang atlet. Tinggi tubuh pada cabang olahraga tertentu dapat mempengaruhi penampilan seorang atlet (Berger 1982).

Penelitian Sivan (1989) telah membuktikan bahwa renang mempunyai efek positif terhadap pertumbuhan dan perkembangan tulang pada tikus muda. Berdasarkan pengamatan Taaffe (1995), atlet renang mempunyai tinggi badan lebih dibanding dengan atlet senam dan non atlet. Penelitian tentang pengaruh latihan renang terhadap pertumbuhan panjang tulang pada tikus juga telah dilakukan dengan menggunakan desain penelitian dan pendekatan berbeda (Rahayu, 2005), namun belum mengungkapkan mekanisme pertumbuhan panjang tulang tersebut.

Pertumbuhan memanjang tulang terjadi pada lempeng epifise melalui proses ossifikasi *endochondral* dan berlangsung sampai akhir usia pubertas. Proses tersebut terdiri dari dua tahap yang diawali dengan pembentukan kartilago (*chondrogenesis*), dan diteruskan dengan *remodeling* kartilago menjadi tulang (ossifikasi) (Hunziker, 1994). Ossifikasi *endochondral* berperan penting dalam pertumbuhan memanjang

tulang, dimana hal tersebut ditentukan oleh aktifitas proliferasi dan hipertrofi kondrosit pada lempeng epifise (Robson, 1999).

Pertumbuhan tulang dipengaruhi oleh faktor eksogen seperti nutrisi dan aktifitas fisik maupun oleh faktor endogen yaitu genetik, hormon dan faktor pertumbuhan (Nilsson, 1994). Hormon Pertumbuhan (*Growth Hormone/GH*) merupakan hormon utama yang merangsang aktifitas lempeng epifise selama masa pre pubertas (Marieb, 2001). *Growth Hormone* merangsang proliferasi serta hipertrofi kondrosit baik secara langsung, maupun secara tidak langsung melalui perantara IGF-I (*Insulin-like growth factor I*) (Wang, 2004).

Latihan fisik dengan intensitas yang tepat merupakan perangsang fisiologis yang potensial terhadap sekresi GH. Intensitas latihan memegang peranan utama dalam mekanisme pengeluaran GH karena latihan. Terdapat hubungan linear antara kadar pengeluaran GH dengan intensitas latihan (Wideman, 2002), bahkan latihan dengan intensitas yang sangat berat dapat meningkatkan kadar GH (Guyton, 2004).

Berdasarkan hal tersebut diatas maka penelitian ini menggunakan pendekatan histomorfometri untuk mengetahui perbedaan pengaruh latihan renang intensitas ringan dan intensitas berat terhadap pertumbuhan panjang tulang, melalui mekanisme proliferasi dan hipertrofi kondrosit pada lempeng epifise. Sebagai hewan coba digunakan tikus putih jantan usia pertumbuhan, sedangkan beberapa parameter *representatif* yang digunakan yaitu panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah latihan renang intensitas ringan dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise ?
2. Apakah latihan renang intensitas berat dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise ?
3. Apakah latihan renang intensitas berat lebih meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, dan tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise dibandingkan latihan renang intensitas ringan ?
4. Apakah terdapat hubungan antara peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan peningkatan panjang tulang ?
5. Apakah terdapat hubungan antara intensitas latihan renang dengan peningkatan panjang tulang ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan bahwa latihan renang intensitas ringan dan berat dapat meningkatkan panjang tulang, tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi dan jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi lempeng epifise, serta mengetahui mekanisme peningkatan panjang tulang pada latihan renang.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Membuktikan bahwa latihan renang intensitas ringan dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
2. Membuktikan bahwa latihan renang intensitas berat dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
3. Membuktikan bahwa latihan renang intensitas berat lebih meningkatkan panjang tulang, jumlah kondrosit pada zona proliferasi, dan tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise dibandingkan latihan renang intensitas ringan.
4. Membuktikan bahwa terdapat hubungan antara peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan peningkatan panjang tulang.
5. Membuktikan bahwa terdapat hubungan antara intensitas latihan renang dengan peningkatan panjang tulang.
6. Menentukan pola urutan perubahan dan pola kontribusi variabel tergantung untuk menjelaskan mekanisme peningkatan panjang tulang pada latihan renang intensitas ringan dan berat.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mengembangkan latihan fisik yang tepat untuk meningkatkan pertumbuhan panjang tulang sehingga dapat dicapai pertumbuhan panjang yang optimal, khususnya bagi anak dan atlet usia pertumbuhan.
2. Menjelaskan mekanisme peningkatan panjang tulang pada latihan renang intensitas ringan dan berat.

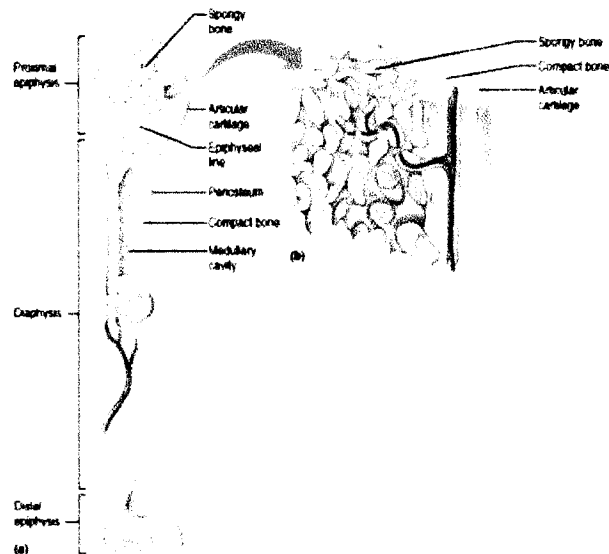
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Struktur Anatomi Tulang Panjang

Berdasarkan bentuknya tulang dibedakan menjadi 4 macam, yaitu tulang panjang, tulang pendek, tulang pipih, dan tulang tidak beraturan. Masing-masing jenis tulang tersebut disusun oleh substansia kompakta yang padat (*cortical bone*) dan substansia spongiosa yang berongga seperti busa pada lapisan dalamnya (*trabecular bone*) (Salter, 1999).

Struktur makroskopis tulang panjang dibagi menjadi beberapa bagian yaitu epifise, lempeng epifise, metafise, dan diafise. Epifise adalah daerah yang terletak diantara lempeng epifise dan ujung tulang, dilapisi oleh kartilago artikularis. Epifise pada tulang yang *matur* sebagian besar terdiri dari substansia spongiosa dan selapis tipis substansia kompakta. Disebelah distal epifise terdapat lempeng epifise yang memisahkan epifise dengan metafise. Lempeng epifise adalah tempat ossifikasi *endochondral* pada tulang yang sedang aktif tumbuh, dan akan berubah menjadi garis epifise pada tulang yang telah berhenti tumbuh. Metafise adalah daerah perbatasan antara lempeng epifise dengan diafise. Metafise dibentuk terutama oleh substansia spongiosa dengan lapisan tipis substansia kompakta. Diafise yaitu badan tulang yang terletak pada bagian tengah tulang, diantara kedua ujung metafise, dibentuk terutama oleh substansia kompakta. Di dalam diafise terdapat *cavum medulla* yang berisi sumsum tulang dan sedikit substansia spongiosa (Junqueira, 2003).



Gambar 2.1 : Struktur tulang panjang
(Marieb, 2001)

2.2 Pertumbuhan Tulang Panjang

Selama masa bayi sampai remaja, tulang panjang bertambah panjang dan ketebalan atau diameternya. Pemanjangan tulang (*longitudinal bone growth*) terjadi melalui pertumbuhan intersisial (*interstitial growth*) pada lempeng epifise, sedangkan pertumbuhan diameter atau tebal tulang disebabkan oleh penambahan lapisan tulang baru oleh osteoblast dari periosteum yang disebut dengan pertumbuhan apposisi (*appositional growth*) (Junqueira, 2003).

Pertumbuhan memanjang tulang terjadi pada lempeng epifise, dimulai sejak usia janin 2 bulan dan berakhir ketika kartilago pada lempeng epifise mulai berubah menjadi tulang dan menyatu dengan diafise. Proses tersebut disebut sebagai penutupan lempeng epifise yang terjadi pada usia kurang lebih 18 tahun pada wanita dan 21 tahun pada pria. Pertumbuhan tulang selanjutnya hanyalah penambahan diameter atau tebal tulang saja yang dirangsang oleh aktifitas otot atau berat tubuh (Marieb, 2001).

2.2.1 Pertumbuhan menebal tulang (*Appositional Bone Growth*)

Pada masa pertumbuhan, penambahan tebal tulang panjang terjadi bersama dengan pertumbuhan memanjang. Dalam hal ini, *bone lining* dalam *cavum medulla* dirusak oleh osteoklast dari permukaan endosteum diafise sehingga diameter *cavum* bertambah lebar. Pada saat yang sama, osteoblast dari periosteum mensekresi matriks tulang pada permukaan luar tulang. Pada awalnya, ossifikasi diafise dan epifise membentuk tulang spongiosa, kemudian melalui proses *remodeling*, bagian luar dari tulang spongiosa dibentuk menjadi tulang kompakta (Tortora, 1992).

2.2.2 Pertumbuhan memanjang tulang (*Longitudinal / Interstitial Bone Growth*)

Pertumbuhan *interstitial* yaitu pembentukan jaringan kartilago baru diantara jaringan kartilago yang telah ada. Kondrosit membelah dan mensekresi matriks pada lakuna. Jenis pertumbuhan ini berhubungan dengan proses ossifikasi *endochondral* (Voleti, 2004).

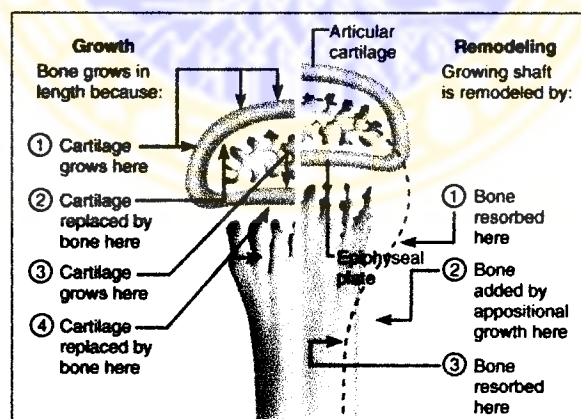
Ossifikasi *endochondral* yaitu proses penulangan dengan kartilago hialin sebagai model yang kemudian digantikan oleh tulang (Fawcett, 1994). Proses tersebut terdiri dari dua tahap yang diawali dengan pembentukan kartilago (*chondrogenesis*), dan diteruskan dengan *remodeling* kartilago menjadi tulang (ossifikasi) (Hunziker, 1994). Proses dimulai saat kondrosit pada lempeng epifise mulai proliferasi dan selanjutnya mengalami maturasi serta hipertrofi. Matriks pada daerah hipertrofi menjadi tempat predisposisi kalsium sehingga pada akhirnya terjadi kalsifikasi pada matriks. Kalsifikasi matriks menyebabkan kondrosit degenerasi dan mati, menyisakan lakuna kosong yang dikelilingi oleh matriks yang mengkalsifikasi membentuk septum, yang akan menjadi kerangka dari proses ossifikasi selanjutnya (Junqueira, 2003).

Pembuluh kapiler dan sel osteogenik dari periosteum kemudian menginvasi

ruangan yang ditinggalkan oleh kondrosit yang degenerasi. Sel osteogenik berkembang menjadi osteoblast yang membentuk matriks tulang pada sisa matriks kartilago yang mengkalsifikasi tadi. Dengan cara ini jaringan tulang baru terbentuk pada tempat dimana sebelumnya terdapat kartilago dan secara bertahap kartilago digantikan posisinya oleh tulang baru pada daerah metafise (Fawcett, 1994; Junqueira, 2003).

Ossifikasi *endochondral* berperan penting dalam pertumbuhan memanjang tulang, dimana hal tersebut ditentukan oleh aktifitas proliferasi dan hipertrofi kondrosit pada lempeng epiphyse (Robson, 1999). Proliferasi dan hipertrofi kondrosit pada zona hipertrofi merupakan faktor utama dalam pertumbuhan memanjang tulang (Tortora, 1992; Eerden, 2003).

Pertumbuhan memanjang tulang disertai dengan proses *remodeling* pada ujung epifise untuk menjaga keseimbangan proporsi antara diafise dengan epifise. Proses *remodeling* merupakan proses pembentukan tulang baru yang disertai dengan resorpsi tulang (Marieb, 2001).



Gambar 2.2 : Pertumbuhan memanjang dan *remodeling* tulang (Marieb, 2001)

2.3 Regulasi Pertumbuhan Tulang

Regulasi pertumbuhan tulang *postnatal* merupakan hal yang kompleks. Faktor genetik berperan utama namun dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor lain yaitu hormonal, faktor lokal, nutrisi, serta latihan fisik (Zumerchick, 1997).

2.3.1 Faktor hormonal

Hormon utama yang mempengaruhi pertumbuhan panjang tulang selama masa anak-anak yaitu hormon pertumbuhan (*growth hormone/GH*) bersama IGF-I (*Insulin-like growth factor I*), serta hormon tiroid (T_3 dan T_4), sedangkan selama masa pubertas adalah hormon seks (androgen dan estrogen) (Nilsson, 1994; Zumerchick, 1997).

Growth hormone adalah hormon utama yang berperan dalam pertumbuhan panjang tulang. *Growth hormone* bersama dengan faktor pertumbuhan IGF-I merangsang proliferasi dan differensiasi kondrosit. Rangsangan GH menentukan panjang tulang akhir (Nilsson, 1994).

Hormon tiroid berperan dalam kelangsungan pertumbuhan normal tulang sepanjang hidup. Hormon tiroid merangsang pertumbuhan panjang tulang secara tidak langsung melalui tiga cara yaitu : (1) secara *in vivo*, hormon tiroid merangsang sekresi GH (Coiro, 1979 cit Nilsson, 1994), (2) meningkatkan IGF-I mRNA (Wolf, 1989 cit Nilsson, 1994), dan (3) merangsang produksi IGF-I pada hati (Ikeda, 1989 cit Nilsson, 1994). Secara langsung T_3 merangsang rekrutmen sel kondrosit dari zona germinal beserta differensiasinya, sedangkan T_4 merangsang ekspresi kolagen tipe II dan X, serta hipertrofi kondrosit (Eerden, 2003).

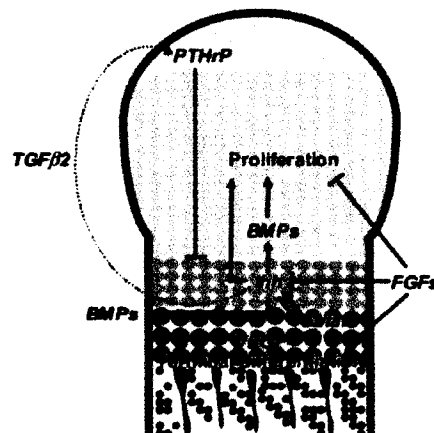
Pada manusia, androgen dan estrogen berperan penting dalam pertumbuhan panjang tulang selama periode percepatan pertumbuhan, serta mempengaruhi fusi lempeng epifise. Hormon seks mempengaruhi sekresi GH pada manusia dan tikus

(Nilsson, 1994). Secara *in vitro*, hormon tersebut merangsang sintesis proteoglikan pada kondrosit lempeng epifise manusia dan produksi IGF-I pada osteoblast manusia (Ernst, 1989 cit Nilsson, 1994).

2.3.2 Faktor lokal

Selain IGF-I, faktor lokal yang mempengaruhi pertumbuhan panjang tulang yaitu : *Indian hedgehog* (Ihh), *paratiroid hormone-related peptide* (PTHrP), *fibroblast growth factor* (FGFs), *bone morphogenic protein* (BMPs), serta *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Eerden, 2003).

Proliferasi serta differensiasi kondrosit memerlukan koordinasi rangsangan Ihh dan BMP. *Indian hedgehog* mengkoordinasi proses ossifikasi *endochondral*, mengatur proliferasi kondrosit, serta differensiasi kondroblast. *Bone morphogenic protein* berperan dalam meregulasi proliferasi kondrosit, ekspresi Ihh, serta proses differensiasi hipertrofi. *Fibroblast growth factor* dan *paratiroid hormone-related peptide* secara independen menghambat differensiasi kondrosit. *Paratiroid hormone-related peptide* menghambat differensiasi kondrosit yang sedang proliferasi menjadi sel yang dapat mensintesa Ihh, sedangkan FGF menghambat proliferasi dan differensiasi kondrosit dengan mempengaruhi ekspresi Ihh. Keseimbangan antara faktor pertumbuhan yang merangsang dan menghambat proliferasi serta differensiasi kondrosit mengatur keseimbangan antara keduanya. *Vascular endothelial growth factor* berperan dalam tahap akhir ossifikasi *endochondral* yaitu pada proses differensiasi akhir, invasi kapiler ke dalam kondrosit, dan apoptosis kondrosit (Eerden, 2003).



Gambar 2.3 : Interaksi faktor lokal dalam proliferasi dan differensiasi kondrosit (Eerden, 2003)

2.3.3 Nutrisi

Nutrisi yang baik berperan dalam mempertahankan kesehatan tulang. Nutrisi paling penting untuk tulang adalah kalsium. Kalsium dalam makanan digunakan sebagai bahan pembangun tulang dan sebagai cadangan kalsium untuk darah dan otot (Zumerchick, 1997).

Absorpsi kalsium dalam usus halus memerlukan bantuan vitamin D. Vitamin D dapat diperoleh dari makanan atau melalui kontak antara senyawa *7-dehydro cholesterol* yang terdapat dalam kulit dengan sinar matahari (Zumerchick, 1997). Bentuk aktif vitamin D adalah $1,25-(OH)_2D_3$ yang berperan dalam merangsang proliferasi dan maturasi kondrosit pada kultur sel (Klaus, 1991 cit Nilsson, 1994).

2.3.4 Latihan fisik

Latihan fisik seperti halnya faktor genetik dan nutrisi berperan penting dalam pertumbuhan tulang. Latihan fisik meningkatkan stres pada tulang melalui gravitasi dan kontraksi otot sehingga menimbulkan gaya yang merangsang aktifitas tulang dan kartilago. Latihan fisik menyebabkan aliran darah meningkat sehingga semakin banyak

nutrisi yang mengalir ke tulang. Pergerakan sepanjang *range of movement* diperlukan untuk pengaliran nutrisi pada kartilago (Zumerchick, 1997).

Selain hal tersebut diatas, latihan fisik juga sebagai perangsang fisiologis yang kuat terhadap sekresi GH (Felsing, 1992; Butkus, 1995), dimana GH merupakan hormon utama yang berperan dalam pertumbuhan tulang usia pre pubertas (Nilsson, 1994).

2.4 *Growth Hormone* (GH)

2.4.1 Struktur GH

Hormon pertumbuhan (*Growth hormone / GH, somatotropin, somatotropic hormone*) sebagaimana hormon peptida lainnya mempunyai struktur kimia yang berbeda untuk setiap spesies. Struktur GH manusia terdiri dari rantai polipeptida tunggal yang tersusun dari 191 asam amino dengan berat molekul 21 – 22 kD (Murray, 2003).

2.4.2 Fungsi fisiologis GH

Growth Hormone merangsang pertumbuhan linier seluruh jaringan tubuh yang mempunyai kemampuan untuk tumbuh, selain itu GH juga berperan dalam penambahan ukuran sel dan meningkatkan proses mitosis yang diikuti dengan bertambahnya jumlah sel. Setiap jaringan akan memberikan respon terhadap rangsangan GH akan tetapi jaringan otot rangka dan tulang rawan lebih sensitif dibanding jaringan lain (Martini, 1994).

Selain memiliki efek umum dalam merangsang pertumbuhan, GH juga memiliki beberapa efek metabolik, antara lain yaitu : (1) meningkatkan kecepatan sintesis protein pada hampir seluruh sel tubuh, (2) meningkatkan pengangkutan asam

lemak dari jaringan lemak dan meningkatkan kadar asam lemak bebas dalam darah, serta meningkatkan penggunaan asam lemak sebagai sumber energi, (3) menurunkan pemakaian glukosa oleh tubuh. Berdasarkan hal tersebut maka efek metabolik GH secara umum adalah meningkatkan sintesa protein tubuh, meningkatkan penggunaan cadangan lemak serta mengurangi penggunaan karbohidrat sebagai sumber energi (Guyton, 2004).

2.4.3 Sekresi GH

Growth Hormone disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior dan sekresinya diatur secara fisiologis oleh hipotalamus. Hipotalamus mensekresi hormon yang merangsang sekresi GH yaitu *growth hormone releasing factor* (GHRF) atau *growth hormone releasing hormone* (GHRH). Hipotalamus juga mensekresi hormon yang menghambat pelepasan GH yaitu *growth hormone release inhibitory hormone* (GHRIH) atau *somatotropin release inhibitory hormone* (SRIH), atau disebut juga somatostatin, dengan demikian hipotalamus memegang peranan ganda dalam pengaturan sekresi GH (Guyton, 2004).

Sekresi GH bersifat *pulsatile* dan dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang merangsang sekresi GH antara lain yaitu keadaan lapar, hipoglikemi, penurunan asam lemak bebas, latihan fisik, tidur, dan trauma (Guyton, 2004). Faktor-faktor yang menghambat sekresi GH adalah hiperglikemia, peningkatan asam lemak bebas, kegemukan, kehamilan, glukokortikoid dosis tinggi, hipotiroidisme, agonis dopamin, medroksiprogesteron, *α-adrenergik blocker*, antagonis *β-adrenergik*, somatomedin, dan somatostatin (Southerland, 1990).

Sekresi GH cukup tinggi pada masa anak sampai usia pubertas dan akan mencapai puncak pada akhir periode pubertas. Sekresi akan mengalami penurunan

setelah usia dewasa dan akan semakin menurun dengan bertambahnya usia baik pada hewan maupun pada manusia (Nilsson, 1994).

2.4.4 Mekanisme sekresi GH pada latihan fisik

Latihan fisik merupakan perangsang fisiologis yang kuat terhadap sekresi GH (Felsing, 1992; Butkus, 1995), bahkan lebih kuat daripada tidur dan faktor makanan (Sutton, 1976 cit Butkus, 1995). Mekanisme peningkatan sekresi GH akibat latihan fisik belum diketahui dengan jelas (Kaneley, 2002). Respon GH dalam latihan fisik tampaknya melalui mekanisme yang berbeda dengan rangsangan fisiologis lainnya (Felsing, 1992). Diduga beberapa mekanisme saling berinteraksi dalam mempengaruhi sekresi GH pada latihan (Giustina, 1998). Beberapa bahan metabolit dan neurotransmitter yang diduga berperan dalam mekanisme peningkatan sekresi GH dalam latihan yaitu kadar asam laktat darah (Butkus, 1995), norepinefrin dan epinefrin (Giustina, 1998).

Sebagian besar penelitian pada manusia menunjukkan bahwa respon GH berhubungan dengan intensitas tinggi (anaerobik) dimana terjadi peningkatan kadar asam laktat darah (Felsing, 1992; Butkus, 1995; Warren, 2000; Wideman, 2000). Produksi asam laktat yang berhubungan dengan intensitas latihan secara langsung atau tidak langsung mempengaruhi respon hormon karena latihan fisik. Kadar GH plasma meningkat pada intensitas diatas *lactate threshold* (LT) (Felsing, 1992; Warren, 2000; Wideman, 2000). Pada manusia sehat *lactate threshold* terbentuk pada intensitas antara 40-60% dari VO_2 max (Felsing, 1992).

Kadar epinefrin dan norepinefrin dalam darah meningkat bermakna setelah latihan fisik intensitas tinggi. Meningkatnya kadar katekolamin darah tersebut tidak dapat menggambarkan secara penuh input adrenergik pada hipotalamus, namun diduga

hal tersebut merangsang sekresi GH pada manusia secara langsung seperti halnya pada tikus (Giustina, 1998). Selama latihan fisik, jalur α_2 adrenergik menghambat pengeluaran somatostatin dan merangsang pengeluaran GHRH sehingga meningkatkan sekresi GH. Sebaliknya, β_2 adrenergik menghambat sekresi GH dengan meningkatkan sekresi somatostatin (Weltman, 2000 cit Kaneley, 2002). Telah diketahui bahwa sekresi Norepinefrin tergantung pada intensitas latihan fisik (Garret, 2000).

2.5 Struktur Kimia dan Sekresi Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)

Insulin-like growth factor I adalah hormon golongan peptida yang tersusun dari 70 asam amino dengan berat molekul 7,6 kDa. *Insulin-like growth factor I* merupakan faktor pertumbuhan (*growth factor*) dan termasuk anggota dari famili IGF yang terdiri dari IGF-I, IGF-II, IGF binding protein (IGFBP 1-6), serta Insulin (Murray, 2003).

Insulin-like growth factor I pada awalnya diidentifikasi oleh Salmon dan Daughaday pada tahun 1957 dan dikenal sebagai "*sulphation factor*" yang diduga sebagai suatu substansi yang dirangsang oleh GH yang dapat merangsang pengambilan sulfat oleh kartilago. Substansi ini pada tahun 1970 kemudian dikenal sebagai somatomedin, dan sekarang dikenal sebagai *Insulin-like growth factor I (IGF-I)* (Roith, 2001).

Insulin-like growth factor I terdapat dalam sirkulasi (endokrin) atau diproduksi secara lokal (autokrin/parakrin). Pembentukan IGF-I terutama oleh hati dan diperantarai oleh GH, dan kemudian beredar ke seluruh tubuh atau bersifat sebagai endokrin. IGF-I juga dibentuk oleh beberapa organ lain termasuk jaringan tulang, otot, lemak, dan lempeng epifise (Nilsson, 1994). Bentuk endokrin IGF-I tergantung kepada GH, sedangkan bentuk parakrin atau autokrin hanya sebagian yang dipengaruhi oleh GH (Warren, 2000). *Insulin-like growth factor I* bekerjasama dengan GH dalam

mempengaruhi pertumbuhan tubuh dan tulang setelah lahir (Mohan, 2003).

Kadar IGF-I dalam sirkulasi dipengaruhi oleh umur, jenis kelamin, dan nutrisi. Kadar IGF-I terendah pada anak baru lahir, kemudian meningkat secara bertahap pada masa anak-anak dan mencapai puncak pada masa pubertas. Kadar IGF-I akan menurun saat dewasa karena sekresi GH menurun. Pada masa pubertas peningkatan kadar IGF-I lebih dahulu terjadi pada wanita daripada pria (Ketelslegers, 1995).

2.6 Peran GH dan IGF-I dalam Pertumbuhan Memanjang Tulang

2.6.1 Peran GH dalam pertumbuhan memanjang tulang

Pertumbuhan memanjang tulang dipengaruhi oleh beberapa hormon, namun telah diketahui bahwa GH merupakan hormon utama dalam hal tersebut (Ohlsson, 1998). *Growth hormone* merangsang pertumbuhan memanjang tulang dan menentukan panjang akhir tulang (Nilsson, 1994).

Growth hormone bekerja pada jaringan sasaran baik secara langsung maupun secara tidak langsung dengan perantaraan IGF-I dan IGF-II (*Insulin-like growth factor II*) (Eerden, 2003). Sebelum lahir, IGF-I dan IGF-II merupakan pengendali utama pertumbuhan dimana kerja keduanya tidak dipengaruhi oleh GH. *Insulin-like growth factor II* penting untuk pertumbuhan normal embrio (DeChiara, 1991), sedangkan IGF-I merupakan suatu ligan yang berfungsi terus mulai masa pertumbuhan janin sampai usia dewasa. Setelah lahir, GH merupakan *modulator* penting dari pertumbuhan memanjang tulang, dan bersama dengan IGF-I menjadi unsur utama dalam *hypothalamus-pituitary-growth plate axis* (Eerden, 2003).

Interaksi antara GH dan IGF-I dalam mengatur pertumbuhan memanjang tulang telah diteliti selama beberapa tahun dengan berbagai metode pendekatan yang berbeda (Ohlsson, 1998). Teori yang semula dianut adalah hipotesis Somatomedin yang

dicetuskan oleh Solomon dan Daughaday (1957), yaitu GH merangsang pertumbuhan tulang secara tidak langsung dengan menginduksi sintesis IGF-I pada hepar yang kemudian merangsang proliferasi kondrosit pada lempeng epifise (Eerden, 2003).

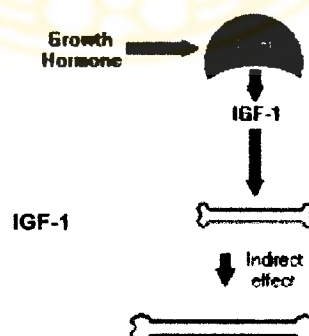
Penelitian Green dkk. (1985) mencetuskan teori *dual effector* yang menyatakan bahwa GH dan IGF-I bekerja pada tahap maturasi sel yang berbeda, yaitu GH merangsang differensiasi sel *progenitor* kondrosit, sedangkan IGF-I merangsang proliferasi sel kondrosit pada zona proliferasi secara bertahap (Ohlsson, 1998). Penelitian terakhir telah mendukung teori tersebut yang mengungkapkan bahwa GH bekerja secara langsung dengan cara merangsang differensiasi sel *progenitor* kondrosit pada zona germinal (Wang, 2004). Berdasarkan hal tersebut diatas maka peran utama GH adalah mempersiapkan pre kondrosit ke dalam fase proliferasi (Loveridge, 1995). GH juga bekerja secara tidak langsung dengan cara meningkatkan produksi IGF-I lokal pada lempeng epifise, yang kemudian merangsang proliferasi kondrosit secara autokrin atau parakrin (Hunziker, 1994; Nilsson, 1994; Oberbauer 1995).

Selain berperan dalam differensiasi kondrosit fase germinal, GH diduga juga berperan dalam fase lainnya. Hal tersebut dibuktikan oleh penelitian Wang (2004) yang menunjukkan peran GH dalam fase proliferasi dan hipertrofi kondrosit. Penelitian secara immunohistokimia oleh Gevers (2002) terhadap lokasi reseptor GH (GHR) dan *GH Binding Protein* (GHBP) juga menunjukkan bahwa berdasarkan lokasi keduanya, GH selain berperan dalam kondrosit fase germinal terbukti juga berperan dalam fase proliferasi dan hipertrofi kondrosit tahap awal, dan mungkin juga berperan dalam proses differensiasi hipertrofi kondrosit tahap akhir. *Growth hormone* juga meningkatkan kepekaan sel kondrosit yang sedang mengalami proliferasi akibat rangsangan IGF-1 (Oberbauer, 1995).

2.6.2 Peran IGF-I dalam pertumbuhan memanjang tulang

Kerja IGF-I sebagian besar bersifat anabolik dan bekerjasama dengan GH dalam merangsang pertumbuhan (Warren, 2000). *Insulin-like growth factor 1* merupakan faktor pertumbuhan anabolik utama pada kartilago (Goessler, 2004). *Insulin-like growth factor 1* tampaknya bekerja pada semua zona kondrosit lempeng epifise, terbukti dengan ditemukannya reseptor IGF-I (Wang, 1999) dan mRNA IGF-I (Reinecke, 2000) pada semua fase kondrosit, namun berdasarkan ekspresi mRNA IGF-I yang ditemukan pada kondrosit zona proliferasi dan hipertrofi maka diduga efek IGF-I sebagian besar bekerja di zona tersebut (Reinecke, 2000). Pada zona proliferasi IGF-I merangsang ekspansi kondrosit (Nilsson, 1994), namun dengan ditemukannya IGF-I mRNA pada semua fase kondrosit dengan ekspresi tertinggi pada zona hipertrofi (Musthaq 2004) maka diduga peran utama IGF-I dalam merangsang pertumbuhan lempeng epifise adalah meningkatkan tinggi zona hipertrofi termasuk ukuran sel di dalamnya.

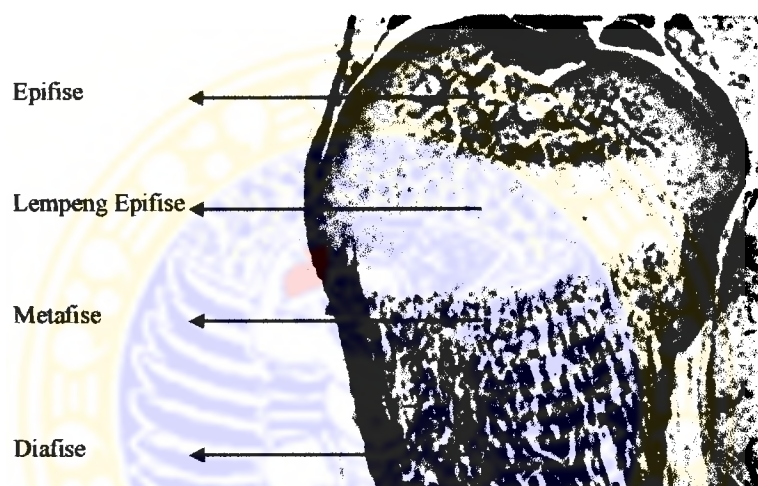
Mekanisme IGF-I dalam meningkatkan hipertrofi kondrosit mirip dengan efek anabolik insulin yaitu dengan jalan meningkatkan pemasukkan dan penggunaan glukosa serta asam amino oleh kondrosit, sehingga meningkatkan pula sintesis glikogen dan protein, dan sebagai hasil akhir maka sintesis matriks meningkat (Wang, 1999).



Gambar 2.4 : Skema interaksi GH dan IGF-I pada pertumbuhan memanjang tulang

2.7 Struktur Histologi Lempeng Epifise

Lempeng epifise terletak diantara epifise dengan diafise pada kedua ujung tulang panjang. Lempeng epifise merupakan tempat pertumbuhan memanjang tulang (Eerden, 2003), dan aktifitas kondrosit didalamnya merupakan penentu utama dari panjang tulang secara keseluruhan (Zumerchick, 1997). Lempeng epifise dibentuk oleh kartilago hialin yang terdiri dari sel-sel kondrosit yang terletak di dalam lakuna serta matriks ekstraseluler yang mengelilinginya (Junqueira, 2003).



Gambar 2.5 : Letak lempeng epifise pada tulang panjang (Wang, 1999)

2.7.1 Kondrosit

Kondrosit terletak di dalam suatu rongga (lakuna) dengan bentuk sesuai dengan lakunanya. Bentuk kondrosit dan lakuna bervariasi tergantung posisinya di dalam tulang rawan, dibawah perikondrium berbentuk pipih seperti fibroblas sedangkan pada bagian sentral berbentuk agak bulat sampai *angular*. Lakuna dapat berisi sekelompok kondrosit yang disebut sebagai isogen (Fawcett, 1994).

Di dalam sitoplasma kondrosit terdapat organela endoplasmik retikulum, badan

golgi, mitokondria dan vesikel sekresi. Inti sel berbentuk bulat atau lonjong dan mengandung satu atau lebih anak inti. Kondrosit mempertahankan struktur dan fungsi tulang rawan dengan cara membentuk matriks ekstraseluler, mendegradasi, serta menggantinya (Fawcet, 1994). Kondrosit yang terletak pada bagian sentral lebih aktif mensintesis proteoglikan dan kolagen dibanding yang dibawah perikondrium. Setelah dewasa tidak terjadi pergantian kolagen sedangkan pergantian proteoglikan berlangsung lambat (Fawcet, 1994).

Sel-sel kondrosit pada lempeng epifise berdasarkan morfologinya dibedakan dalam beberapa zona yaitu :

1. Zona Germinal

Zona germinal atau zona *reserve* berisi kondrosit *immatur* (kondroblast) yang tersebar tidak merata. Kondrosit disini berfungsi sebagai *stem-like cells* atau sel *osteoprogenitor*, dan memproduksi morfogen yang menentukan arah sel kondrosit pada zona berikutnya menjadi kolom yang sejajar dengan sumbu panjang tulang (Abad, 2002). Zona ini juga berfungsi untuk melekatkan lempeng epifise pada epifise. Pada zona ini terdapat kapiler yang berasal dari epifise untuk nutrisi bagian distal lempeng epifise melalui proses difusi. Kondrosit pada zona germinal tidak berperan pada pertumbuhan memanjang tulang (Solomon, 1990).

2. Zona Proliferasi

Kondrosit pada daerah ini ditandai dengan susunannya yang saling menempel ujungnya antara satu dengan yang lain membentuk kolom yang berjajar searah dengan sumbu panjang tulang. Bentuk sel beserta lakuna melebar namun datar. Antara sel dipisahkan oleh septa tipis sedangkan antara kolom yang berdekatan dipisahkan oleh septa memanjang yang dibentuk oleh matriks. Kondrosit disini aktif berproliferasi sehingga berperan penting pada pertumbuhan panjang tulang (Solomon, 1990).

3. Zona Hipertrofi

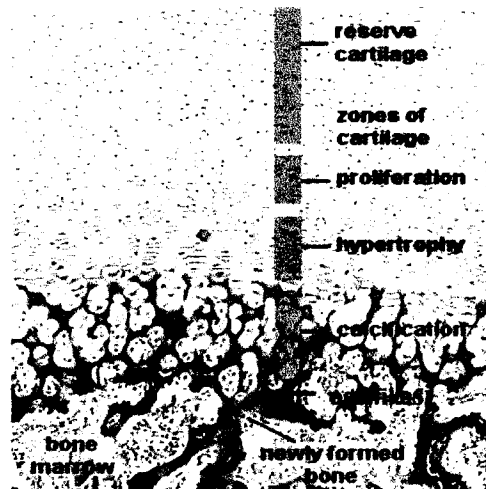
Pada zona hipertrofi tidak terjadi lagi multiplikasi sel. Susunan kolom mulai tidak teratur, ukuran sel lebih besar dari zona sebelumnya dan sitoplasma tampak jernih (Fawcett, 1994). Sitoplasma sel mengandung glikogen dan alkali fosfatase yang mungkin berperan dalam kalsifikasi matriks disekitarnya. Matriks periseluler diresorpsi menjadi septum tipis yang memisahkan kondrosit (Junqueira, 2003). Batas bawah zona ini ditandai dengan masih adanya septum transversum inferior sel kondrosit yang masih utuh, yang membedakannya dengan zona kalsifikasi dibawahnya. Proses hipertrofi kondrosit pada zona ini ikut berperan dalam pertumbuhan memanjang lempeng epifise (Solomon, 1990).

4. Zona Kalsifikasi

Fungsi zona kalsifikasi adalah melekatkan lempeng epifise dengan diafise. Sel-sel kondrosit pada zona ini mati akibat kalsifikasi matriks. Terjadi lisis pada kondrosit yang ditandai dengan lakuna yang kosong, lakuna mulai terinvasi oleh kapiler, inti sel diresorpsi, dan matriks menghilang karena mengalami kalsifikasi (Solomon, 1990).

5. Zona Ossifikasi

Pembuluh kapiler, dan sel *osteoprogenitor* dari periosteum memasuki zona ini. Sel osteoprogenitor berdiferensiasi menjadi osteoblast yang mensekresi matriks tulang (Junqueira, 2003). Deposisi tulang aktif terjadi pada sisi metafise zona ini dan seiring dengan penambahan tulang baru, metafise menjadi bertambah panjang (Salter, 1999).



Gambar 2.6 : Pembagian zona pada lempeng epifise
(Junqueira, 2003)

2.7.2 Matriks ekstraseluler (*Extracellular matrix / ECM*)

Kondrosit dikelilingi oleh *extracellular matrix* (ECM) yang menjadi struktur penyangga kondrosit dan mengandung molekul ECM. Molekul ECM utama adalah kolagen dan proteoglikan. Kedua makromolekul tersebut berperan penting dalam perkembangan dan memelihara berbagai fungsi termasuk kekuatan jaringan, struktur jaringan dan interaksi antar sel (Eerden, 2003).

Kelompok pertama dari molekul ECM yaitu golongan kolagen dimana tipe II, IX, dan X diekspresikan terutama pada zona proliferasi dan hipertrofi. Kolagen tipe II merupakan jenis kolagen yang paling banyak terdapat dalam matriks ekstraseluler, sedangkan kondrosit yang hipertrofi mensintesis kolagen tipe X. Kolagen tipe X dapat mengikat kalsium sehingga memungkinkan terjadinya kalsifikasi tulang rawan. Ketiga macam kolagen tersebut membentuk ikatan silang sehingga terbentuk jala yang menjadi kerangka matriks. Ketiga tipe kolagen tersebut berperan penting dalam *remodeling* faktor pertumbuhan yang terlibat dalam regulasi proliferasi dan hipertrofi kondrosit (Eerden, 2003).

Kelompok molekul ECM lainnya adalah jenis proteoglikan. Proteoglikan diekskresi kondrosit dalam bentuk monomer, dan di dalam matriks ekstraseluler beragregasi dengan protein pengikat dan hialuronan. (Fawcet, 1994). Struktur proteoglikan terdiri dari inti protein dan glikosaminoglikan. Kondroitin sulfat dan keratan sulfat merupakan glikosaminoglikan utama tulang rawan. Kedua glikosaminoglikan membentuk rantai samping dari inti protein sehingga terbentuk bangunan seperti sikat. Proteoglikan berikatan dengan asam hialuronat disalah satu ujung inti protein yang tidak mengandung kondroitin sulfat dan keratan sulfat. Agregasi proteoglikan dengan hialuronan serta protein pengikat membentuk *proteoglican aggregate* atau *agrecan*. Agregasi proteoglikan tersebut menempel pada jala yang dibentuk oleh kolagen (Junqueira, 2003).

Matriks ekstraseluler yang mengelilingi lakuna atau isogen disebut matriks perikapsuler (periseluler) atau matriks teritorial, sedangkan matriks yang terletak diantara kondrosit atau isogen disebut sebagai matriks interkapsuler atau matriks interteritorial (Fawcet, 1994).

2.7.3 Interaksi sel dengan matriks ekstraseluler

Interaksi sel dengan matriks ekstraseluler berperan penting dalam mengatur berbagai macam aktifitas sel termasuk proliferasi, differensiasi dan migrasi. Selain itu juga mengatur fenotipe sel, pertumbuhan, dan kematian sel (Vinall, 2002; Aszodi, 2003). Kondrosit pada kartilago dikelilingi sepenuhnya oleh matriks protein ekstraseluler sehingga interaksi langsung antar sel adalah minimal, oleh karena itu matriks periseluler berperan penting dalam mengatur aktifitas metabolisme sel dan dalam merespon rangsangan lingkungan seperti adanya pembebanan mekanik (Salter, 2003).

Interaksi antara kondrosit dengan komponen matriks merupakan proses biologi yang penting pada homeostasis kondrosit termasuk ikatan sel, differensiasi, pertumbuhan serta kelangsungan hidup kondrosit (Aszodi, 2003). Interaksi sel kondrosit dengan matriks tersebut diperantarai oleh beberapa molekul adhesi sel pada permukaan sel kondrosit yang dapat meneruskan sinyal dari ekstraseluler ke dalam sel, dan melalui serangkaian sinyal intraseluler, dapat mengendalikan ekspresi gen. (Salter, 2003).

2.8 Integrin

2.8.1 Struktur dan fungsi integrin

Integrin termasuk dalam kelompok molekul sel adhesi pada membran sel yang menjembatani interaksi sel dengan ECM. Integrin terdapat pada semua sel termasuk kondrosit. Ikatan integrin dengan protein ECM mengawali berbagai proses biologis termasuk adhesi, differensiasi, migrasi, serta kelangsungan hidup sel (Hynes, 2002).

Molekul integrin berupa heterodimerik transmembran pada membran sel yang terdiri dari satu subunit α dan satu subunit β . Molekul integrin terdiri dari tiga bagian, sebagian besar terletak pada ekstrasel, transmembran, dan sebagian kecil berada dalam sitoplasma. Bagian ekstrasel dapat berikatan dengan ligan pada matriks ekstrasel seperti : kolagen, fibronektin, laminin dan vitronektin (Shakibei, 1999), sedangkan bagian sitoplasma berhubungan dengan sitoskeleton (Goessler, 2004). Beberapa integrin yang terdapat pada kondrosit antara lain adalah integrin $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_{10}\beta_1$ yang berikatan dengan kolagen tipe II dan tipe VI, $\alpha_5\beta_3$ yang berikatan dengan vitronektin dan osteopontin, $\alpha_6\beta_1$ yang berikatan dengan laminin, dan yang paling banyak ditemukan pada kondrosit adalah $\alpha_5\beta_1$ yang berikatan dengan fibronektin (Salter, 2003).

Integrin berperan penting dalam berbagai aktifitas seluler termasuk ekspresi gen, pertumbuhan, proliferasi, differensiasi, serta apoptosis sel (Carson, 2000). Integrin berfungsi ganda sebagai reseptor adhesi sel dan sebagai reseptor yang menerima dan meneruskan rangsangan mekanik (Shakibei, 1999; Carson, 2000). Integrin diduga sebagai sensor utama yang meneruskan rangsangan fisik atau mekanis terutama *tensile strain* dari luar kedalam sel dan sebaliknya, sehingga dapat menimbulkan respon sel (Carson, 2000). Berdasarkan hal tersebut integrin berperan sebagai penghubung antara ECM dengan sitoskeleton sel dan menjadi komponen penting dalam proses interaksi sel dengan rangsangan mekanis dari luar (Carson, 2000; Schwarz, 2003).



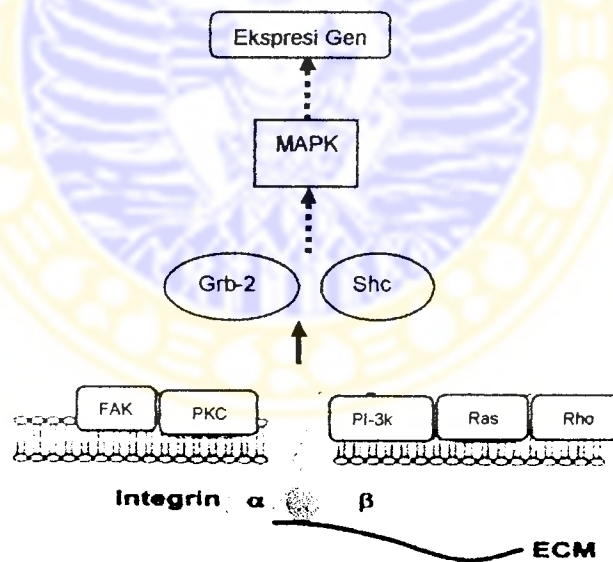
Gambar 2.7 : Interaksi protein ECM dengan integrin (Huang, 2004)

2.8.2 Alur transduksi sinyal integrin

Ikatan integrin dengan ligan yaitu protein matriks ekstraseluler menyebabkan integrin membentuk *cluster* dan mengaktifkan rangkaian mekanisme intraselular yang mengakibatkan perubahan morfologi, migrasi, dan proliferasi sel, serta pembentukan cytokine (Kjaer, 2003).

Rangkaian mekanisme intraselular tersebut diawali dengan pembentukan *focal adhesion complex* (FAC) yang sensitif terhadap rangsangan mekanis (Carson, 2000),

dan berperan penting dalam meneruskan rangsangan mekanis ke inti sel. Pembentukan FAC mengawali beberapa rangkaian mekanisme penghantaran sinyal melalui perantaraan *signaling molecul* antara lain yaitu *focal adhesion kinase* (FAK), *protein kinase C* (PKC), *phosphatidylinositol-3 kinase* (PI-3kinase), *Ras* dan *Rho* (Carson, 2000). Hal tersebut selanjutnya akan merangsang *docking protein* yang mengatur transduksi sinyal seperti *Shc* (*Src-homology collagen*). *Src-homology collagen* (*Shc*) kemudian bergabung dengan *adaptor protein* yaitu *Grb-2* (*growth factor receptor-bound protein 2*). Pengikatan protein adaptor tersebut akan mengaktifasi jalur MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) (Shakibaei, 1999). Jalur MAPK merupakan jalur transduksi sinyal yang berperan dalam ekspresi gen yang berhubungan dengan proliferasi dan differensiasi sel (Wong, 2003).



Gambar 2.8 : Skema alur transduksi sinyal integrin (Huang, 2004)

2.8.3 Interaksi integrin dengan faktor pertumbuhan

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa integrin berkolaborasi dengan faktor pertumbuhan dimana hal ini mungkin berperan penting dalam proses adhesi, differensiasi, pertumbuhan, serta kelangsungan hidup berbagai jenis sel (Miyamoto, 1996). *Strain* mekanik menyebabkan pertubasi membran dan merangsang integrin membentuk *cluster* yang menyebabkan meningkatnya sekresi faktor pertumbuhan (Kjaer, 2003).

Sebagian besar sel normal akan peka terhadap rangsangan faktor pertumbuhan hanya setelah melakukan adhesi dengan matriks ekstraseluler melalui perantara integrin (Shakibaei, 1999). Adhesi integrin kondrosit dengan matriks ekstraseluler seperti fibronektin membentuk kompleks adhesi yang merupakan syarat bagi kondrosit untuk dapat merespon faktor pertumbuhan seperti FGF dan IGF-I. (Goessler, 2004). Adhesi tersebut mengendalikan pengaktifan reseptor faktor pertumbuhan (Miyamoto, 1996).

Penelitian Miyamoto (1996) membuktikan bahwa interaksi sinergis antara integrin dengan reseptor faktor pertumbuhan juga berperan dalam memfosforilasi MAPK yang mengendalikan berbagai fungsi sel. Interaksi tersebut hanya terjadi bila integrin telah beragregasi dan berikatan dengan ligan. Agregasi dan ikatan integrin dengan ligan mengaktifkan MAPK.

Src-homology collagen (Shc) merupakan titik interaksi mekanisme penghantaran *signal* antara integrin dengan faktor pertumbuhan (Shakibaei, 1999). Aktivasi Shc oleh integrin dan faktor pertumbuhan (serta Grb2 adaptor protein) mengaktifkan jalur MAPK. Ekspresi Shc meningkat setelah integrin berikatan dengan kolagen tipe II, dan akan semakin meningkat dengan adanya IGF-I (Shakibaei, 1999).

Goessler (2004) juga menyatakan adanya hubungan yang saling menguntungkan antara adhesi kondrosit dan matriks ekstraseluler dengan pengendalian kondrosit oleh faktor pertumbuhan.

2.9 Latihan Fisik

2.9.1 Definisi

Aktifitas fisik (*physical activity*), latihan fisik (*physical exercise*) dan program latihan fisik (*physical training*) mempunyai pengertian yang berbeda. Aktifitas fisik adalah pergerakan tubuh akibat kontraksi otot rangka (Bouchard,1993). Latihan fisik adalah aktifitas fisik yang berulang dan bertujuan untuk memelihara atau meningkatkan kebugaran fisik (Nieman,1993). Program latihan fisik adalah serangkaian latihan fisik dengan tujuan tertentu (Nieman, 1993).

2.9.2 Dosis latihan

Dosis adalah beban latihan fisik yang terukur yang mengandung unsur : intensitas, frekuensi, durasi, dan jenis latihan (Fox, 1999).

Intensitas latihan menunjukkan komponen kualitatif dari kerja yang dilakukan dalam periode waktu tertentu sehingga semakin banyak kerja yang dilakukan perunit waktu semakin tinggi intensitasnya, sehingga intensitas dapat diartikan sebagai tingkatan kualitas (ringan, sedang, berat). Intensitas latihan merupakan faktor terpenting dalam prinsip pembebanan (Fox, 1999). Menentukan intensitas latihan dapat dilakukan berdasarkan *VO2 max* (ambilan oksigen maksimal) atau berdasarkan berat badan.

Berdasarkan *VO2* maksimal, intensitas latihan fisik dapat dibagi menjadi : 1) latihan fisik intensitas rendah (kurang dari 45% *VO2 max*), 2) latihan fisik intensitas

sedang (50-70% *VO2 max*), dan 3) latihan fisik intensitas tinggi (lebih dari 80% *VO2 max*) (Fox, 1999).

Berdasarkan berat badan, intensitas latihan fisik dapat dibagi menjadi : 1) latihan fisik intensitas ringan (pembebanan sebesar 3% berat badan), 2) latihan fisik intensitas sedang (pembebanan sebesar 6% berat badan), latihan fisik intensitas tinggi (pembebanan sebesar 9% berat badan) (Bompa, 1994).

Frekuensi merupakan jumlah latihan dalam satu minggu. Frekuensi latihan dapat dilakukan 1 sampai 5 kali per minggu tergantung tujuan yang ingin dicapai (Fox, 1999).

Durasi atau lama latihan dapat diartikan sebagai rentang waktu yang dapat berupa berapa menit atau berapa jam latihan dilakukan setiap kali latihan atau dapat pula diartikan berapa minggu atau berapa bulan suatu program latihan berlangsung (Fox, 1999; Bompa, 1994).

Volume latihan adalah kombinasi dari intensitas dan durasi latihan. Dapat juga diartikan sebagai gabungan dari jumlah set , pengulangan, dan intensitas (volume = set x repetisi x intensitas) (Brown, 1994).

Jenis latihan adalah karakteristik latihan berdasarkan intensitas, frekuensi, dan waktu (Fox, 1999).

2.9.3 Latihan fisik dan sekresi GH

Latihan fisik meningkatkan konsentrasi hormon pertumbuhan dalam darah, bahkan latihan dengan intensitas yang sangat berat dapat meningkatkan kadar hormon pertumbuhan (Guyton, 2004).

Peningkatan sekresi GH saat olahraga tergantung : intensitas, durasi, volume, dan jenis olahraga , tingkat kebugaran individu, dan faktor eksternal (Warren, 2000).

Intensitas latihan yang tepat merupakan perangsang kuat sekresi GH yang dapat mengatasi umpan balik negatif GH (Kanaley, 2002). Terdapat hubungan linier antara peningkatan GH dengan kebutuhan oksigen atau intensitas latihan (Garrett, 2000; Murray, 2000; Wideman, 2002). Peningkatan kadar GH pada latihan aerobik dengan intensitas 75-90% dari intensitas maksimal lebih tinggi daripada intensitas yang lebih ringan (Warren, 2000). Intensitas minimal yang dapat meningkatkan respon GH adalah 50-70% dari $VO_2 max$, sedangkan respon maksimal dicapai pada intensitas 70% $VO_2 max$, dan tidak ada peningkatan respon pada 90% $VO_2 max$ (Lugger, 1992 cit Kanaley, 1992).

Durasi atau lama latihan mempengaruhi sekresi GH. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kadar GH meningkat dengan tajam setelah latihan fisik selama paling sedikit 10 menit, mencapai puncaknya dalam 25-30 menit, dan akan menurun setelah melebihi 30 menit (Warren, 2000).

Volume latihan mempengaruhi respon hormonal karena perubahan hormonal yang dipengaruhi intensitas juga berkaitan dengan durasi latihan. Sekresi hormon yang berhubungan dengan penyediaan bahan energi (insulin, glukagon, epinefrin, GH) dipengaruhi oleh volume latihan fisik (Warren, 2000).

Jenis olahraga mempengaruhi respon hormonal karena respon hormonal berhubungan dengan intensitas, volume dan massa otot yang aktif sehingga jenis olahraga yang berbeda akan mempengaruhi faktor-faktor tersebut (Warren, 2000).

Respon GH lebih rendah pada individu dengan tingkat kebugaran yang lebih tinggi dengan pengertian, pada intensitas yang sama individu yang tidak terlatih akan memberikan respon yang lebih besar daripada yang terlatih. Hal ini disebabkan karena stress yang diterima dan beban kerja yang dirasakan oleh individu terlatih relatif lebih ringan (Warren, 2000).

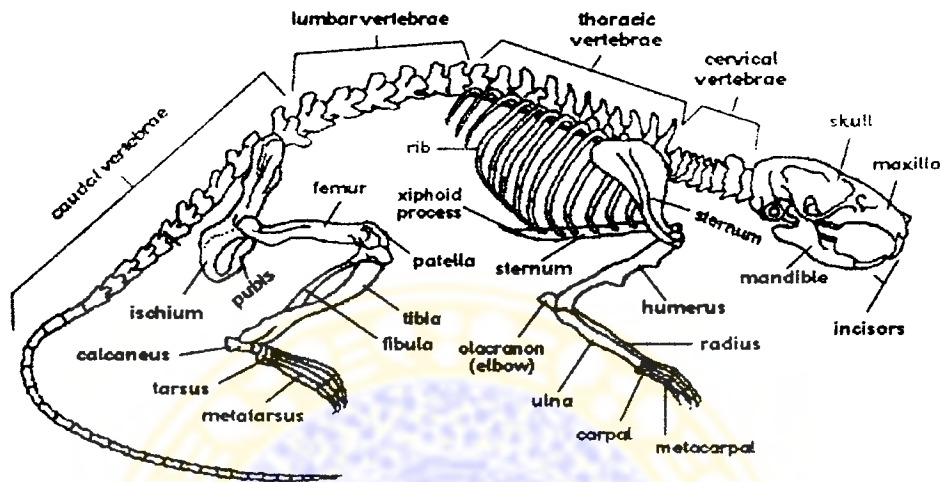
Faktor lingkungan dan nutrisi dapat mempengaruhi respon GH terhadap latihan fisik. Makanan dengan kadar lemak tinggi akan merangsang sekresi somatostatin dari jaringan gastrointestinal sehingga akan menghambat respon GH. Lingkungan dengan suhu dan kelembaban tinggi diduga meningkatkan kadar GH plasma sedangkan suhu rendah menghambat pengeluaran GH (Warren, 2000).

2.10 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) strain Wistar

Tikus yang sering digunakan adalah jenis Wistar, Sprague-Dewley, Long-Evans, dan Holtzman. Tikus sering digunakan dalam penelitian karena sistem organ tikus banyak yang menyerupai manusia (Kohn, 1984). Berat tikus putih (*Rattus norvegicus*) waktu lahir 5 gram sedangkan berat dewasa mencapai 300-400 gram untuk jantan, dan 250-300 gram untuk betina. Masa menyusui anak tikus putih sampai umur 21 hari (Hunziker, 1989), sedangkan periode pertumbuhan cepat mulai umur 20 – 40 hari dan merupakan masa proliferasi aktif lempeng epifise (Wang, 1999). Penutupan lempeng epifise pada tikus lebih lambat dibanding spesies lain (Ohlsson, 1998; Eerden, 2003), dan pada umumnya belum mengalami fusi lempeng epifise pada fase pematangan seksual (Nilsson, 2002).

Tikus putih memasuki usia pubertas pada umur 50 ± 10 hari dan mencapai dewasa pada umur 80 hari (Hunziker, 1989). Lama kehamilan 20-22 hari dengan jumlah anak 6-12 ekor per kelahiran. Tikus putih jantan maupun betina mempunyai kemampuan reproduksi selama 1,5 tahun (Pass, 1993), dan tikus mampu hidup hingga mencapai umur 2,5 sampai 3 tahun (Kohn, 1984). Suhu tubuh tikus putih $35.9 - 37.5$ °C dan suhu ruangan ideal yang dibutuhkan adalah $18-26$ °C dengan kelembaban 40-70%. Pemberian makan secara *ad libitum* dengan kebutuhan 5 gram makanan dan 10

ml air per 100 gram berat badan per hari. Pakan untuk tikus harus mengandung 17% protein dan 4,5% lemak (Pass, 1993).



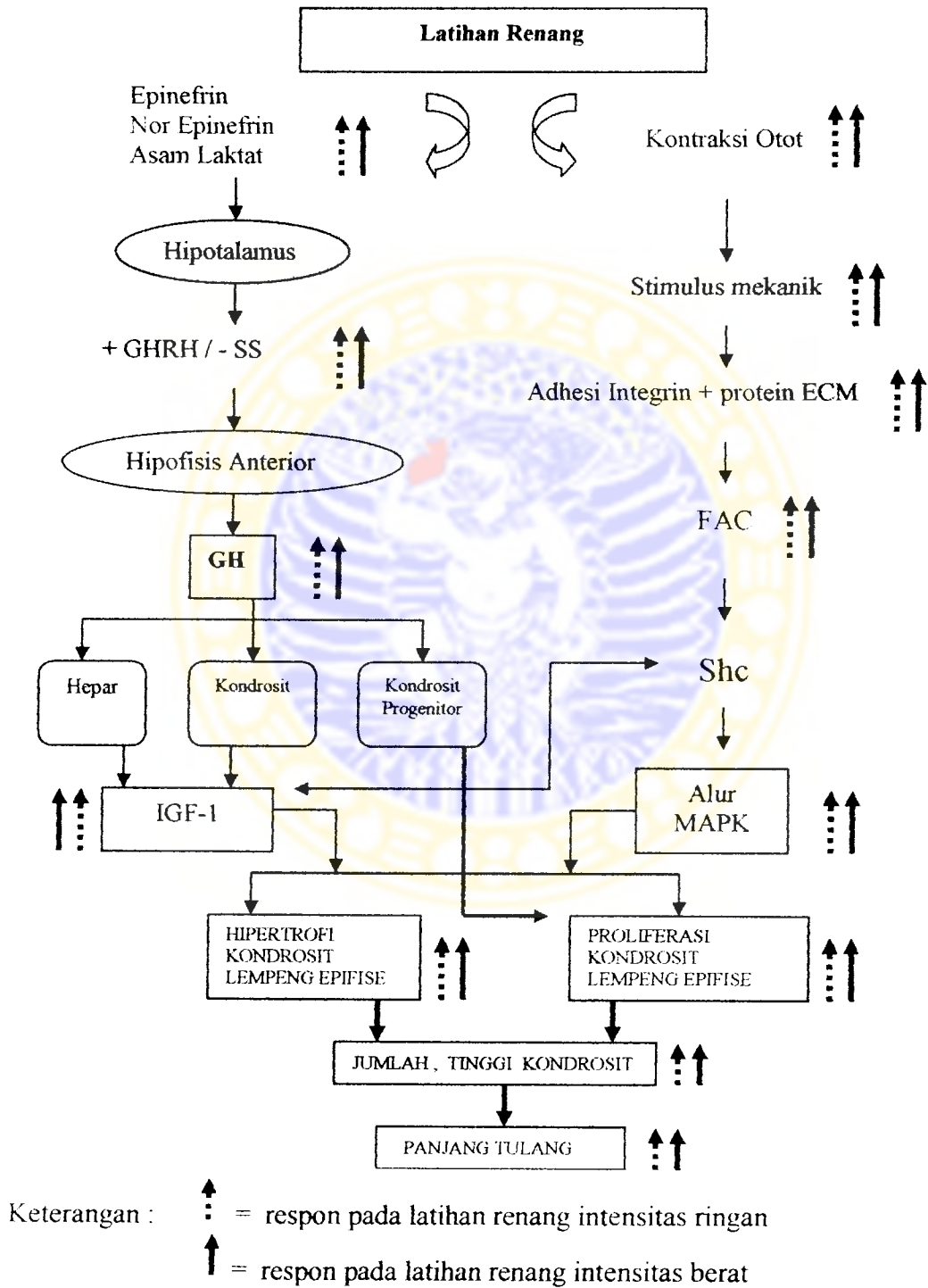
Gambar 2.9 : Struktur kerangka tulang tikus
(Pass, 1993)

o

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

Gaya yang ditimbulkan oleh kontraksi otot pada aktifitas fisik (renang) merupakan stimulus mekanik yang ditransmisikan sebagai pembebanan pada tulang (Schwarz, 2003). Stimulus mekanik yang diterima *ekstracellular matrix* (ECM) merangsang reseptor integrin pada membran sel kondrosit sebagai reseptor *signaling*, dan menyebabkan adhesi protein ECM dengan integrin membentuk *focal adhesion complex* (FAC) (Shakibei, 1999). Pembentukan FAC melalui serangkaian proses selanjutnya mengaktifasi alur signal MAPK (*mitogen-activated protein kinase*). Aktifasi alur MAPK akan merangsang terjadinya proliferasi dan hipertrofi kondrosit (Miyamoto, 1996).

Terdapat interaksi antara jalur integrin dengan faktor pertumbuhan (Shakibei, 1999) Adhesi integrin dengan protein ECM meregulasi aktifitas reseptor faktor pertumbuhan (Miyamoto, 1996), serta meningkatkan kepekaan kondrosit terhadap rangsangan IGF-I (Shakibei, 1999; Goessler, 2004). Interaksi sinergis antara integrin dengan reseptor faktor pertumbuhan juga berperan dalam memfosforilasi MAPK yang mengendalikan berbagai fungsi sel Miyamoto (1996). *Src-homology collagen* (Shc) merupakan titik interaksi mekanisme penghantaran sinyal antara integrin dengan faktor pertumbuhan. Aktifasi Shc oleh integrin dan faktor pertumbuhan mengaktifkan jalur MAPK (Shakibaei, 1999).

Latihan fisik menyebabkan peningkatan kadar asam laktat darah (Butkus, 1995), pelepasan nor epinefrin dan epinefrin (Giustina, 1998). Pelepasan substansi tersebut merangsang hipotalamus untuk meningkatkan sekresi GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone) serta menghambat pelepasan somatostatin (SS) sehingga meningkatkan sekresi GH oleh hipofise anterior (Thompson, 1993; Kaneley, 2002).

Growth Hormone merangsang proliferasi serta hipertrofi kondrosit pada lempeng

epifise baik secara langsung maupun secara tidak langsung melalui perantara IGF-I (Wang, 2004). *Growth Hormone* bekerja secara langsung pada sel kondrosit untuk merangsang differensiasi sel kondrosit progenitor dan menyiapkannya ke dalam fase proliferasi (Hunziker, 1994; Loveridge, 1995). Secara tidak langsung GH bekerja dengan jalan menginduksi sintesis IGF-I hepar (Solomon 1957 cit Eerden, 2003) dan meningkatkan produksi IGF-I lokal oleh sel kondrosit pada lempeng epifise (Hunziker, 1994). IGF-I merangsang proliferasi dan terutama meningkatkan hipertrofi kondrosit lempeng epifise (Musthaq, 2004). Meningkatnya proliferasi dan hipertrofi kondrosit akan meningkatkan jumlah dan tinggi sel kondrosit lempeng epifise, dan pada akhirnya meningkatkan pertumbuhan memanjang tulang (Weise, 2001).

3.2 Hipotesis Penelitian

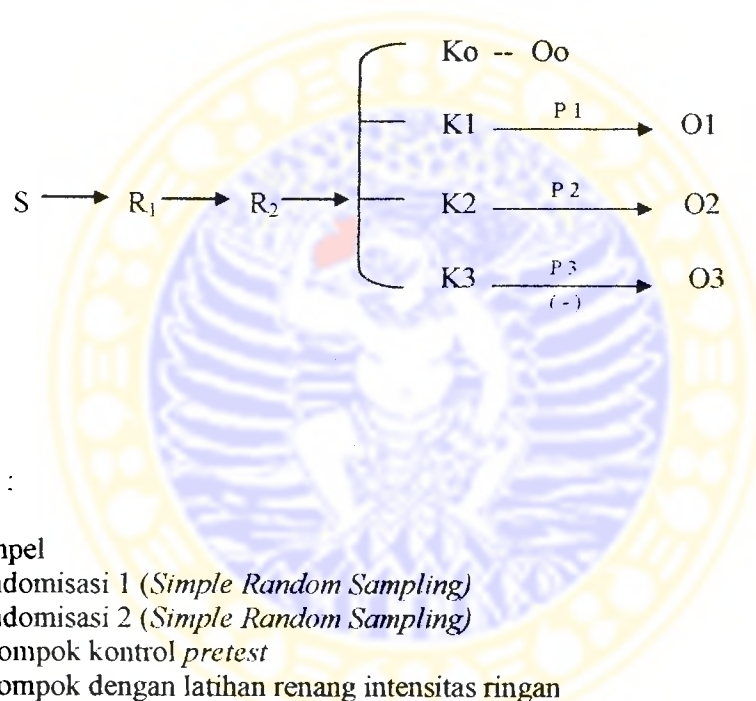
1. Latihan renang intensitas ringan dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
2. Latihan renang intensitas berat dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
3. Latihan renang intensitas berat lebih meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, dan tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise dibanding latihan renang intensitas ringan.
4. Terdapat hubungan antara peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan peningkatan panjang tulang
5. Terdapat hubungan antara intensitas latihan renang dengan peningkatan panjang tulang

BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental murni, menggunakan rancangan *The Separate Sample Pretest-Posttest Control Group Design* (Campbell, 1963).



Keterangan :

- S : Sampel
- R₁ : Randomisasi 1 (*Simple Random Sampling*)
- R₂ : Randomisasi 2 (*Simple Random Sampling*)
- K₀ : Kelompok kontrol *pretest*
- K₁ : Kelompok dengan latihan renang intensitas ringan
- K₂ : Kelompok dengan latihan renang intensitas berat
- K₃ : Kelompok kontrol *posttest*
- P₁ : Perlakuan latihan renang intensitas ringan
- P₂ : Perlakuan latihan renang intensitas berat
- P₃ : Perlakuan dipaparkan pada lingkungan berair
- O₀ : Data kelompok *pretest*
- O₁ : Data *posttest* kelompok latihan renang intensitas ringan
- O₂ : Data *posttest* kelompok latihan renang intensitas berat
- O₃ : Data *posttest* kelompok kontrol

4.2 Sampel, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berasal dari Laboratorium Terpadu Universitas Muhammadiyah Malang dengan kriteria : *strain Wistar*, jenis kelamin jantan, umur sekitar 3 minggu, berat badan sekitar 30 – 50 gram, sehat .

Besar sample penelitian ditentukan berdasarkan rumus Steell dan Torrie (1991)

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

- n = besar sampel
- Z α = harga standar α 0,05 (satu arah) = 1,65
- Z β = harga standar β 0,2 = 0,84
- σ = standar deviasi
- d = beda mean kelompok kontrol dan perlakuan

Dengan menganggap bahwa populasi berdistribusi normal dan perbedaan rata-rata antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan mempunyai perbedaan (d) sebesar σ (1 standar deviasi) sehingga $\sigma^2 / d^2 = 1$, maka $n = (Z\alpha + Z\beta)^2$. Berdasarkan perhitungan rumus tersebut maka $n = 6,2$ sehingga besar sampel minimal yang digunakan adalah 7 ekor tikus untuk setiap kelompok sehingga sampel keseluruhan adalah 28 ekor.

Pada sampel dilakukan randomisasi tehnik *simple random sampling* secara undian sebanyak dua kali yaitu randomisasi pertama (R1) untuk menentukan anggota masing-masing kelompok dan randomisasi kedua (R2) untuk menentukan jenis perlakuan masing-masing kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas (independen) :

1. Latihan renang intensitas ringan
2. Latihan renang intensitas berat

4.3.2 Variabel tergantung (dependen) :

1. Panjang tulang
2. Tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise
3. Jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi lempeng epifise

4.3.3 Variabel kendali :

1. Jenis hewan coba
2. Jenis kelamin hewan coba
3. Umur hewan coba
4. Kesehatan fisik hewan coba
5. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba

4.3.4 Variabel Moderator

Berat badan hewan coba

4.3.5 Definisi operasional variabel

1. Latihan renang intensitas ringan : yaitu latihan dalam bentuk renang dengan menggunakan beban seberat 3% dari berat badan hewan coba (tikus) yang diikatkan 5 cm. dari ujung ekor (Mc. Ardle, 1966 *cit* Athar, 1999), dengan suhu air 30° C. Latihan renang intensitas ringan diberikan dengan frekuensi latihan 1 kali sehari,

- dilakukan 3 kali seminggu (Senin, Rabu, Jumat) dengan waktu 40% dari rata-rata waktu renang maksimal dan dilakukan selama 6 minggu.
2. Latihan renang intensitas berat : yaitu latihan dalam bentuk renang menggunakan beban seberat 9% dari berat badan hewan coba (tikus) yang diikatkan 5 cm. dari ujung ekor (Mc. Ardle, 1966 *cit* Athar, 1999), dengan suhu air 30° C. Latihan renang intensitas berat diberikan dengan frekuensi latihan 1 kali sehari, dilakukan 3 kali seminggu (Senin, Rabu, Jumat) dengan waktu sesuai dengan perhitungan yang ditetapkan dan dilakukan selama 6 minggu.
 3. Panjang tulang : adalah panjang tulang tibia kanan hewan coba yang diukur dengan jangka sorong *Schlieper* satuan mm (millimeter) dengan ketelitian 1 angka di belakang koma.
 4. Tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise : yaitu rata-rata tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise yang diukur dari 5 sel pada setiap lapangan pandang, dan dilakukan pada tiga lapangan pandang (tengah, tepi kiri, dan tepi kanan). Tinggi sel yaitu jarak antara septum transversum superior dan inferior, diukur sejajar dengan sumbu longitudinal tulang (Cobo, 1999; Abhaya, 2002). Pengukuran tinggi sel dilakukan menggunakan foto yang diambil dengan kamera digital yang dipasang pada mikroskop cahaya pembesaran 400 X, kemudian diukur dengan program *Adobe photoshop 7.0*. Satuan penghitungan adalah μm (mikronmeter).
 5. Jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi lempeng epifise : adalah jumlah rata-rata sel kondrosit di zona proliferasi lempeng epifise dari tiga lapangan pandang (tengah, tepi kiri, dan tepi kanan). Penghitungan dilakukan menggunakan foto yang diambil dengan kamera digital yang dipasang pada mikroskop cahaya pembesaran 400 X. Penghitungan jumlah sel menggunakan bantuan *grid* pada program *Adobe*

photoshop 7.0 yang setiap kotaknya berskala 100 x 100 μm , dan dilakukan pada 5 kotak pada setiap lapangan pandang. Satuan penghitungan adalah jumlah sel per $10^4 \mu\text{m}^2$.

6. Jenis hewan coba : adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dari tempat penangkaran.
7. Jenis kelamin hewan coba : adalah jantan.
8. Umur hewan coba : pada awal penelitian ini berusia sekitar 3 minggu.
9. Kesehatan fisik hewan coba : berbadan sehat dengan ciri-ciri : bermata jernih, bulu mengkilat, gerakan aktif, *feces* baik atau tidak lembek, berat badan tidak turun 10% selama proses aklimatisasi (Farris, 1962).
10. Pemeliharaan dan perawatan hewan coba : di dalam kandang ukuran 30 cm. x 40 cm x 20 cm. dimana setiap kandang diisi 5 ekor hewan coba. Kandang terbuat dari bak plastik yang ditutup dengan anyaman kawat (Kusumawati, 2003). Makanan yang digunakan adalah makanan hewan jenis BR-2 produksi PT. Comfeed (lampiran) sebanyak 5 gram/100 gram berat badan/hari, diberikan secara *ad libitum* dan diberi minum air dari Perusahaan Air Minum (PAM) secara *ad libitum*.
11. Berat badan hewan coba : ditimbang dengan timbangan Torbal (*Torsion Balance*) dalam satuan gram dengan ketelitian 1/10 gram. Penimbangan berat badan dilakukan setiap minggu sekali.

4.4 Bahan dan Alat Penelitian

4.4.1 Bahan penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini : (1) hewan coba, yaitu *Rattus norvegicus strain Wistar* dengan kriteria tertentu. (2) Bahan untuk perlakuan dan

pemeriksaan : Chloroform (obat bius), Buffer Formalin 10% untuk fiksasi tulang. (3)
Bahan untuk pembuatan sediaan histologi (terlampir).

4.4.2 Alat penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : kandang ukuran 30 cm. x 40 cm. x 20 cm., setiap kandang diisi dengan 5 ekor tikus, ember untuk berenang berdiameter 50 cm. dan tinggi 60 cm dengan kedalaman air 40 cm., timbangan Torbal (*Torsion Balance*) untuk menimbang berat badan tikus, logam pembebanan (klip kertas) yang diikatkan pada benang, cat untuk memberi tanda pada badan tikus, termometer untuk mengukur suhu air, *Stopwatch* 10 digit, stoples untuk pembiusan tikus, papan bedah, gunting dan pisau bedah (*minor surgery set*), botol untuk fiksasi jaringan, gelas obyek dengan penutupnya, jangka sorong merek *Schlieper hardened 20^o*, mikroskop cahaya, kamera digital, program komputer *Adobe Photoshop 7.0*.

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi hewan coba selama 7 hari dalam kondisi Laboratorium Kimia UMM. Dua hari pertama merupakan waktu aklimatisasi kandang. Hari ke-3 hewan coba diperkenalkan pada lingkungan berair namun belum berenang. Hari ke-4 dan 5 merupakan waktu aklimatisasi berenang tanpa beban. Hari ke-6 istirahat dan hari ke-7 dilakukan penentuan beban latihan.

4.5.2 Pembagian kelompok hewan coba :

Pada sampel dilakukan randomisasi tehnik *simple random sampling* secara undian sebanyak dua kali yaitu randomisasi pertama (R1) untuk menentukan anggota

masing-masing kelompok, dan randomisasi kedua (R2) untuk menentukan jenis perlakuan masing-masing kelompok. Berdasarkan cara tersebut maka 28 ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing terdiri dari 7 ekor, yaitu :

Kelompok Ko : kelompok kontrol *pretest*

Kelompok K1 : kelompok perlakuan latihan renang intensitas ringan

Kelompok K2 : kelompok perlakuan latihan renang intensitas berat

Kelompok K3 : kelompok kontrol *posttest*

4.5.3 Penimbangan berat badan

Penimbangan berat badan tikus dilakukan pada semua kelompok sebelum perlakuan pertama kali dan selanjutnya dilakukan setiap minggu sekali untuk menyesuaikan beban kerja dengan pertambahan berat badan hewan coba.. Hewan coba ditimbang dengan timbangan Torbal dalam satuan gram dengan ketelitian 1/10 gram.

4.5.4 Pengambilan data *pretest*

Pengambilan data *pretest* dilakukan pada kelompok kontrol *pretest* (Ko) sebelum pelaksanaan perlakuan. Pembiusan dilakukan pada hewan coba kelompok Ko dengan menggunakan chloroform dalam stoples pembiusan. Kurang lebih 1 menit tikus sudah tidak bernafas yang ditandai dengan mata meredup dan anggota badan tidak bergerak.

4.5.5 Penentuan waktu renang maksimal

Dilakukan uji coba kemampuan renang untuk menentukan lama waktu latihan. Semua hewan coba (tikus) kelompok K1 dan K2 direnangkan menggunakan beban 3% dari berat badan untuk mencari nilai rata-rata dari waktu renang maksimal (ditandai

dengan tenggelamnya tikus satu kali dan mengeluarkan gelembung-gelembung udara)
(Mc Ardle, 1996 *cit* Santoso, 2001).



Gambar 4.1 : Cara pemberian beban pada hewan coba

4.5.6 Penentuan waktu renang kelompok perlakuan

Lama waktu renang untuk kelompok latihan renang intensitas ringan adalah 40% dari nilai rata-rata waktu renang maksimal, dan untuk kelompok latihan renang intensitas berat diperoleh dari persamaan :

$$9 \% BB \times wb = 3 \% BB \times wr$$

$$wb = \frac{3 \% \times wr}{9 \%}$$

(Sumber : Bompa, 1994; Fox, 1999; Mc Ardle, 1966 *cit* Athar, 1999)

Keterangan :

wb = lama waktu renang intensitas berat
wr = lama waktu renang intensitas ringan

4.5.7 Penentuan program latihan

1. Program latihan renang intensitas ringan adalah sebagai berikut :

Beban kerja : 40% dari nilai rata-rata waktu renang maksimal dengan beban pemberat 3% dari berat badan.

Frekuensi : 1x sehari, dilakukan 3 x seminggu (Senin, Rabu, Jumat)

Lama latihan : 6 minggu

Waktu latihan : Pagi hari mulai pukul 09.00 WIB

2. Program latihan renang intensitas berat adalah sebagai berikut :

Beban kerja : lama waktu yang diperoleh dari persamaan, dengan beban pemberat 9% dari berat badan.

Frekuensi : 1x sehari, dilakukan 3 x seminggu (Senin, Rabu, Jumat)

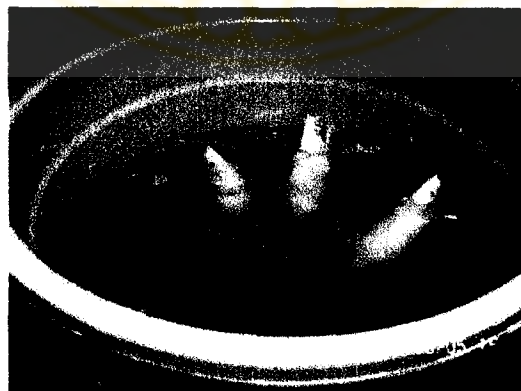
Lama latihan : 6 minggu

Waktu latihan : Pagi hari mulai pukul 09.00 WIB

(Bompa, 1994; Fox, 1999; Mc Ardle, 1966 cit Athar, 1999)

3. Program untuk kelompok kontrol *posttest*

Pada kelompok kontrol *posttest* diberi paparan lingkungan yang sama dengan kelompok perlakuan yaitu dimasukkan dalam bak berisi air setinggi leher dengan waktu rata-rata dari waktu perlakuan latihan renang intensitas ringan ditambah intensitas berat. Frekuensi, lama, dan waktu mulai paparan sama dengan kelompok perlakuan yaitu 1 x sehari, dilakukan sebanyak 3 x seminggu (Senin, Rabu, Jumat), selama 6 minggu, dan dimulai pukul 09.00 WIB.



Gambar 4.2 : Perlakuan renang pada hewan coba

4.5.8 Pembiusan hewan coba

Pembiusan dilakukan dua kali yaitu dilakukan pada kelompok kontrol *pretest* (K₀) sebelum pelaksanaan perlakuan, dan setelah penimbangan berat badan terakhir untuk kelompok perlakuan renang (K₁ dan K₂) dan kelompok kontrol *posttest* (K₃).

Pembiusan dilakukan dengan menggunakan chloroform kurang lebih 5 ml. untuk tiap ekor, dituang ke kapas dan dimasukkan dalam stoples pembiusan. Kurang lebih 1 menit tikus sudah tidak bernafas yang ditandai dengan mata meredup dan anggota badan tidak bergerak.

4.5.9 Pengukuran panjang tulang

Setelah tikus tidak bernafas maka tulang tibia kanan dipisahkan dari tubuh dan dibersihkan dari semua otot dan tendon yang melekat, lalu dilakukan pengukuran panjang tulang. Panjang tulang diukur dengan jangka sorong merek Schlieper *hardened* 20°

4.5.10 Pembuatan sediaan histologi dan pewarnaan

Tulang difiksasi dalam tabung berisi larutan Buffer Formalin 10% sebanyak ± 10 cc, dan dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair untuk dilakukan pembuatan sediaan histologi dengan pewarnaan hematoksin eosin (HE). Teknik pengirisan sejajar dengan sumbu longitudinal tulang dengan ketebalan ± 6 mikron. Teknik pembuatan sediaan dan pewarnaan tercantum dalam lampiran.

4.5.11 Penghitungan jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi lempeng epifise

Lokasi penghitungan ditentukan berdasarkan 3 lapangan pandang yaitu pada kedua bagian tepi kiri dan kanan serta bagian tengah zona proliferasi lempeng epifise

4.5.12 Pengukuran tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise

Lokasi pengukuran ditentukan berdasarkan 3 lapangan pandang yaitu pada kedua bagian tepi kiri dan kanan serta bagian tengah zona hipertrofi sediaan lempeng epifise (Weise, 2001; Sumantri, 2001; Abhaya, 2002).

Bagian tengah zona hipertrofi adalah bagian tengah lempeng epifise yang terletak pada zona hipertrofi yang tepi atasnya dibatasi oleh sel-sel kondrosit zona proliferasi dan bagian bawahnya dibatasi oleh sel-sel kondrosit zona kalsifikasi. Bagian tepi zona hipertrofi adalah zona hipertrofi yang terletak pada tepi kiri dan kanan lempeng epifise yang berdekatan dengan perikondrium.

Sel kondrosit yang diukur adalah yang memenuhi kriteria sebagai berikut (Weise, 2001) :

1. Sel terletak di dalam lakuna paling distal yang belum terinvansi oleh pembuluh darah metafise
2. Tampak sitoplasma dan inti sel.
3. Tidak tampak sitoplasma tetapi tampak inti.

Tinggi sel kondrosit adalah jarak antara septum transversum superior dan inferior yang diukur sejajar dengan sumbu longitudinal tulang. (Cobo, 1999; Abhaya, 2002).

Pengukuran tinggi sel dilakukan berdasarkan hasil foto pada 3 lapangan pandang diatas yang diambil menggunakan kamera digital yang dipasang pada mikroskop cahaya pembesaran 400 kali. Pada setiap lapangan pandang dipilih 5 sel kondrosit yang memenuhi kriteria, kemudian dilakukan pengukuran tinggi sel menggunakan program *Adobe photoshop 7.0*. Hasil penghitungan dari ketiga lapangan pandang dijumlah dan diambil nilai rata-ratanya. Satuan penghitungan adalah μm (mikronmeter).

4.5.13 Waktu perlakuan

Waktu perlakuan selama 6 minggu berdasarkan waktu yang diperlukan kondrosit untuk membelah dan maturasi dari sekresi matriks ekstrasel yaitu selama 6 – 8 minggu (Mankin, 2000).

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

4.6.1 Lokasi penelitian

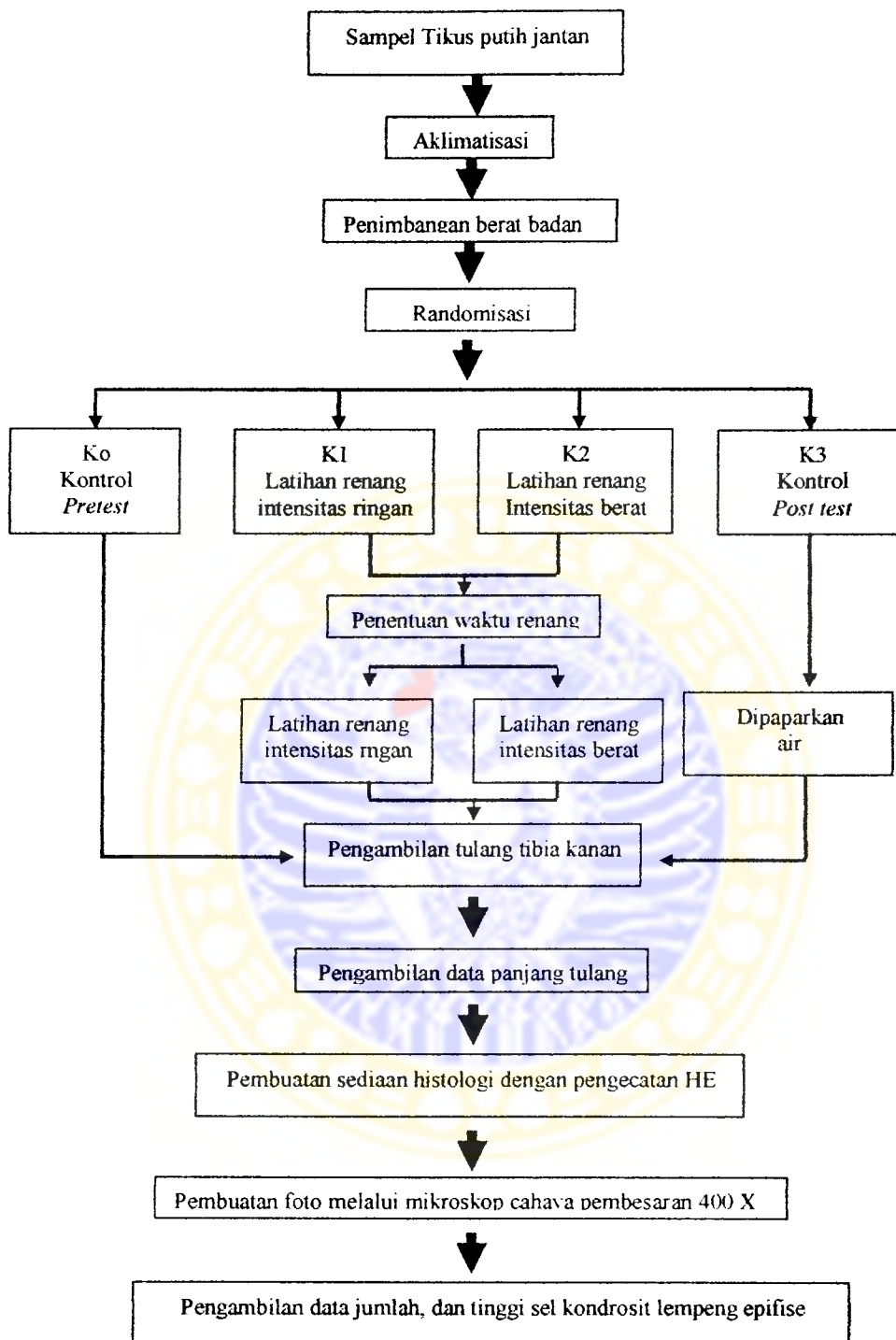
Penelitian dilakukan di : Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang untuk pemeliharaan hewan coba, perlakuan latihan renang, pengukuran berat dan panjang tulang; Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Unair Surabaya untuk pembuatan sediaan histologi tulang tibia; Laboratorium Patologi Umum Fakultas Kedokteran Hewan Unair untuk pembuatan foto mikroskop.

4.6.2 Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam waktu 5 bulan (April 2006 – Agustus 2006), terhitung sejak proses aklimatisasi hewan coba sampai dengan penyusunan laporan.

4.7 Analisis Data

Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan : (1) statistik deskriptif untuk mengetahui gambaran karakteristik variabel, (2) uji homogenitas untuk mengetahui apakah kondisi sebelum perlakuan sama untuk seluruh kelompok, (3) uji normalitas distribusi untuk mengetahui apakah data yang diperoleh berasal dari populasi yang normal, (4) uji Manova untuk menganalisa perbedaan setiap variabel, (5) uji diskriminan untuk mengetahui variabel mana yang paling berperan dan mengetahui pola kontribusinya.



Gambar 4.4 : Skema alur kerja penelitian

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Data yang didapat dari hasil penelitian adalah : (1) variabel moderator yaitu berat badan hewan coba (g), (2) variabel tergantung yaitu : panjang tulang tibia (mm), tinggi sel kondrosit (μm), dan jumlah sel kondrosit ($\text{sel}/10^4 \mu\text{m}^2$). Berdasarkan data tersebut dilakukan uji normalitas distribusi, uji homogenitas, analisis deskriptif, analisis Manova dan uji diskriminan dengan taraf signifikansi sebesar 5%.

5.1 Hasil Uji Normalitas

Tabel 5.1 Hasil Uji Normalitas

Kelompok	Nilai Probabilitas Kolmogorov-Smirnov			
	Panjang Tulang	Tinggi Sel	Jumlah Sel	Berat Badan Awal
Kontrol Pretest	0,696	0,731	0,697	0,998
Renang Intensitas Ringan	0,981	0,749	0,832	0,748
Renang Intensitas Berat	0,739	0,574	0,996	0,883
Kontrol Posttest	0,998	0,856	0,848	0,938

Hasil uji normalitas pada semua kelompok menunjukkan harga $p > 0,05$ yang berarti semua kelompok berdistribusi normal, hasil selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 10.

5.2 Hasil Uji Homogenitas

Uji homogenitas *Oneway Anova* dilakukan untuk mengetahui homogenitas sampel dengan menguji varian berat badan awal pada semua kelompok.

Tabel 5.2 Hasil Uji Homogenitas

Berat Badan Awal	F	Sig.
Antar Kelompok	0,556	0,649

Dari hasil uji homogenitas didapatkan nilai signifikansi 0,649 ($p > 0,05$) yang berarti berat badan awal semua kelompok mempunyai varian yang homogen. Hasil selengkapnya tercantum dalam lampiran 9

5.3 Hasil Analisis Variabel Moderator

5.3.1 Hasil analisis deskriptif variabel moderator

Tabel 5.3 Nilai rerata dan SD variabel moderator pada seluruh kelompok

KELOMPOK	Variabel	
	BB Awal (g)	BB Akhir (g)
Kontrol <i>Pretest</i>	42,6 ± 2.9	—
Renang Intensitas Ringan	40.9 ± 5.3	131.9 ± 5.5
Renang Intensitas Berat	42.1 ± 3.3	132.4 ± 7.7
Kontrol <i>Posttest</i>	40.1 ± 4.6	128.2 ± 7.1

Hasil menunjukkan bahwa peningkatan berat badan akhir terbesar terjadi pada kelompok latihan renang intensitas berat, disusul oleh kelompok latihan renang intensitas ringan, dan yang terakhir adalah kelompok kontrol *posttest*. Hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 12.

5.3.2 Hasil analisis Anova dan LSD variabel moderator berat badan akhir

Hasil analisis Anova variabel moderator berat badan akhir pada seluruh kelompok dapat dilihat pada tabel 5.4, sedangkan hasil analisis LSD tercantum pada tabel 5.5

Tabel 5.4 Hasil analisis Anova variabel moderator berat badan akhir

Univariat

	F	Sig.
Contrast	0,777	0,475
Error		

Tabel 5.5 Hasil analisis LSD variabel moderator berat badan akhir

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Sig.
Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-0,4857	0,896
	Kontrol Posttest	3,6714	0,328
Intensitas Berat	Intensitas Ringan	0,4857	0,896
	Kontrol Posttest	4,1571	0,269
Kontrol Posttest	Intensitas Ringan	-3,6714	0,328
	Intensitas Berat	-4,1571	0,269

Dari hasil analisis Anova didapatkan nilai signifikansi 0,475 ($p > 0,05$), analisis LSD juga menghasilkan nilai $p > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan berat badan akhir yang bermakna diantara kelompok. Hasil analisis lengkap dapat dilihat pada lampiran 12.

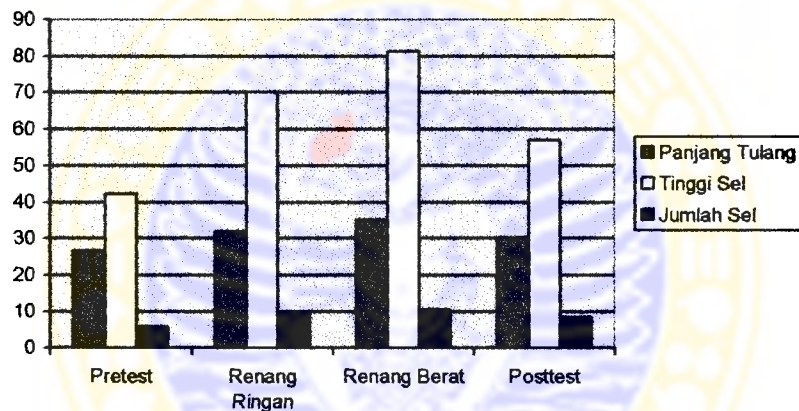
5.4 Hasil Analisis Variabel Tergantung

5.4.1 Hasil analisis deskriptif variabel tergantung

Hasil analisis deskriptif variabel tergantung dapat dilihat pada tabel 5.6 sedangkan hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 13 .

Tabel 5.6 Nilai rerata dan SD variabel tergantung pada seluruh kelompok

Kelompok	Variabel		
	Panjang Tlg (mm)	Tinggi Sel (μm)	Jumlah Sel ($\text{sel} / 10^4 \mu\text{m}^2$)
Kontrol Pretest	26,68 \pm 1,13	42,18 \pm 3,62	5,86 \pm 0,87
Renang Intensitas Ringan	31,91 \pm 1,32	70,14 \pm 2,21	9,41 \pm 0,34
Renang Intensitas Berat	35,02 \pm 0,96	81,22 \pm 1,88	10,67 \pm 0,32
Kontrol Posttest	30,17 \pm 0,99	57,02 \pm 0,95	8,39 \pm 0,24



Gambar 5.1 : Diagram batang rerata variabel tergantung

5.4.2 Hasil analisis Manova variabel tergantung

Tabel 5.7 Tes multivariat variabel tergantung

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hotelling's trace	134,183	308,124	9,000	62,000	,000

Hasil uji multivariat menggunakan metode *Hotelling's Trace* (tabel 5.7) menghasilkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan adanya perbedaan nyata pada variabel tergantung secara bersama diantara keempat kelompok. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13.

Tabel 5.8 Tes univariat variabel tergantung

VARIABEL TERGANTUNG	F	Sig.
PANJANG TULANG	68,076	0,000
TINGGI SEL	353,051	0,000
JUMLAH SEL	111,002	0,000

Analisis secara univariat pada variabel tergantung (tabel 5.8) masing-masing menghasilkan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan nyata pada masing-masing variabel tergantung secara terpisah pada keempat kelompok. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 13.

5.5 Efek Maturasi

Untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan variabel tergantung akibat maturasi selama penelitian maka dilakukan analisis efek maturasi. Nilai efek maturasi pada setiap variabel didapatkan dari selisih rerata kelompok kontrol *posttest* dengan rerata kelompok *pretest*, dan dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9 Efek maturasi

Variabel	Rerata Kelompok			
	Pretest	Posttest	Maturasi	Sig.
Panjang tulang (mm)	26,68	30,17	5,22	0,000
Tinggi sel (μm)	42,18	57,02	27,95	0,000
Jumlah sel ($/10^4 \mu\text{m}^2$)	5,86	8,39	3,55	0,000

Nilai kemaknaan efek maturasi pada setiap variabel ditunjukkan dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti ke tiga variabel tersebut mengalami peningkatan pertumbuhan akibat maturasi. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 11.

5.6 Hasil Analisis Peningkatan Variabel Tergantung sebagai Respon terhadap Perlakuan

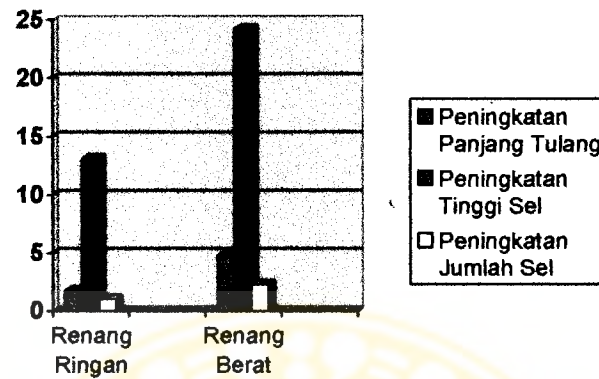
Peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan merupakan nilai rerata yang didapat dari pengurangan nilai rerata setiap variabel tergantung pada kelompok renang intensitas ringan dan berat, dengan nilai rerata setiap variabel tergantung pada kelompok kontrol posttest. Nilai yang diperoleh merupakan respon akibat perlakuan renang, dan menjadi variabel tergantung baru yang akan dianalisis selanjutnya.

5.6.1 Hasil analisis deskriptif peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Tabel 5.10 Nilai rerata dan SD peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

	KELOMPOK	Rerata	Std. Deviation
Peningkatan Panjang Tulang	Intensitas Ringan	1,7433	1,3259
	Intensitas Berat	4,8576	0,9690
Peningkatan Tinggi Sel	Intensitas Ringan	13,1247	2,2179
	Intensitas Berat	24,2061	1,8856
Peningkatan Jumlah Sel	Intensitas Ringan	1,0256	0,3479
	Intensitas Berat	2,2827	0,3246

Hasil analisis tersebut menunjukkan besar peningkatan respon semua variabel tergantung akibat perlakuan renang intensitas berat lebih besar dibanding intensitas ringan. Hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 14



Gambar 5.2 Diagram batang rerata peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

5.6.2 Hasil analisis Manova peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Tabel 5.11 Tes multivariat peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Test Multivariat					
	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Hotelling's trace	24,345	54,777(a)	4,000	9,000	0,000

Berdasarkan hasil uji multivariat dengan metode *Hotelling's Trace* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) (tabel 5.11) yang menunjukkan adanya perbedaan nyata nyata pada peningkatan panjang tulang, tinggi, dan jumlah sel secara bersama pada kedua kelompok renang. Hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 14

Tabel 5.12 Tes univariat peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Test Univariat

Variabel Tergantung	F	Sig.
Peningkatan Panjang Tulang	25,172	0,000
Peningkatan Tinggi Sel	101,429	0,000
Peningkatan Jumlah Sel	48,862	0,000

Analisa secara univariat pada masing-masing respon peningkatan (tabel 5.12) juga menghasilkan signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang nyata pada masing-masing peningkatan variabel tergantung secara terpisah pada kedua kelompok renang. Hasil analisis selengkapnya tercantum pada lampiran 14.

5.6.3 Hasil analisis diskriminan peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Hasil uji diskriminan terhadap peningkatan respon variabel tergantung pada kedua kelompok perlakuan ditampilkan pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Hasil uji diskriminan peningkatan variabel tergantung sebagai respon terhadap perlakuan

Variabel	Wilks' Lambda	F	Sig.
PENINGKATAN PANJANG TULANG	0,323	25,172	0,000
PENINGKATAN TINGGI SEL	0,106	101,429	0,000
PENINGKATAN JUMLAH SEL	0,197	48,862	0,000

Hasil uji diskriminan terhadap peningkatan respon pada kedua kelompok perlakuan mendapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) pada semua variabel yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada semua variabel diantara kedua kelompok perlakuan. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran I5.

Selanjutnya dilakukan analisis *Stepwise statistics* untuk mengetahui variabel tergantung manakah yang menjadi pembeda diantara kelompok perlakuan.

Table 5.14 Hasil analisis *Stepwise statistics*

Step	Entered	Wilks' Lambda							
		Statistic	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	PENINGKATAN TINGGI SEL	0,106	1	1	12,000	101,29	1	12,000	0,000
2	PENINGKATAN JUMLAH SEL	0,046	2	1	12,000	114,917	2	11,000	0,000

Berdasarkan hasil analisis *Stepwise statistics* pada tabel 5.14 maka variabel yang digunakan untuk membentuk fungsi diskriminan adalah variabel peningkatan tinggi sel dan peningkatan jumlah sel yang berarti kedua variabel tersebut berfungsi sebagai variabel pembeda diantara kedua kelompok perlakuan. Berdasarkan tabel tersebut dapat diketahui bahwa peningkatan tinggi sel mengalami perubahan terlebih dahulu disusul oleh peningkatan jumlah sel. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran I5.

5.6.4 Penentuan pola kontribusi variabel pembeda terhadap perlakuan

Penentuan pola kontribusi peningkatan tinggi dan jumlah sel pada kelompok renang intensitas ringan dan berat atas dasar nilai kontribusi rerata setiap variabel

pembeda (table 5.15), yang diperoleh dari perkalian antara koefisien fungsi diskriminan (tabel 5.16) dengan rerata setiap variabel pembeda (tabel 5.10, hal.55).

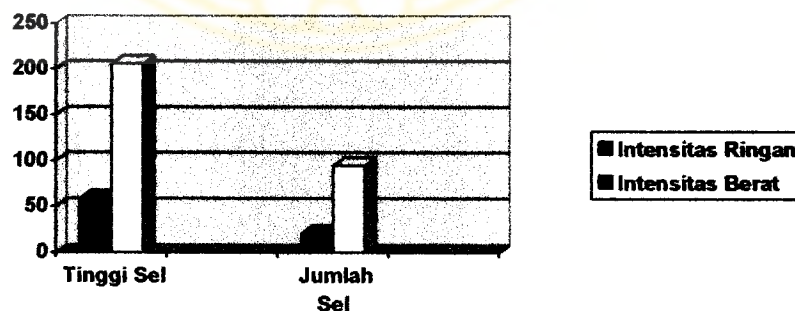
Tabel 5.15 Kontribusi rerata peningkatan tinggi dan jumlah sel menurut kelompok

KELOMPOK PERLAKUAN	KONTRIBUSI RERATA PENINGKATAN TINGGI SEL	KONTRIBUSI RERATA PENINGKATAN JUMLAH SEL
Intensitas Ringan	58,5756	20,8181
Intensitas Berat	206,0185	94,9563

Tabel 5.16 Koefisien fungsi diskriminan

VARIABEL PEMBEDA	KELOMPOK	
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat
PENINGKATAN TINGGI SEL	4,463	8,511
PENINGKATAN JUMLAH SEL	20,299	41,598
(Constant)	-40,390	-151,184

Gambar 5.3 menunjukkan pola kontribusi variabel tergantung terhadap perlakuan yaitu bahwa kontribusi peningkatan tinggi sel akibat renang intensitas ringan lebih kecil (58.5756) dibandingkan renang intensitas berat (206.0185), dan kontribusi peningkatan jumlah sel akibat renang intensitas ringan lebih kecil (20.8181) dibandingkan renang intensitas berat (94.9563).



Gambar 5.3 Diagram batang kontribusi peningkatan tinggi dan jumlah sel sebagai respon terhadap perlakuan

5.7 Uji Korelasi

Untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung maka digunakan analisis korelasi.

5.7.1 Korelasi latihan renang dengan peningkatan panjang tulang

Tabel 5.17 Nilai koefisien korelasi latihan renang dengan peningkatan panjang tulang

		PENINGKATAN PANJANG TLG	RENANG
Pearson Correlation	PENINGKATAN PANJANG TLG	1,000	0,823
	RENANG	0,823	1,000
Sig. (1-tailed)	PENINGKATAN PANJANG TLG		0,000
	RENANG	0,000	

Berdasarkan tabel 5.17 maka koefisien korelasi Pearson antara perlakuan renang dengan peningkatan panjang tulang adalah 0,823 dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat korelasi positif yang bermakna antara latihan renang dengan peningkatan panjang tulang. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 16.

5.7.2 Korelasi tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan panjang tulang

Tabel 5.18 Nilai koefisien korelasi tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan panjang tulang

		PANJANG TULANG	TINGGI SEL	JUMLAH SEL
Pearson Correlation	PANJANG TULANG	1,000	,955	,873
	TINGGI SEL	,955	1,000	,920
	JUMLAH SEL	,873	,920	1,000
Sig. (1-tailed)	PANJANG TULANG		,000	,000
	TINGGI SEL	,000		,000
	JUMLAH SEL	,000	,000	

Berdasarkan tabel 5.18 maka koefisien korelasi Pearson antara tinggi sel (0,955) dan jumlah sel kondrosit (0,873) dengan panjang tulang keduanya mempunyai nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat korelasi positif yang bermakna antara tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan panjang tulang. Hasil analisis selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 17.



BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimental murni (true eksperimental) yaitu adanya kelompok kontrol, replikasi, dan randomisasi (Zainudin, 1999).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Separate Sample Pretest-The Posttest Control Group Design* (Campbell, 1963). *Separate Sample Pretest* digunakan untuk mendapatkan data awal variabel tergantung sebab pengambilan sediaan tulang sebagai unit analisis tempat pengukuran variabel tergantung harus mengorbankan sampel penelitian. Data tersebut digunakan untuk melihat efek maturasi peningkatan panjang tulang dan aktivitas kondrosit dengan cara membandingkannya dengan data kelompok kontrol *posttest*.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih dengan jenis kelamin jantan. Dasar pemilihan tersebut adalah karena penutupan lempeng epifise pada tikus lebih lambat dibanding spesies lain (Ohlsson, 1998; Eerden, 2003), dan pada umumnya belum mengalami fusi lempeng epifise pada fase pematangan seksual (Nilsson, 2002). Pemilihan jenis kelamin jantan bertujuan untuk menghindari pengaruh hormon estrogen yang dapat mempercepat fusi lempeng epifise (Juul, 2001).

Tahapan analisis data dijelaskan sebagai berikut ini. Untuk mengetahui apakah data berasal dari sampel yang berdistribusi normal dilakukan uji normalitas pada berat badan awal seluruh kelompok, sedangkan untuk mengetahui apakah variabel yang akan dianalisa berdistribusi normal dilakukan uji normalitas pada data variabel tergantung

dari seluruh kelompok. Untuk mengetahui homogenitas varian sampel maka dilakukan uji homogenitas pada berat badan awal pada seluruh kelompok sampel. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas tersebut diperoleh hasil sampel berdistribusi normal dan homogen demikian pula dengan data variabel tergantung yang diperoleh juga mempunyai distribusi normal sehingga memenuhi syarat untuk tahapan analisa selanjutnya.

Untuk mendapatkan karakteristik data secara umum dilakukan analisis deskriptif pada variabel moderator dan variabel tergantung. Analisis Manova secara *multivariat* dilakukan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan variabel tergantung secara bersama diantara kelompok perlakuan, sedangkan untuk mengetahui perbedaan masing-masing variabel tergantung secara terpisah diantara kelompok perlakuan dilakukan analisis secara *univariat*.

Untuk mengetahui variabel tergantung yang berfungsi sebagai variabel pembeda diantara kedua kelompok perlakuan dilakukan analisis diskriminan. Dari hasil uji diskriminan tampak bahwa variabel penambahan tinggi dan jumlah sel kondrosit mempunyai kontribusi yang bermakna pada perbedaan antara kedua kelompok perlakuan.

Tahapan analisa selanjutnya adalah untuk mengetahui lebih lanjut tentang hubungan antara variabel bebas dengan variabel tergantung dilakukan analisis korelasi. Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan perlakuan renang dengan peningkatan panjang tulang, serta untuk mengetahui hubungan antara peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan peningkatan panjang tulang.

6.2 Pembahasan Hasil Penelitian

6.2.1 Pembahasan hasil analisis variabel moderator

Dari hasil analisis deskriptif diperoleh gambaran bahwa peningkatan berat badan akhir terbesar terjadi pada kelompok latihan renang intensitas berat (132.4 ± 7.7 g), disusul oleh latihan renang intensitas ringan (131.9 ± 5.5 g), dan yang terakhir adalah kontrol *posttest* (128.2 ± 7.1 g). Hal tersebut sesuai dengan urutan rerata panjang tulang pada ketiga kelompok yaitu rerata panjang tulang terbesar dicapai oleh kelompok latihan renang intensitas berat, disusul latihan renang intensitas ringan, dan kontrol *posttest*. Meningkatnya panjang tulang akan diikuti dengan peningkatan massa jaringan penyusun tulang sehingga dapat berperan dalam peningkatan berat badan.

Berdasarkan analisis Anova tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada berat badan akhir diantara kelompok, hal tersebut berarti berat badan tidak mempengaruhi perbedaan hasil atau variabel tergantung pada masing-masing kelompok, dengan kata lain perbedaan variabel tergantung antar kelompok disebabkan oleh perbedaan perlakuan.

6.2.2 Pembahasan hasil analisis variabel tergantung

Dari hasil analisis secara deskriptif variabel tergantung diperoleh gambaran bahwa rerata panjang tulang, tinggi dan jumlah sel kondrosit terbesar terdapat pada latihan renang intensitas berat ($35,02 \pm 0,96$ mm, $81,22 \pm 1,88$ μm , $10,67 \pm 0,32$ sel / 10^4 μm^2), kemudian latihan renang intensitas ringan ($31,91 \pm 1,32$ mm, $70,14 \pm 2,21$ μm , $9,41 \pm 0,34$ sel / 10^4 μm^2), kontrol *posttest* ($30,17 \pm 0,99$ mm, $57,02 \pm 0,95$ μm , $8,39 \pm 0,24$ sel / 10^4 μm^2), dan nilai terendah terdapat pada kontrol *pretest* ($26,68 \pm 1,13$ mm, $42,18 \pm 3,62$ μm , $5,86 \pm 0,87$ sel / 10^4 μm^2). Dari hasil analisis Manova

secara multivariat dan univariat diketahui bahwa panjang tulang, tinggi, dan jumlah sel kondrosit tersebut berbeda secara bermakna diantara kelompok.

Hasil analisis tersebut membuktikan bahwa latihan renang intensitas ringan dan intensitas berat lebih meningkatkan panjang tulang, jumlah sel, serta tinggi sel kondrosit pada lempeng epifise dibanding kontrol. Untuk mengetahui peningkatan panjang tulang, tinggi, dan jumlah sel kondrosit sebagai respon terhadap perlakuan renang, maka data kelompok latihan renang intensitas ringan dan berat dibandingkan dengan data kontrol *posttest* dengan cara mengurangi nilai rerata setiap variabel pada kelompok latihan renang intensitas ringan dan berat dengan nilai rerata setiap variabel pada kelompok kontrol *posttest*.

Hasil perbandingan dengan kontrol *posttest* menunjukkan bahwa kelompok latihan renang intensitas berat lebih mengalami peningkatan panjang tulang, tinggi, dan jumlah sel kondrosit dibanding intensitas ringan. Pada kelompok latihan renang intensitas berat, peningkatan panjang tulang ($4,85 \pm 0,96$ mm), tinggi sel kondrosit ($24,20 \pm 1,88$ μm), serta jumlah sel kondrosit ($2,28 \pm 0,32$ sel/ $10^4 \mu\text{m}^2$) bila dianalisis secara bersama-sama maupun secara terpisah dengan Manova menunjukkan perbedaan nyata dengan kelompok latihan renang intensitas ringan dengan peningkatan panjang tulang ($1,74 \pm 1,32$ mm), tinggi sel kondrosit ($13,12 \pm 2,21$ μm), serta jumlah sel kondrosit ($1,02 \pm 0,34$ sel/ $10^4 \mu\text{m}^2$).

Penjelasan hal tersebut diatas dapat ditinjau dari dua faktor yang saling berinteraksi dalam meregulasi pertumbuhan memanjang tulang yaitu faktor hormonal metabolik dan faktor mekanik karena adaptasi tulang diketahui dipengaruhi oleh stimulus mekanik dan hormonal metabolik (Hernandez, 2000).

Tinjauan yang pertama yaitu telah diketahui bahwa respon GH antara lain dipengaruhi oleh intensitas latihan (Warren, 2000), dan terdapat hubungan linier antara

peningkatan GH dengan kebutuhan oksigen atau intensitas latihan (Garrett, 2000; Murray, 2000; Wideman, 2002). Sebagian besar penelitian menunjukkan bahwa respon GH berhubungan dengan intensitas tinggi (anaerobik) dimana terjadi peningkatan kadar asam laktat darah (Felsing, 1992; Butkus, 1995; Warren, 2000; Wideman, 2000). Peningkatan kadar GH plasma terjadi pada intensitas diatas *lactate threshold* (LT) (Felsing, 1992; Warren, 2000; Wideman, 2000), dimana pada manusia sehat *lactate threshold* terbentuk pada intensitas antara 40-60% dari $VO_2 max$ (Felsing, 1992). Latihan fisik dengan intensitas diatas LT juga meningkatkan kadar sirkulasi katekolamin (Warren, 2000; Murray, 2000), yang menyebabkan terhambatnya sekresi Somatostatin dan meningkatkan sekresi GHRH.

Hal tersebut menjelaskan terjadinya peningkatan panjang tulang, tinggi dan jumlah sel kondrosit pada latihan renang intensitas berat yang bila ditinjau dari kebutuhan oksigennya setara dengan 80% $VO_2 max$ dimana menurut Warren (2000) beban 75-90% dari $VO_2 max$ lebih meningkatkan respon GH dibanding intensitas dibawahnya. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa latihan fisik dengan intensitas yang tepat merupakan perangsang fisiologis yang kuat terhadap sekresi GH (Felsing, 1992; Butkus, 1995), sedangkan GH merupakan hormon utama yang berperan dalam pertumbuhan panjang tulang. *Growth hormone* bersama dengan faktor pertumbuhan IGF-I merangsang proliferasi dan differensiasi kondrosit yang dicerminkan dengan peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit, dan pada akhirnya menyebabkan peningkatan panjang tulang.

Peningkatan panjang tulang, tinggi dan jumlah sel kondrosit juga terjadi pada latihan renang intensitas ringan dengan beban yang setara dengan 40% $VO_2 max$, sedangkan intensitas minimal yang dapat meningkatkan respon GH adalah 50-70% dari $VO_2 max$ (Lugger, 1992 cit Kanaley, 1992). Intensitas renang ringan tersebut berada

pada ambang bawah *lactate treshold* yang berada pada intensitas 40-60% dari VO_2 max, dimana peningkatan asam laktat yang berperan dalam merangsang peningkatan sekresi GH terjadi pada intensitas diatas LT seperti yang telah diuraikan diatas.

Penjelasan dari fakta tersebut dapat ditinjau sebagai berikut. Pada keadaan fisiologis, sekresi IGF-I sistemik dan sebagian yang diproduksi lokal dipengaruhi oleh rangsangan GH. Pada latihan fisik, mekanisme peningkatan IGF-I baik lokal ataupun sistemik diduga tidak terkait dengan GH (Bang, 1990; Schwarz, 1996; Warren, 2000). Pada manusia GH meningkat bermakna pada intensitas tinggi sedangkan IGF-I plasma meningkat baik pada intensitas tinggi maupun rendah, dan kadar IGF-I dalam sirkulasi mencapai puncaknya sebelum kadar GH mencapai puncak yaitu IGF-I mencapai puncak dalam 10 menit sedangkan GH dalam 30 menit (Schwarz, 1996). Penelitian Bang (1990) juga menunjukkan bahwa latihan fisik dapat meningkatkan IGF-I plasma pada penderita dengan insuffisiensi kelenjar pituitari.

Latihan fisik juga dapat meningkatkan IGF-I lokal pada tikus yaitu IGF-I lokal pada otot yang aktif dalam latihan *endurance* meskipun efek GH telah dihilangkan dengan hipofisektomi (Zanconato, 1994). Hal tersebut mendukung teori bahwa bentuk parakrin atau autokrin IGF-I hanya sebagian yang dipengaruhi oleh GH (Warren, 2000).

Terdapatnya IGF-I lokal maupun sistemik yang meningkat pada latihan fisik intensitas rendah yang diduga tidak mengalami peningkatan GH tersebut berperan dalam peningkatan proliferasi dan terutama hipertrofi kondrosit sesuai dengan kerja IGF-I pada kedua zona itu. Hal tersebut mendasari terjadinya peningkatan panjang tulang, jumlah dan tinggi sel kondrosit pada latihan renang intensitas ringan, namun dengan hanya berdasarkan efek IGF-I saja tanpa peningkatan GH maka respon

peningkatan variabel tergantung tersebut tidak sebesar respon yang terjadi pada renang intensitas berat yang mengalami peningkatan GH yang bermakna.

Penjelasan lain dari peningkatan respon yang terjadi pada renang intensitas ringan maupun berat dapat dilihat melalui faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan panjang tulang yaitu faktor stimulus mekanik yang berinteraksi dengan faktor hormonal. Pada renang, perenang melakukan gerakan mendorong yang kuat agar dapat bergerak maju dan mengatasi hambatan dari air, maupun untuk mengatasi gaya gravitasi yang terdapat dalam air supaya tidak tenggelam. Kontraksi otot kaki yang kuat diperlukan untuk melakukan gerakan mendorong karena media air bersifat sedikit menghambat gaya dorong, dan air sebagai media gerak bersifat menghambat tubuh (Luttgens, 1997). Kontraksi otot tersebut menimbulkan gaya regang (*tension force*) terhadap tulang (Zumerchik, 1997; Kjaer, 2003) yang akan didistribusikan dan diterima sebagai sinyal mekanik oleh kondrosit pada lempeng epifise melalui integrin sebagai reseptor yang menerima dan meneruskan rangsangan mekanik. Ikatan integrin dengan protein matriks ekstraseluler mengaktifkan rangkaian mekanisme intraseluler yang mengakibatkan perubahan morfologi, migrasi, dan proliferasi sel (Kjaer, 2003).

Kontraksi otot yang dihasilkan oleh gerakan renang pada intensitas berat dengan pembebanan sebesar 9% dari berat badan lebih kuat dibandingkan intensitas ringan dengan pembebanan sebesar 3% dari berat badan, sehingga gaya regang yang diterima oleh tulang dan diteruskan sebagai sinyal mekanik ke sel kondrosit juga lebih besar. Hal tersebut mengakibatkan ikatan integrin dengan protein matriks ekstraseluler terbentuk lebih banyak sehingga aktivasi rangkaian mekanisme intraseluler juga lebih meningkat. Pada akhirnya terjadi peningkatan proliferasi dan differensiasi sel kondrosit yang menyebabkan peningkatan jumlah dan tinggi sel kondrosit serta panjang tulang lebih besar pada renang intensitas berat.

Berdasarkan hasil analisis diskriminan, peningkatan tinggi sel dan jumlah sel berfungsi sebagai variabel pembeda diantara kedua kelompok perlakuan (tabel 5.14) Hal tersebut dapat dijelaskan berdasarkan uraian diatas yaitu bahwa faktor pertama yang membedakan kelompok latihan renang intensitas ringan dengan intensitas berat adalah dugaan bahwa tidak terjadi peningkatan GH yang bermakna pada intensitas ringan. GH bekerja secara langsung maupun secara tidak langsung dengan merangsang pembentukan IGF-I sistemik dan sebagian dari IGF-I lokal dalam merangsang proliferasi dan hipertrofi kondrosit. Dengan tidak terdapatnya peningkatan GH pada latihan renang intensitas ringan maka proliferasi dan hipertrofi kondrosit hanya tergantung pada IGF-I saja sehingga peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit pada intensitas tersebut mengalami perbedaan yang bermakna bila dibandingkan dengan latihan renang intensitas berat.

Faktor kedua adalah perbedaan kekuatan kontraksi otot yang dihasilkan oleh renang intensitas ringan dan berat sehingga intensitas mekanisme penghantaran sinyal mekanik yang mengaktivasi rangkaian mekanisme intraseluler yang merangsang proliferasi dan differensiasi kondrosit juga berbeda. Pada akhirnya tinggi serta jumlah sel sebagai hasil aktivitas kondrosit tersebut juga mengalami perbedaan.

Kedua faktor tersebut juga menerangkan mengapa peran kontribusi peningkatan tinggi sel akibat renang intensitas ringan lebih kecil (58.5756) dibandingkan renang intensitas berat (206.0185), dan kontribusi peningkatan jumlah sel akibat renang intensitas ringan lebih kecil (20.8181) dibandingkan renang intensitas berat (94.9563).

Penjelasan yang melatarbelakangi terjadinya perubahan pada peningkatan tinggi sel lebih dahulu (tabel 5.14) yaitu bahwa yang menjadi pembeda adalah dominannya peran IGF-I pada intensitas ringan. Selain berinteraksi dengan GH dalam merangsang peningkatan proliferasi kondrosit, peran utama IGF-I adalah merangsang peningkatan

hipertrofi kondrosit (Musthaq, 2004), sehingga dengan tingginya peningkatan IGF-I akibat latihan fisik intensitas ringan yang tidak disertai dengan peningkatan GH yang bermakna, maka hipertrofi kondrosit lebih dominan dibanding proliferasinya sehingga mempengaruhi perubahan pada pertambahan tinggi sel.

Berdasarkan uji korelasi terdapat korelasi positif yang bermakna antara intensitas renang dengan peningkatan panjang tulang. Hal tersebut sesuai dengan teori bahwa latihan fisik merupakan perangsang yang potensial terhadap peningkatan sekresi GH dimana terdapat hubungan yang linier antara peningkatan GH dengan intensitas latihan fisik (Garrett, 2000; Murray, 2000; Wideman, 2002)., sedangkan GH merupakan hormon utama yang menentukan panjang akhir tulang (Ohlsson, 1998).

Korelasi positif yang bermakna juga ditemukan antara peningkatan tinggi dan jumlah sel dengan peningkatan panjang tulang. Penjelasan hal tersebut berdasarkan mekanisme kerja GH dan IGF-I baik lokal maupun sistemik yang saling berinteraksi dalam merangsang peningkatan proliferasi dan hipertrofi kondrosit sehingga peningkatan kadar GH maupun IGF-I menyebabkan meningkatnya tinggi dan jumlah sel kondrosit, yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan panjang tulang.

B A B 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Latihan renang intensitas ringan dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
2. Latihan renang intensitas berat dapat meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, serta tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise.
3. Latihan renang intensitas berat lebih meningkatkan panjang tulang, jumlah sel kondrosit pada zona proliferasi, dan tinggi sel kondrosit pada zona hipertrofi lempeng epifise dibanding latihan renang intensitas ringan.
4. Terdapat hubungan positif antara peningkatan tinggi dan jumlah sel kondrosit dengan peningkatan panjang tulang
5. Terdapat hubungan positif antara intensitas latihan renang dengan peningkatan panjang tulang

7.2 Saran

1. Perlu adanya kajian lebih lanjut tentang pengaruh latihan renang secara *continuous* dan *intermitten* terhadap pertumbuhan tulang.
2. Perlu adanya kajian lebih lanjut mengenai perbandingan latihan fisik *weight bearing* dengan *non weight bearing* terhadap pemanjangan tulang di usia pertumbuhan.
3. Perlu adanya kajian lebih lanjut tentang respon pada sel kondrosit secara langsung dengan mengukur kadar reseptor GH, IGF-I binding protein atau IGF-I mRNA.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad V , Meyers JL, Weise M, Gafni RI, Barnes KM, Nilsson O, Bacher JD, Baron J, 2002. The Role of the Resting Zone in Growth Plate Chondrogenesis. *Endocrinology* 143(5):1851-1857
- Abhaya A, Khatri K, Pradhan S, Prakash R, 2001. Regional Differences of Growth Plate at The Distal End of Radius in Albino Rat. *J Anat. Soc. India* 51(2) 225-228.
- Aszodi A, Hunziker EB, Brakebusch C, Fassler R, 2003. β 1 Integrins Regulate Chondrocyte Rotation, G1 Progression, and Cytokinesis. *Genes & Development* 17:2465-2479.
- Athar, 1999. Pengaruh Latihan Aerobik dan Anaerobik terhadap Kepadatan Tulang. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Bang P, Brandt J, Degerblad M, Enberg G, Kaijser L, Thoren M, 1990. Exercise-induced changes in insulin-like growth factors and their low molecular weight binding protein in healthy subjects and patients with growth hormone deficiency. *Eur J Clin Endocrinol Metab*;70:519-527.
- Berger RA, 1982. *Applied Exercise Physiology*. Philadelphia : Lea & Febriger, p 258
- Bompa TO, 1994. *Theory and Methodology of Training The Key to Athletic Performance*. 3rd ed. Hunt Publishing Company. p. 24 – 25.
- Bouchard C, 1993. *Physical Activity, Fitness, and Health Consensus Statement : Physical Activity, Fitness, and Disease*. 1st ed. Canada: Human Kinetic Publisher. p 61 – 82.
- Brooks GA, Fahey TD, 1985. *Exercise Physiology : Human Bioenergetics and Its Applications*. New York: Mac Millan Publishing Company, p 666.
- Brown RE, 1994. *An Introduction to Neuroendocrinology*. USA: Cambridge University Press. p 99-100
- Butkus JA, Brogan RS, Giustina A, Kastello G, Sothmann M, Wehrenberg WB, 1995. Changes in the Growth Hormone Axis Due to Exercise Training in Male and Female Rats: Secretary and Molecular Responses. *Endocrinology*. Vol. 136. No.6. p 2664-2670.
- Campbell DT & Stanley JC ,1963. *Experimental and Quasi Experimental Design for Research*. Chicago:Rand McNally College Publishing Company.p 55.

- Carson JA, Wei L, 2000. Integrin Signaling's Potential for Mediating Gene Expression in Hypertrophying Skeletal Muscle. *J Appl. Physiol* 88; 337-343.
- Cobo A, Lopez JM, Carbajo E, Santos F, Alvarez J, Fernandez M, Weruaga A, 1999. Growth Plate Cartilage Formation and Resorption are Differentially Depressed in Growth Retarded Uremic Rats. *J Am Soc Nephrol* 10: 971-979.
- DeChiara TM, Robertson EJ, Efstratiadis A, 1991. Parental Imprinting of the Mouse Insulin-like Growth Factor II Gene. *Cell* 64 : 849-859.
- Eerden BCJ, Karperien M, Wit JM, 2003. Systemic and Local regulation of the Growth Plate. *Endocrinology Reviews* 24(6):782-801.
- Farris EJ, Griffith JQ, 1962. *The Rat in Laboratory Investigation*. New York: Hafner Publishing Company. p 63
- Fawcett, Don W, 1994. *Bloom and Fawcett. A Text Book of Histology*. USA : Chapman & Hall. p 214-218.
- Felsing NE, Brasel JA, Cooper DM, 1992. Effect of Low and High Intensity Exercise on Circulating Growth Hormone in Men. *J Clinical Endocrinol Metab*; 75: 157-62.
- Fox EL, 1999. *Human Physiology*. 6th ed. Boston : McGraw-Hill Co, p 107-108, 139, 327, 331, 616-620.
- Gevers EF, van der Eerden BC, Karperien M, Raap AK, Robinson IC, Wit JM, 2002. Localization and regulation of the growth hormone receptor and growth hormone-binding protein in the rat growth plate. *J Bone Miner Res*. August 1, 17(8) : 1408-19 (abstract). (www.jap.org, diakses 10 Oktober 2005).
- Giustina A, Veldhuis JD, 1998. Pathophysiological Basis of Neuroregulation of the Somatotrophic (GH) Axis in Experimental Animals and The Human. *Endocr Rev*; 19:717- 797.
- Goessler UR, Hormann K, Riedel F, 2004. Tissue Engineering with Chondrocytes and Function of The Extracellular Matrix (Review). *International Journal of Molecular Medicine* 13: 505-513.
- Guyton AC, Hall JE, 2004. *Textbook of Medical Physiology*. 10th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, p 849 – 851.
- Holt RIG, Webb E, Pentecost C, Sonksen PH, 2001. Aging and Physical Fitness are More Important than Obesity in Determining Exercise Induced Generation of GH. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 86(12). P.5715-5720
- Huang H, Kamm RD, Lee RT, 2004. Cell Mechanics and Mechanotransduction: Pathways, Probes, and Physiology. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C1-C11.

- Hunziker EB, Schenk RK, 1989. Physiological mechanism adopted by chondrocytes in regulating longitudinal bone growth in rats. *The Journal of Physiology*, Vol 414, Issue 1 55-71. (abstract). (www.jp.physoc.org, diakses 24 September 2005).
- Hunziker EB, 1994. Mechanism of longitudinal bone growth and its regulation by growth plate chondrocytes. *Microsc Res Tech* 1994 ; 28 : 505-519 [Medline]. (www.bmjournals.com/cgi, diakses tanggal 24 September 2005).
- Hynes R, 2002. Integrins Bidirectional, Allosteric Signaling Machines. *Cell*. 110 :673-687.
- Junqueira LC, Carneiro J, 2003. *Basic Histology*. 10th ed. Singapore : Lange Medical Publications, Maruzen Asia. p 150-152.
- Kanaley JA, Hartman ML, 2002. Cortisol and Growth Hormone Responses to Exercise. *The Endocrinologist* 12 : 421- 432.
- Ketelslegers JM, Maiter D, Maes M , Underwood LE, Thissen JP, 1995. Nutritional Regulation of Insulin Like Growth Factor I. *Metabolism (suppl.4):p 50-57*.
- Kjaer M, Kagsgaard M, Magnusson P, Engebretsen L, Roos H, Kakada T, Woo S, 2003. *Textbook of sport medicine. Basic Science and Clinical Aspect of Sport Injury and Physical Activity*. USA : Blackwell Publisher. p 173–176.
- Kohn DF, Barthold SW, 1984. Biology and Diseases of Rats. In (Fox JG, Cohen BJ, Loew FM, eds) *Laboratory Animal Medicine*. San Diego : Academic Press, Inc, p 95, 97.
- Kusumawati D, 2003. *Bahan Ajar tentang Hewan Coba*, Universitas Airlangga, hal. 7-9.
- Lecointre C, Toublanc JE, 1997. Psychological indications for treatment of tall stature in adolescent girls. *J Pediatric Endocrinol Metab* 10 : 529 – 531.
- Luttgens K, Hamilton N, 1997. *Kinesiology, Scientific Basis of Human Motion*. 9th ed. USA : Brown and Benchmark Publisher.p 551.
- Loveridge NC, Farquharson C, Palmer R, Lobleby GE, Flint DJ, 1995. Short-term Effect of a Growth Hormone Antiserum. *Journal of Endocrinology*. Vol. 156. Issue 1. pp 55-62
- Mankin HJ, 2000. *Orthopaedic Basic Science* 2nd ed : Articular Cartilage Structure, Composition, Function. AAOS : 443 - 470
- Marieb EN, 2001. *Human Anatomy and Physiology*. 5th ed. USA : Benjamin Cumming, p 181-184.

- Martini F, 1994. *Fundamental Anatomi and Physiology*. New Jersey: Prentice Hall. p577-579.
- Miyamoto S, Teramoto H, Gutkind JS, Yamada KM, 1996. Integrins Can Collaborate with Growth Factors for Phosphorylation of Receptor Tyrosine Kinase and MAP Kinase Activation: Roles of Integrin Aggregation and Occupancy of Receptors. *The Journal of Cell Biology*, Vol. 135 No. 6, Part 1 : 1633-1642.
- Mohan S, Richman C, Guo R, Amar Y, Donahue LR, Wergedal J, David B, 2003. Insulin-like Growth Factor Regulates Peak Bone Mineral Density in Mice by Both Growth Hormone Dependent and Independent Mechanisms. *Endocrinology* 144 (3): 929-936.
- Murray K, Robert , 2003. *Hormon Action and Signal Transduction in Harper's Illustrated Biochemistry*. Mc Grow Hill: p 456-473.
- Musthaq T, Bijman P, Ahmed SF, Farquharson C, 2004. IGF-1 Augments Chondrocyte Hypertrophy and Reverses Glucocorticoid-mediated Growth Retardation in Metal Mice Metatarsal Cultures. *Endocrinology* 145 (5) : 2478-2486.
- Nieman DC, 1993. *Fitness & Your Health : Conditioning for Physical Fitness*. California : Bull Publishing Company : p 111-134.
- Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson OGP, Lindahl A, Isgaard J, 1994. Hormonal Regulation of Longitudinal Growth. *Edr. J. Clin. Nutr. Februari 1. 94 ; 48 Suppl 1 : S 130-8 ; discussions S 158-60.*
- Oberbauer AM, Peng R, 1995. Growth hormone and IGF-1 stimulate cell function in distinct zones of the rat epiphyseal growth plate. *Connect tissue Res* 1995 ; 31 : 189-195.
- Ohlsson C, Bengtsson BA, Isaksson OG, Andreassen TT, Słootweg MC, 1998. Growth Hormone and Bone. *Endocrine Reviews* 19 55-79.
- Pass D, Freeth G, 1993. *The Rat. Anzccart News*. Vol. 6 No. 4. p 3-4.
- Rahayu AS, 2005. *Perbandingan Respon Panjang, Berat, Diameter dan Tebal Tulang Femur akibat Latihan Renang Intensitas Ringan dan Intensitas Berat pada Masa Pertumbuhan Tius Putih (Rattus Norvegicus) Jantan*. Tesis. Surabaya: Universitas Airlangga. hal. 68.
- Robson H, 1999. Bone Growth mechanisms and the effects of cytotoxic drugs. *Arch Dis Child* (October) ; 81 : 360-364.
- Roith DL, Byondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A, 2001. The Somatomedin Hypothesis. *Endocrinology Reviews*. 22(1): 53-74.

- Salter DM, 2002. Human Chondrocyte Adhesion Molecules - Roles in Regulation of Cell Function and Cartilage Remodelling. *European Cells and Materials* Vol. 4.Suppl. 2. p38.
- Salter RB, 1999. *Textbook of Disorders and Injuries of The Musculoskeletal System*. Third edition. Philadelphia : Lippincot Williams & Wilkins. p 10.
- Santoso KP, Soekarman R, Wijaya NMR, 2001. Pengaruh Kombinasi Latihan Renang Aerobik dan Pembatasan Diet terhadap Absorpsi 3-Methyl-D-Glukosa pada Otot Soleus Tikus Putih. *MIFI* Vol 1(1): 30-34.
- Schwarz AJ, Brasel JA, Hintz RL, Mohan S, Cooper DM. Acute effect of brief low- and high -intensity exercise on circulating IGF-I, II, and IGF binding protein -3 and its proteolysis in young healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3492-3497).
- Scheven BA, Hamilton NJ, 1991. Longitudinal bone growth in vitro : effects of insulin-like growth factor I and growth hormone. *Acta Endocrinol (Copenh)*, May 1 ; 124(5):602-607.
- Schwarz P, Eriksen EF, Thorsen K, 2003. Bone Tissue-Bone Training. In Kjaer M, Kagsgaard M, (Eds.). *Textbook of Sport Medicine. Basic Science and Clinical Aspect of Sports Injury and Physical Activity*. USA : Blackwell Publishers. p173-176.
- Shakibaei M, 1999. Signal Transduction by β_1 Integrin Receptor in Human Chondrocyte in vitro : Collaboration with The Insulin-like Growth Factor-I Receptor. *Biochem J*, 342, 615-623.
- Sivan S AS, Simkin A, Leichter I, Nyska A, Nyska M, Statter M, Bivas A, Menczel J, Samueloff S, 1989. Effect of swimming on bone growth and development in young rats. *Bone Miner*, September 1 ; 7(2):91-105 (abstract). (www.highwire.org/cgi/medline, diakses 12 Agustus 2005)
- Southerland WM, 1990. *Biochemistry*. USA : Churchill Livingstone Inc, p 432-433.
- Solomon EP, Schmidt RR, Adragna PJ, 1990. *Human Anatomy & Physiology*. 2nd ed. USA : Sanders College Publishing. p 177.
- Steell RGD, Torrie J, 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika, suatu Pendekatan Biometrik*. Alih Bahasa Bambang Sumantri. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama. hal. 51-62.
- Taaffe DR, Snow-Harter C, Conolly DA, Robinson TL, Brown MD, Marcus R. 1995. Differential effects of swimming versus weight-bearing activity on bone mineral status of eumenorrheic athletes. *J Bone Miner Res*, April 1 ; 10(4) : 586-93.

- Thompson DL, Weltman JY, Rogol AD, et al, 1993. Cholinergik and Opioid Involvement in Release of Growth Hormone During Exercise and Recovery. *J Appl Physiol* ; 75:870-8.
- Tortora GJ, 1992. Principles of Human Anatomy. 6 ed. USA : Harper Collins Publisher. p 115-120.
- Vinall R, Lo SH, Reddi AH, 2001. Regulation of Articular Chondrocyte Phenotype by Bone Morphogenetic Protein 7, Interleukin 1, and Cellular Context is Dependent on The Cytoskeleton. *Experimental Cell Research* 272, 32-44.
- Voleti V, O'Donnell A, 2004. Cartilage, Bone and Joints. *Histology SSN*. p 1
- Wang, J., Zhou, J., Bondy, C.A, 1999. Igf1 promotes longitudinal bone growth by insulin-like actions augmenting chondrocyte hypertrophy. *The FASEB Journal* ; 13:1985-1990.
- Wang J, Zhou J, Cheng Cm, Kopchick J.J, Bondy C.A, 2004. Evidence Supporting dual, IGF-I-independent and IGF-I-Dependent, Roles for GH in Promoting Longitudinal Bone Growth. *Journal of Endocrinology* 180, 247-255.
- Warren MP, Constantini NW , 2000. Sports Endocrinology. New Jersey : Humana PressInc. p 17-19, 79-82.
- Weise M, De-Levi S, Barnes KM, Gafni RI, Abad V, Baron J, 2001. Effects of Estrogen on Growth Plate Senescence and Epiphyseal Fusion. *PNAS Journal*. Vol.98, no.12 June 5. p 6871-6876.
- Wideman L, Weltman JY, Hartman ML, Veldhuis JD, Weltman A, 2002. Growth Hormone Release during Acute and Chronic Aerobic and Resistance Exercise : Recent Findings. *Sports Medicine* ; 32 (15) : 987 – 1004 (abstract). (www.ncbi.nlm.nih.gov, diakses 6 September 2005).
- Wong M, Carter Dr, 2003. Articular Cartilage Functional Histomorphology and Mechanobiology : A Research Perspective. *Bone* 33 (2003) 1 -13.
- Zainudin M, 2000. Metodologi penelitian, Surabaya: Program Pascasarjana Universitas Airlangga, hal 54-56.
- Zanconato S, Moromisato DY , Moromisato MY, Woods J, Brasel JA, LeRoith D, et al. Effect of training and growth hormone supression on insulin-like growth factor-ImRNA in young rats. *J Appl Physiol* 1994;76:2204-2209.
- Zumerchick J, 1997. Encyclopedia of Sports Science. Vol. 2. New York : Macmillan Library Reference. p 847-849.

Lampiran I

Kemampuan Renang Maksimal

Tikus No.	Kemampuan Renang Maksimal
1	36' 15"
2	37' 25"
3	45' 20"
4	40' 18"
5	41' 26"
6	38' 05"
7	37' 39"
8	44' 45"
9	37' 20"
10	38' 25"
11	42' 15"
12	46' 10"
13	45' 15"
14	46' 34"
15	36' 20"
16	41' 30"

Kemampuan renang maksimum rata-rata adalah : 41' 16"

Lampiran 2

Penentuan Dosis Latihan Renang

Rata-rata kemampuan renang maksimal adalah 41' 16" .

Waktu renang untuk kelompok latihan intensitas ringan (beban 3% berat badan) adalah 40% dari nilai rata-rata waktu renang maksimal, yaitu 16' 46" .

Waktu renang untuk kelompok latihan intensitas berat (beban 9% berat badan) diperoleh dari persamaan :

Waktu renang intensitas berat x beban 9% BB = Waktu renang intensitas ringan x beban 3% BB

$$W_b \times 9\% = W_r \times 3\%$$

$$W_b \times 9\% = 16' 46'' \times 3\%$$

$$W_b = \frac{16' 46'' \times 3\%}{9\%}$$

$$W_b = 5' 49''$$

Jadi waktu renang untuk kelompok latihan renang intensitas berat adalah 5' 49"

(Sumber : Bompa, 1994; Fox, 1999; Mc Ardle, 1966 cit Athar, 1999)

Keterangan :

W_b : waktu renang intensitas berat

W_r : waktu renang intensitas ringan

Lampiran 3

Pembuatan Sediaan Histologi Tulang

Langkah-langkah tehnik pembuatan sediaan histologi tulang dengan tehnik paraffin adalah sebagai berikut :

1. Fiksasi

Dilakukan dengan menggunakan larutan *buffer formalin* 10% dengan tujuan agar mudah melakukan proses pemotongan, mempertahankan struktur dan komponen sel, menampilkan perbedaan refraksi komponen jaringan serta untuk mencegah proses pembusukan dan pertumbuhan bakteri atau jamur.

2. Dekalsifikasi

Jaringan dimasukkan dalam larutan asam nitrat 5-10% selama 4 hari dengan penggantian larutan asam nitrat setiap hari. Jaringan lalu dibilas pada air mengalir selama 24 jam kemudian ditambahkan sedikit formalin untuk mengurangi kerusakan jaringan. Bahan dibilas lagi pada air mengalir selama 24-48 jam.

3. Dehidrasi

Merendam jaringan kedalam alkohol dengan konsentrasi meningkat mulai dari 70%, 80%, 90%, 95% sampai alkohol absolut. Proses ini bertujuan untuk menghilangkan sisa air dalam jaringan supaya paraffin dapat masuk merata kedalam jaringan.

4. *Clearing*

Jaringan direndam dalam *xylol* dengan tujuan agar jaringan yang akan diblok dengan paraffin menjadi transparan.

Lanjutan lampiran 3

5. *Impregnasi*

Jaringan dimasukkan dalam campuran parafin cair dan xyloi dengan perbandingan 1 : 1, pada suhu 65° C selama 30 menit. Jaringan kemudian dimasukkan dalam parafin murni cair bersuhu 55-58° C sebanyak 3 kali masing-masing selama 30 menit supaya konsistensi jaringan sama dengan bahan blok.

6. *Embedding*

Merupakan proses infiltrasi jaringan dengan parafin cair. Parafin cair dituang dalam cetakan, jaringan dimasukkan kedalamnya dengan posisi tertentu, kemudian dianginkan hingga parafin beku. Proses ini bertujuan untuk memberikan suatu penyangga agar jaringan dapat dipotong dengan mikrotom tanpa menimbulkan distorsi yang berartipada susunannya.

7. *Pemotongan*

Jaringan yang telah diblok dengan parafin dipotong sejajar dengan sumbu longitudinal tulang atau potongan mid sagital, menggunakan mikrotom dengan tebal irisan 6 mikron.

8. *Mounting I*

Hasil irisan yang disebut *ribbon* dimasukkan water bath bersuhu 56° C sehingga berkembang, kemudian dilekatkan pada gelas obyek yang dilapisi albumin telur, kemudian dikeringkan dan dilakukan pengecatan.

Langkah tehnik pengecatan sediaan dengan Hematoxyline dan Eosin adalah sebagai berikut :

Lanjutan lampiran 3

1. Deparafinisasi

Bertujuan untuk menghilangkan parafin dari jaringan. Dilakukan dengan memasukkan jaringan kedalam 3 tabung berisi *xylol* masing-masing selama 2 menit secara berurutan. Jaringan lalu dimasukkan kedalam alkohol absolut selama 1 menit untuk menarik *xylol*, kemudian dicuci dengan air mengalir beberapa kali.

2. Pengecatan

Jaringan dicat dengan larutan hematoxyline selama 15 menit untuk mengecat inti, kemudian dicuci dengan air mengalir beberapa kali. Dilakukan diferensiasi dengan alkohol asam 1% beberapa celupan sampai intensitas warna inti seperti yang dikehendaki, kemudian dibilas dengan air mengalir. Setelah intensitas warna inti cukup dilakukan pengecatan sitoplasma menggunakan eosin selama 1-2 menit.

3. Dehidrasi

Proses dehidrasi dilakukan pertama menggunakan alkohol 95% beberapa kali celupan, kemudian alkohol absolut I dan alkohol absolut II masing-masing selama 1 menit.

4. *Clearing*

Menggunakan 3 tabung berisi *xylol*, jaringan dimasukkan kedalamnya masing-masing selama 2 menit untuk menghilangkan alkohol.

5. *Mounting II*

Sediaan ditutup dengan gelas penutup yang sudah diolesi balsam Canada kemudian dibiarkan kering dalam suhu kamar.

Lampiran 4

Komposisi zat makanan dalam pakan BR-2 produksi PT. Comfeed Indonesia

Kandungan nutrisi (%) :

- Protein : 21 – 22
- Lemak : 4 - 8
- Serat Kasar : 3 – 5
- Abu : 5 – 7
- Ca : 0,9 – 1,1
- P : 0,7 – 0,9



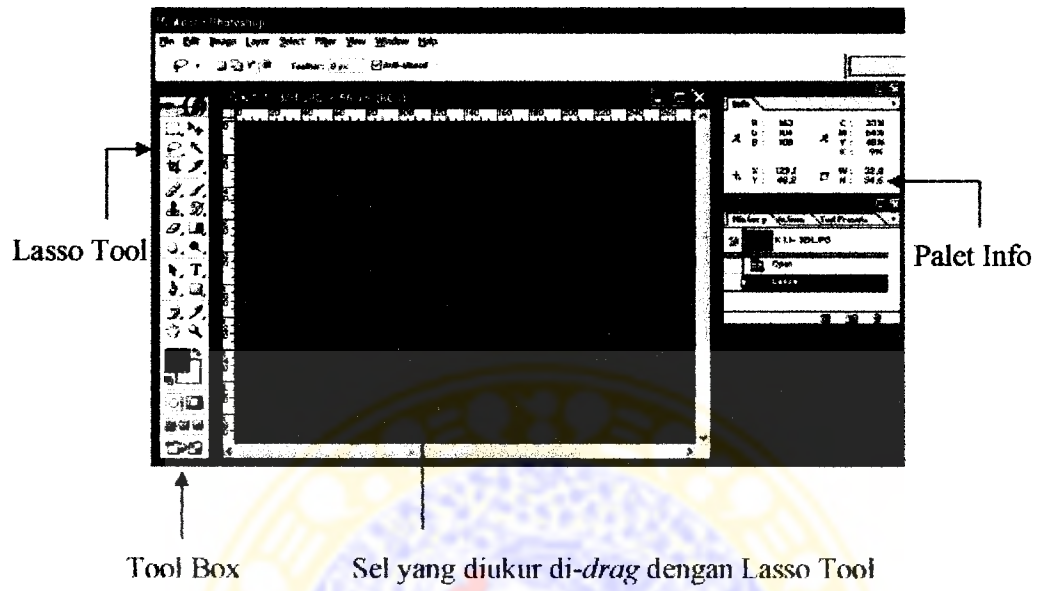
c

Lampiran 5

Cara Pengukuran Tinggi Sel dengan Program Adobe Photoshop 0.7

1. Klik tombol *Start* pada *Taskbar* program *Windows*, kemudian pilih *Program*, klik *Adobe photoshop 0.7*.
2. Setelah jendela *Adobe Photoshop* terbuka maka klik menu *Window* pada kontrol menu, lalu klik *Tools* untuk menampilkan *Toolbox* maka *Toolbox* akan tampil pada kiri atas jendela.
3. Klik menu *Window*, klik *Show Navigator*, maka *Palet Navigator* akan tampil sebagai jendela kecil di pojok kanan atas.
4. Pada *Palet Navigator* klik *Info* untuk menampilkan *Measure tool* yaitu *W (width)* untuk jarak berdasarkan sumbu *X*, dan *H (height)* untuk jarak berdasarkan sumbu *Y*.
5. Pilih menu *Edit*, klik *Preferences*, klik *Unit & Rulers* untuk mengubah satuan penghitungan sesuai yang dikehendaki.
6. Klik menu *File*, *Open*. Pilih file yang berisi gambar hasil foto digital yang akan ditampilkan dalam jendela *Adobe*, pilih gambar, klik *OK*.
7. Setelah gambar muncul dalam jendela *Adobe Photoshop*, klik *Lasso tool* pada *Toolbox* maka *Lasso tool* akan aktif dan di-*drag* mengelilingi sel yang diukur.
8. Pada *Info* akan muncul ukuran tinggi sel pada *H* dan lebar sel pada *W* dengan satuan hitung sesuai yang dipilih pada langkah ke-5.

Lanjutan lampiran 5



Lampiran 6

Pertumbuhan Berat Badan Tikus selama Penelitian

Pertumbuhan berat badan tikus (gram) pada penimbangan setiap minggu sekali adalah sebagai berikut :

5.1 Berat Badan Tikus Kelompok Kontrol Pretest

No.	Berat Badan (gram)
1.	39,1
2.	41,4
3.	42,3
4.	40,1
5.	43,3
6.	47,8
7.	44,2

5.2 Pertumbuhan Berat Badan Tikus Kelompok Latihan Renang Intensitas Ringan

No.	Berat Badan Pada Penimbangan (gram)						
	BB Awal	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI
1.	40,3	45,6	50,1	71,3	113,7	128,0	130,7
2.	37,5	52	85,4	100,7	111,3	121,3	127,6
3.	51,0	57,8	63,8	83,2	107,6	123,2	132,3
4.	36,0	44,7	67,3	98,3	109,7	119,2	140,4
45.	39,1	42,9	46,8	69,0	104,5	119,2	127,5
6.	44,7	60,0	91,3	104,7	112,3	128,8	138,2
7.	37,4	51,6	89,2	99,4	108,8	119,3	126,4

Lanjutan lampiran 6

5.3 Pertumbuhan Berat Badan Tikus Kelompok Latihan Renang Intensitas Berat

No.	Berat Badan Pada Penimbangan (gram)						
	BB Awal	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI
1.	48,0	64,1	110,7	120,2	125,9	134,4	140,8
2.	42,3	58,7	99,1	103,6	115,4	127,8	134,6
3.	36,8	51,2	86,5	94,7	103,2	118,7	124,9
4.	40,7	61,3	90,8	102,9	111,6	120,4	128,7
5.	41,6	64,5	77,8	110,4	117,6	122,4	132,1
6.	42,3	48,3	50,2	78,1	109,0	115,5	122,5
7.	43,3	48,5	55,6	78,8	124,2	134,8	142,9

5.4 Pertumbuhan Berat Badan Tikus Kelompok Kontrol *Posttest*

No.	Berat Badan Pada Penimbangan (gram)						
	BB Awal	Minggu I	Minggu II	Minggu III	Minggu IV	Minggu V	Minggu VI
1.	36,6	50,3	87,5	95,3	102,0	117,2	122,6
2.	40,5	59,9	95,2	105,2	109,8	119,3	124,0
3.	35,2	51,4	85,7	95,3	102,0	117,2	122,6
4.	41,5	65,3	87,4	98,6	118,2	122,4	130,4
5.	35,6	56,4	89,3	100,1	108,4	120,3	122,6
6.	43,2	57,9	98,5	103,8	111,3	126,5	135,4
7.	47,8	67,8	104,6	119,5	124,6	136,2	139,8

Lampiran 7

Data Hasil Pengukuran Panjang Tulang, Jumlah dan Tinggi Kondrosit

Kelompok	Kode	Panjang Tulang (mm)	Rerata Tinggi Sel (μm)	Rerata Jumlah Sel ($/10^4 \mu\text{m}^2$)
Kontrol Pretest	0.1	26,1	40,68	5
	0.2	28	35,72	5
	0.3	29	44,93	4,93
	0.4	26	45,53	6,2
	0.5	25,8	44,77	6,4
	0.6	25,9	43,97	6,47
	0.7	27	39,32	7,07
Intensitas Ringan	1.1	30	74,12	9,93
	1.2	33,1	67,92	9,33
	1.3	32	68,47	9,2
	1.4	31,5	71,58	9,07
	1.5	30,5	69,08	9,4
	1.6	32,8	68,77	9,13
	1.7	33,5	71,08	9,87
Intensitas Berat	2.1	34,2	80,63	10,67
	2.2	35,5	81,52	10,2
	2.3	34,5	79,1	11,13
	2.4	33,5	81,38	10,87
	2.5	35	85,08	10,4
	2.6	36	80,08	10,53
	2.7	35,5	80,8	10,93
Kontrol Posttest	3.1	31,2	56,06	8,33
	3.2	29,5	56,68	8,13
	3.3	30,5	56,89	8,33
	3.4	30	57,83	8,6
	3.5	31,4	57,83	8,6
	3.6	30,1	55,68	8,07
	3.7	28,5	58,18	8,69

Lampiran 8

Gambaran Kondrosit Lempeng Epifisc pada setiap Kelompok



Lampiran 9

Hasil Uji Homogenitas Sampel**ANOVA**

BERAT BADAN AWAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	28.623	3	9.541	.556	.649
Within Groups	412.111	24	17.171		
Total	440.734	27			



Lampiran 10

Hasil Uji Normalitas

10.1 Hasil Uji Normalitas Kelompok Pretest

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test^c

		PNJANG TULANG	LUAS SEL	TINGGI SEL	JUMLAH SEL	BERAT BADAN AWAL
N		7	7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	26.6857	593.90930	42.1886	5.8671	42.6000
	Std. Deviation	1.1379	25.38127	3.6224	.8744	2.8902
Most Extreme Differences	Absolute	.268	.164	.260	.268	.147
	Positive	.268	.137	.178	.268	.147
	Negative	-.218	-.164	-.260	-.220	-.113
Kolmogorov-Smirnov Z		.709	.434	.688	.709	.389
Asymp. Sig. (2-tailed)		.696	.992	.731	.697	.998

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = Kontrol Pretest

10.2 Hasil Uji Normalitas Kelompok Renang Intensitas Ringan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test^c

		PNJANG TULANG	LUAS SEL	TINGGI SEL	JUMLA H SEL	BERAT BADAN AWAL
N		7	7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	31.9143	1382.145	70.1457	9.4186	40.8571
	Std. Deviation	1.3259	103.50068	2.2179	.3479	5.2893
Most Extreme Differences	Absolute	.177	.238	.256	.236	.256
	Positive	.143	.238	.256	.236	.256
	Negative	-.177	-.161	-.158	-.189	-.179
Kolmogorov-Smirnov Z		.467	.629	.677	.623	.678
Asymp. Sig. (2-tailed)		.981	.823	.749	.832	.748

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = Intensitas Ringan

Lanjutan lampiran 10

10.3 Hasil Uji Normalitas Kelompok Renang Intensitas Berat

One-Sample Kolmogorov-Smimov Test

		PNJANG TULANG	LUAS SEL	TINGGI SEL	JUMLAH SEL	BERAT BADAN AWAL
N		7	7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	35.0286	1910.369	81.2271	10.6757	42.1429
	Std. Deviation	.9690	126.48930	1.8856	.3246	3.3321
Most Extreme Differences	Absolute	.258	.184	.295	.154	.221
	Positive	.158	.146	.295	.102	.221
	Negative	-.258	-.184	-.130	-.154	-.190
Kolmogorov-Smimov Z		.683	.486	.782	.407	.586
Asymp. Sig. (2-tailed)		.739	.972	.574	.996	.883

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = Intensitas Berat

10.4 Hasil Uji Normalitas Kelompok Kontrol Posttest

One-Sample Kolmogorov-Smimov Test

		PNJANG TULANG	LUAS SEL	TINGGI SEL	JUMLAH SEL	BERAT BADAN AWAL
N		7	7	7	7	7
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	30.1714	1116.316	57.0214	8.3929	40.0571
	Std. Deviation	.9962	58.75830	.9581	.2434	4.6101
Most Extreme Differences	Absolute	.146	.255	.229	.231	.202
	Positive	.109	.241	.128	.173	.202
	Negative	-.146	-.255	-.229	-.231	-.146
Kolmogorov-Smimov Z		.386	.674	.606	.612	.534
Asymp. Sig. (2-tailed)		.998	.754	.856	.848	.938

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. KELOMPOK = Kontrol Posttest

Lampiran 11

Efek Maturasi

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. (a)
PANJANG TULANG	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-5.229	.597	.000
		Intensitas Berat	-6.343	.597	.000
		Kontrol Posttest	-3.486	.597	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-3.114	.597	.000
		Kontrol Posttest	1.743	.597	.007
		Kontrol Posttest	4.857	.597	.000
TINGGI SEL	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-27.957	1.268	.000
		Intensitas Berat	-39.039	1.268	.000
		Kontrol Posttest	-14.833	1.268	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-11.081	1.268	.000
		Kontrol Posttest	13.124	1.268	.000
		Kontrol Posttest	24.206	1.268	.000
JUMLAH SEL	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-3.551	.274	.000
		Intensitas Berat	-4.809	.274	.000
		Kontrol Posttest	-2.526	.274	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-1.257	.274	.000
		Kontrol Posttest	1.026	.274	.001
		Kontrol Posttest	2.283	.274	.000

Lampiran 12

Hasil Analisis Variabel Moderator**Hasil Analisis Deskriptif Variabel Moderator**

KELOMPOK		BB AWAL	BB AKHIR
Kontrol Pretest	Mean	42.6000	
	N	7	
	Std. Deviation	2.89021	
Intensitas Ringan	Mean	40.8571	131.8714
	N	7	7
	Std. Deviation	5.28925	5.50203
Intensitas Berat	Mean	42.1429	132.3571
	N	7	7
	Std. Deviation	3.33210	7.67764
Kontrol Posttest	Mean	40.0571	128.2000
	N	7	7
	Std. Deviation	4.61008	7.10587
Total	Mean	41.4143	130.8095
	N	28	21
	Std. Deviation	4.04023	6.74759

Hasil Analisis Anova

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power(a)
Contrast	72.327	2	36.163	.777	.475	.079	1.553	.161
Error	838.271	18	46.571					

Dependent Variable: BERAT BADAN AKHIR

Hasil Analisis LSD

Dependent Variable: BERAT BADAN AKHIR

LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-.4857	3.64772	.896	-8.1493	7.1779
	Kontrol Posttest	3.6714	3.64772	.328	-3.9922	11.3350
Intensitas Berat	Intensitas Ringan	.4857	3.64772	.896	-7.1779	8.1493
	Kontrol Posttest	4.1571	3.64772	.269	-3.5064	11.8207
Kontrol Posttest	Intensitas Ringan	-3.6714	3.64772	.328	-11.3350	3.9922
	Intensitas Berat	-4.1571	3.64772	.269	-11.8207	3.5064

Lampiran 13

Hasil Analisis Variabel Tergantung**Hasil Analisis Deskriptif**

KELOMPOK		PNJANG TULANG	LUAS SEL	TINGGI SEL	JUMLAH SEL
Kontrol Pretest	Mean	26.6857	593.9093	42.1886	5.8671
	Std. Deviation	1.1379	25.38127	3.6224	.8744
	N	7	7	7	7
Intensitas Ringan	Mean	31.9143	1382.145	70.1457	9.4186
	Std. Deviation	1.3259	103.5007	2.2179	.3479
	N	7	7	7	7
Intensitas Berat	Mean	35.0286	1910.369	81.2271	10.6757
	Std. Deviation	.9690	126.4893	1.8856	.3246
	N	7	7	7	7
Kontrol Posttest	Mean	30.1714	1116.316	57.0214	8.3929
	Std. Deviation	.9962	58.75830	.9581	.2434
	N	7	7	7	7

Hasil Analisis Manova**Multivariate Tests**

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	1.613	6.685	12.000	69.000	.000
Wilks' lambda	.003	36.684	12.000	55.852	.000
Hotelling's trace	149.509	245.029	12.000	59.000	.000
Roy's largest root	148.525	854.020 ^a	4.000	23.000	.000

Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PNJANG TULANG	Contrast	254.484	3	84.828	68.076	.000
	Error	29.906	24	1.246		
LUAS SEL	Contrast	6313115	3	2104371.690	273.218	.000
	Error	184852.1	24	7702.171		
TINGGI SEL	Contrast	5961.527	3	1987.176	353.051	.000
	Error	135.086	24	5.629		
JUMLAH SEL	Contrast	87.427	3	29.142	111.002	.000
	Error	6.301	24	.263		

Lanjutan Lampiran 13

Hasil Analisis LSD Variabel Tergantung

Pairwise Comparisons

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a
PNJANG TULANG	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-5.229	.597	.000
		Intensitas Berat	-8.343	.597	.000
		Kontrol Posttest	-3.486	.597	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-3.114	.597	.000
		Kontrol Posttest	1.743	.597	.007
		Intensitas Berat	4.857	.597	.000
LUAS SEL	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-788.236	46.911	.000
		Intensitas Berat	-1316.459	46.911	.000
		Kontrol Posttest	-522.407	46.911	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-528.224	46.911	.000
		Kontrol Posttest	265.829	46.911	.000
		Intensitas Berat	794.053	46.911	.000
TINGGI SEL	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-27.957	1.268	.000
		Intensitas Berat	-39.039	1.268	.000
		Kontrol Posttest	-14.833	1.268	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-11.081	1.268	.000
		Kontrol Posttest	13.124	1.268	.000
		Intensitas Berat	24.206	1.268	.000
JUMLAH SEL	Kontrol Pretest	Intensitas Ringan	-3.551	.274	.000
		Intensitas Berat	-4.809	.274	.000
		Kontrol Posttest	-2.526	.274	.000
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-1.257	.274	.000
		Kontrol Posttest	1.026	.274	.001
		Intensitas Berat	2.283	.274	.000

Lampiran 14

Hasil Analisis Peningkatan Variabel Tergantung sebagai Respon terhadap Perlakuan

Hasil Analisis Deskriptif

	KELOMPOK	Mean	Std. Deviation	N
PENINGKATAN PANJANG TULANG	Intensitas Ringan	1.7433	1.3259	7
	Intensitas Berat	4.8576	.9690	7
	Total	3.3004	1.9637	14
PENINGKATAN TINGGI SEL	Intensitas Ringan	13.1247	2.2179	7
	Intensitas Berat	24.2061	1.8856	7
	Total	18.6654	6.0805	14
PENINGKATAN JUMLAH SEL	Intensitas Ringan	1.0256	.3479	7
	Intensitas Berat	2.2827	.3246	7
	Total	1.6541	.7280	14

Hasil Uji Manova

Multivariate Tests

	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.
Pillai's trace	.961	54.777(a)	4.000	9.000	.000
Wilks' lambda	.039	54.777(a)	4.000	9.000	.000
Hotelling's trace	24.345	54.777(a)	4.000	9.000	.000
Roy's largest root	24.345	54.777(a)	4.000	9.000	.000

Univariate Tests

Dependent Variable		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PENINGKATAN PJG TULANG	Contrast	33.946	1	33.946	25.172	.000
	Error	16.183	12	1.349		
PENINGKATAN TINGGI SEL	Contrast	429.793	1	429.793	101.429	.000
	Error	50.849	12	4.237		
PENINGKATAN JUMLAH SEL	Contrast	5.531	1	5.531	48.862	.000
	Error	1.358	12	.113		

Hasil Analisis LSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. (a)
PENINGKATAN PANJANG TULANG	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-3.114(*)	.621	.000
	Intensitas Berat	Intensitas Ringan	3.114(*)	.621	.000
PENINGKATAN TINGGI SEL	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-11.081(*)	1.100	.000
	Intensitas Berat	Intensitas Ringan	11.081(*)	1.100	.000
PENINGKATAN JUMLAH SEL	Intensitas Ringan	Intensitas Berat	-1.257(*)	.180	.000
	Intensitas Berat	Intensitas Ringan	1.257(*)	.180	.000

Lampiran 15

**Hasil Uji Diskriminan Peningkatan Variabel Tergantung
sebagai Respon terhadap Perlakuan**

Discriminant

Tests of Equality of Group Means

	Wilks' Lambda	F	df1	df2	Sig.
PENINGKATAN PANJANG TULANG	.323	25.172	1	12	.000
PENINGKATAN TINGGI SEL	.106	101.429	1	12	.000
PENINGKATAN JUMLAH SEL	.197	48.862	1	12	.000

Stepwise Statistics

Variables Entered/Removed(a,b,c,d)

Step	Entered	Wilks' Lambda							
		Statistic	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	PENINGKATAN TINGGI SEL	.106	1	1	12.000	101.429	1	12.000	.000
2	PENINGKATAN JUMLAH SEL	.046	2	1	12.000	114.917	2	11.000	.000

Variables in the Analysis

Step		Tolerance	F to Remove	Wilks' Lambda
1	PENINGKATAN TINGGI SEL	1.000	101.429	
2	PENINGKATAN TINGGI SEL	.831	36.484	.197
	PENINGKATAN JUMLAH SEL	.831	14.478	.106

Lanjutan Lampiran 15

Variables Not in the Analysis

Step		Tolerance	Min. Tolerance	F to Enter	Wilks' Lambda
0	PENINGKATAN P.JG TULANG	1.000	1.000	25.172	.323
	PENINGKATAN TINGGI SEL	1.000	1.000	101.429	.106
	PENINGKATAN JUM SEL	1.000	1.000	48.862	.197
1	PENINGKATAN P.JG TULANG	.519	.519	.722	.099
	PENINGKATAN JUM SEL	.831	.831	14.478	.046
2	PENINGKATAN P.JG TULANG	.518	.477	.195	.045

Wilks' Lambda

Step	Number of Variables	Lambda	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	1	.106	1	1	12	101.429	1	12.000	.000
2	2	.046	2	1	12	114.917	2	11.000	.000

Summary of Canonical Discriminant Functions

Eigenvalues

Function	Eigenvalue	% of Variance	Cumulative %	Canonical Correlation
1	20.894(a)	100.0	100.0	.977

Wilks' Lambda

Test of Function(s)	Wilks' Lambda	Chi-square	df	Sig.
1	.046	33.948	2	.000

Classification Function Coefficients

VARIABEL	KELOMPOK	
	Intensitas Ringan	Intensitas Berat
PENINGKATAN TINGGI SEL	4.463	8.511
PENINGKATAN JUMILAH SEL	20.299	41.598
(Constant)	-40.390	-151.184

Lampiran 16

Hasil Uji Korelasi Tinggi dan Jumlah Sel dengan Panjang Tulang**Correlations**

		PANJANG TULANG	TINGGI SEL	JUMLAH SEL
Pearson Correlation	PANJANG TLG	1,000	,955	,873
	TINGGI SEL	,955	1,000	,920
	JUMLAH SEL	,873	,920	1,000
Sig. (1-tailed)	PANJANG TLG	.	,000	,000
	TINGGI SEL	,000	.	,000
	JUMLAH SEL	,000	,000	.
N	PANJANG TLG	28	28	28
	TINGGI SEL	28	28	28
	JUMLAH SEL	28	28	28

Model Summary(b)

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics					Durbin-Watson
				R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change	
,955(a)	,912	,905	,99854	,912	130,111	2	25	,000	1,625

a Predictors: (Constant), JUMLAH SEL, TINGGI SEL

b Dependent Variable: PNJANG TULANG

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	259,463	2	129,731	130,111	,000(a)
	Residual	24,927	25	,997		
	Total	284,390	27			

a Predictors: (Constant), JUMLAH SEL, TINGGI SEL

b Dependent Variable: PNJANG TULANG

Coefficients(a)

	Unstandardized Coefficients		t	Sig.	Correlations			Collinearity Statistics	
	B	Std. Error			Zero-order	Partial	Part	Tolerance	VIF
Constant	18,114	,906	19,985	,000					
TINGGI SEL	,213	,033	6,543	,000	,955	,795	,387	,154	6,484
JUMLAH SEL	-,060	,263	-,227	,822	,873	-,045	-,013	,154	6,484

a Dependent Variable: PNJANG TULANG

Lampiran 17

Hasil Uji Korelasi Perlakuan Renang dengan Peningkatan Panjang Tulang**Correlations**

		Peningkatan Panjang Tlg	RENANG
Pearson Correlation	Peningkatan Panjang Tulang	1,000	,823
	Renang	,823	1,000
Sig. (1-tailed)	Peningkatan Panjang Tulang		,000
	Renang	,000	
N	Peningkatan Panjang Tulang	14	14
	Renang	14	14

Model Summary(b)

R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics				Durbin-Watson	
				R Square Change	F Change	df1	df2		Sig. F Change
,823(a)	,677	,650	1,16128	,677	25,172	1	12	,000	2,414

a Predictors: (Constant), RENANG

b Dependent Variable: PENINGKATAN Panjang Tlg

ANOVA(b)

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	33,946	1	33,946	25,172	,000(a)
	Residual	16,183	12	1,349		
	Total	50,129	13			

a Predictors: (Constant), RENANG

b Dependent Variable: PENINGKATAN Panjang Tlg

Coefficients(a)

	Unstandardized Coefficients		t	Sig.	Correlations			Collinearity Statistics	
	B	Std. Error			Zero-order	Partial	Part	Tolerance	VIF
Constant	-	,981	-1,397	,188					
RENANG	1,371	,621	5,017	,000	,823	,823	,823	1,000	1,000

a Dependent Variable: PENINGKATAN Panjang Tlg