



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH LATIHAN FISIK AEROBIK DAN HENTI LATIH  
TERHADAP APOPTOSIS KARDIOMIOSIT VENTRIKEL  
KIRI JANTUNG TIKUS**

**TESIS**

**MUSTIKA ANGGIANE PUTRI  
1206292761**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA  
PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
JAKARTA  
JANUARI  
2015**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**PENGARUH LATIHAN FISIK AEROBIK DAN HENTI LATIH  
TERHADAP APOPTOSIS KARDIOMIOSIT VENTRIKEL  
KIRI JANTUNG TIKUS**

**TESIS**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Magister Ilmu Biomedik**

**MUSTIKA ANGGIANE PUTRI  
1206292761**

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS INDONESIA  
PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
JAKARTA  
JANUARI  
2015**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Tesis ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Mustika Anggiane Putri

NPM : 1206292761

Tanda tangan :



Tanggal : Januari 2015

## HALAMAN PENGESAHAN


Tesis ini diajukan oleh :

Nama : Mustika Anggiane Putri  
NPM : 1206292761  
Program Studi : Program Magister Ilmu Biomedik  
Judul Tesis : Pengaruh Latihan Fisik Aerobik dan Henti Latih Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Jantung Tikus

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister pada Program Studi Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

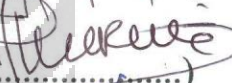
Pembimbing I : dr. Dewi Irawati, MS

(  
.....)

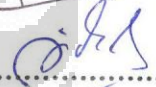
Pembimbing II : Dra. Ria Kodariah, MS

(  
.....)

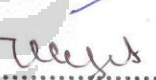
Penguji I : Dr.dr. Minarma Siagian, MS

(  
.....)

Penguji II : Prof. Dr. dr. Sri Widia A Jusman, M.S

(  
.....)

Penguji III : dr. Nurjati C Siregar, MS., Sp.PA(K), PhD

(  
.....)

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : 14 Januari 2015

Ketua Program Magister Ilmu Biomedik

(  
.....)

Dr. rer. Physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi

## KATA PENGANTAR

Puji syuur Alhamdulillah peneliti panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karuniaNya sehingga tesis yang berjudul “Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Jantung Tikus Pasca Latihan dan Pasca Henti Latihan Aerobik’ ini telah selesai. Shalawat dan salam semoga selalu terarah kepada suri teladan kita, Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat dan umatnya yang istiqomah hingga hari akhir.

Penelitian ini disusun dalam rangka memenuhi syarat kelulusan pada program studi ilmu biomedik kekhususan fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Peneliti menyadari sepenuhnya bahwa tesis ini dapat diselesaikan atas bantuan, bimbingan dan dukungan semangat serta doa dari berbagai pihak. Untuk itu peneliti mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. dr. Dewi Irawati SS, M.S selaku pembimbing I yang dengan penuh kesabaran telah memberikan waktu, tenaga dan pikirannya serta dukungan materil maupun non materil yang sangat membantu dalam penyelesaian tesis ini.
2. Dra. Ria Kodariah, M.S selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk membimbing saya dalam menyelesaikan tesis ini khususnya dalam hal teknik laboratorium dalam mengerjakan penelitian ini.
3. Dr.dr.Neng Tine Kartinah, Mkes,AIFO selaku ketua kekhususan Departemen Fisiologi FKUI yang telah memberikan dukungannya agar tesis ini segera rampung.
4. Dr.dr. Minarma Siagian, M.S,AIFM sebagai penguji pertama dalam tesis saya, yang telah banyak memberikan saran dalam penyempurnaan tesis ini.
5. Prof. Dr. dr. Sri Widia A Jusman,M.S dan dr. Nurjati C Siregar,MS.,Sp.PA(K),PhD sebagai penguji kedua dan ketiga yang juga telah memberikan sarannya dan masukannya demi perbaikan tesis ini.

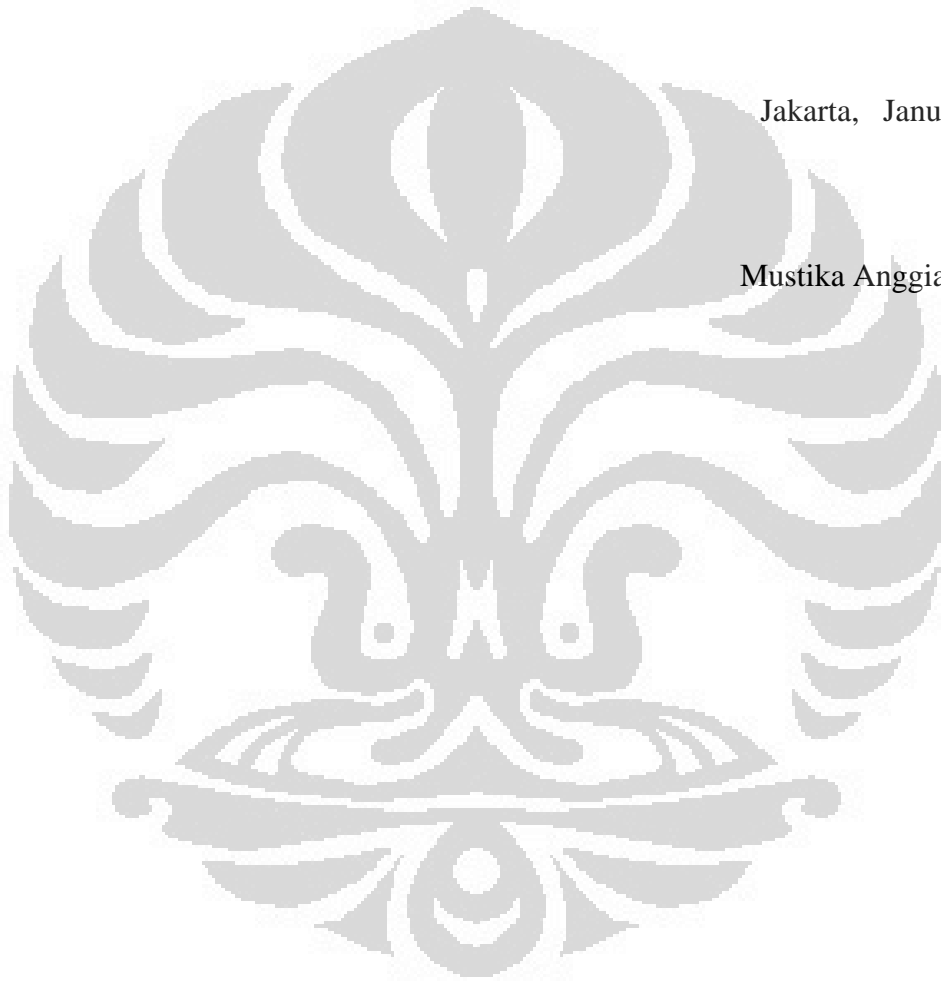
6. Seluruh staf pengajar dan staf administrasi Departemen Fisiologi FKUI yang telah begitu banyak membantu dan mendukung peneliti selama menjalankan pendidikan.
7. Seluruh staf administrasi dan laboran Departemen Patologi Anatomi FKUI yang telah membantu dan mengizinkan pemakaian fasilitas laboratorium dan peralatan bagi peneliti selama masa penelitian.
8. Dr.dr. Ratna Sitompul, Sp.M(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
9. Dr.rer. Physiol. dr. Septelia Inawati Wanandi selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik FKUI.
10. Prof.Dr(hc).dr.M.K. Tadjudin, Sp.And dan dr. M. Djauhari Widjajakusumah, AIF, PFK selaku Dekan dan wakil dekan PSPD FKIK Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
11. dr. Fika Ekayanti, M.Med.Ed selaku direktur eksekutif PHK-PKPD FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
12. Seluruh Keluarga besarku terutama keluarga intiku, kedua orang tuaku Bpk. Drs. Johanes Kristianto dan Ibu Ucu Utami serta kakak-kakakku Anggi, Inggi dan krisye yang selalu memberikan doanya, dukungan moril maupun materil kepada saya.
13. Rekan-rekan seperjuangan kekhususan Fisiologi, khususnya angkatan 2012 (dr Donna, dr Miftah, dr Friska, Ni Made Ridla S.Kep, M.Biomed dan Ns Maria Lousiana) serta seluruh sahabat dan rekan mahasiswa(i) Program Magister Ilmu Biomedik angkatan 2012 yang telah memberikan dukungan dan semangat bagi peneliti.
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu dan telah ikut berperan dalam penyelesaian tesis ini.
15. Suamiku dr. Awab Zakie Habibie dan anakku tercinta Sabina Kai yang tak henti-hentinya memberikan doa, kasih sayang dan dukungannya. Terima kasih atas pengorbanan, pengertian dan ketulusan yang selalu tercurah untukku.

Peneliti menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu peneliti sangat mengharapkan masukan, saran dan kritik yang bersifat membangun dan dapat menyempurnakan tesis ini.

Akhir kata dari peneliti semoga Allah S.W.T membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu dengan berkat yang melimpah dan peneliti berharap semoga laporan penelitian ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Jakarta, Januari 2014

Mustika Anggiane Putri



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI  
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mustika Anggiane Putri  
NPM : 1206292761  
Program Studi : Program Magister Ilmu Biomedik  
Departemen : Fisiologi  
Fakultas : Kedokteran  
Jenis Karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Pengaruh Latihan Fisik Aerobik dan Henti Latih Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Jantung Tikus**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Jakarta

Pada tanggal : 14 Januari 2015

Yang menyatakan



( Mustika Anggiane Putri )

## ABSTRAK

Nama : Mustika Anggiane Putri  
Program Studi : Ilmu Biomedik  
Judul : Pengaruh Latihan Fisik Aerobik dan Henti Latih Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Jantung Tikus

**Latar Belakang :** Beberapa penelitian terbaru memperlihatkan bahwa apoptosis terjadi pada beberapa keadaan jantung patologis seperti pada keadaan kerusakan “iskemia-reperfusi”, infark miokardium dan gagal jantung. Di sisi lain terdapat penelitian yang memperlihatkan bahwa latihan fisik dapat menurunkan apoptosis kardiomyosit. Dari beberapa jenis latihan fisik, latihan fisik aerobik merupakan latihan yang paling dianjurkan karena diyakini efektif dalam mencegah dan bahkan sebagai terapi rehabilitasi pada penyakit kardiovaskular. Keadaan henti latih pasca latihan fisik ternyata dapat mengembalikan seluruh atau sebagian adaptasi yang sudah terbentuk setelah latihan fisik.

**Tujuan :** Penelitian ini bertujuan ingin melihat bagaimana pengaruh latihan fisik aerobik dan henti-latih terhadap apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri dengan menggunakan protein caspase-3 sebagai parameter apoptosis.

**Desain :** Penelitian ini menggunakan studi eksperimental *in vivo* pada tikus

**Metode :** identifikasi protein caspase-3 pada jaringan ventrikel kiri jantung tikus dengan pemeriksaan pulasan imunohistokimia pada 8 kelompok tikus ( kelompok kontrol 4 minggu (K4M), kontrol 8 minggu (K4MD), kontrol 12 minggu (K12M), kontrol 16 minggu (K12MD) dan kelompok perlakuan latihan aerobik 4 minggu (AR4M), perlakuan latihan aerobik 12 minggu (AR12M), perlakuan latihan aerobik 4 minggu diikuti dengan henti-latih 4 minggu (AR4MD) serta kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti dengan henti-latih 4 minggu (AR12MD)).

**Hasil :** Analisis data menunjukkan peningkatan persentase ekspresi caspase-3 kelompok pasca latihan fisik aerobik (K4M  $6,40\% \pm 1,78$  dan AR4M  $65,38\% \pm 2,54$ ,  $p < 0,001$ ; K12M  $5,72\% \pm 0,88$  dan AR12M  $41,81\% \pm 3,21$ ,  $p < 0,001$ ; K4MD  $8,64\% \pm 3,59$  dan AR4MD  $66,55\% \pm 1,88$ ; K12MD  $7,35\% \pm 2,06$  dan AR12MD  $46,78\% \pm 2,45$ ,  $p < 0,001$ ). Kecenderungan Peningkatan persentase ekspresi caspase-3 kelompok pasca henti latih (AR4M  $65,38\% \pm 2,54$  dan AR4MD  $66,55\% \pm 1,88\%$ ,  $p = 1,000$ ; AR12M  $41,81\% \pm 3,21$  dan AR12MD  $46,78\% \pm 2,45$ ,  $p = 0,230$ ). Ekspresi caspase 3 kelompok latihan aerobik 4 minggu lebih tinggi dibanding kelompok latihan aerobik 12 minggu (AR4M  $65,38\% \pm 2,54$  dan AR12M  $41,81\% \pm 3,21$ ,  $p < 0,001$ ).

**Kesimpulan :** latihan fisik aerobik tidak menurunkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus dan program henti latih tidak meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.

**Kata Kunci :** latihan fisik aerobik, henti-latih, caspase-3, apoptosis, kardiomyosit.

## ABSTRACT

Name : Mustika Anggiane Putri  
Study Program : Biomedical Science  
Title : Effect of Aerobic Physical Exercise and Detraining on Left Ventricular Cardiomyocyte Apoptosis

**Background:** Recent studies showed that apoptosis occurs in several pathological heart condition as in myocardial ischemia-reperfusion injury, myocardial infarction and heart failure. It has been also research showing that physical exercise can reduce apoptosis on cardiomyocyte. Of some kind of physical exercise, aerobic exercise is an exercise that is most recommended because it is believed to be effective in preventing and even as a rehabilitation therapy on cardiovascular disease. Detraining was able to restore all or part of adaptation that has been formed after the exercise

**Objective:** This study aimed to see the effect of aerobic exercise and detraining on left ventricular cardiomyocyte apoptosis using caspase-3 protein as a parameter of apoptosis.

**Design:** This study used an experimental in vivo study on rats.

**Methods:** Caspase-3 protein in rat cardiac left ventricular tissue is identified by immunohistochemistry staining conducted on 4 sedentary control group ( 4 weeks control group (K4M), 8 weeks control group (K4MD), 12 weeks control group (K12M), 16 weeks control (K12MD)) and 4 treatment groups ( 4 & 12 weeks post aerobic exercise group (AR4M, AR12M) and 4&12 weeks post aerobic exercise followed by 4 weeks detraining (AR4MD,AR12MD)).

**Results:** Analysis of the data shows an increase percentage of caspase-3 expression on post-aerobic exercise group (K4M  $6,40\% \pm 1,78$  and AR4M  $65,38\% \pm 2,54$ ,  $p < 0,001$ ; K12M  $5,72\% \pm 0,88$  and AR12M  $41,81\% \pm 3,21$ ,  $p < 0,001$ ; K4MD  $8,64\% \pm 3,59$  and AR4MD  $66,55\% \pm 1,88$ ; K12MD  $7,35\% \pm 2,06$  and AR12MD  $46,78\% \pm 2,45$ ,  $p < 0,001$ ) The data also shows tendency an increase percentage of caspase-3 expression on detraining group (AR4M  $65,38\% \pm 2,54$  and AR4MD  $66,55\% \pm 1,88\%$ ,  $p = 1,000$ ; AR12M  $41,81\% \pm 3,21$  and AR12MD  $46,78\% \pm 2,45$ ,  $p = 0,230$ ). Percentage of caspase-3 expression on post-4 weeks aerobic exercise group is higher than post-12 weeks aerobic exercise (AR4M  $65,38\% \pm 2,54$  and AR12M  $41,81\% \pm 3,21$ ,  $p < 0,001$ ).

**Conclusion:** Aerobic physical exercise does not decrease left ventricular cardiomyocyte apoptosis and does not improve left ventricular cardiomyocyte apoptosis.

**Keywords:** aerobic exercise, detraining, caspase-3, apoptosis, cardiomyocyte

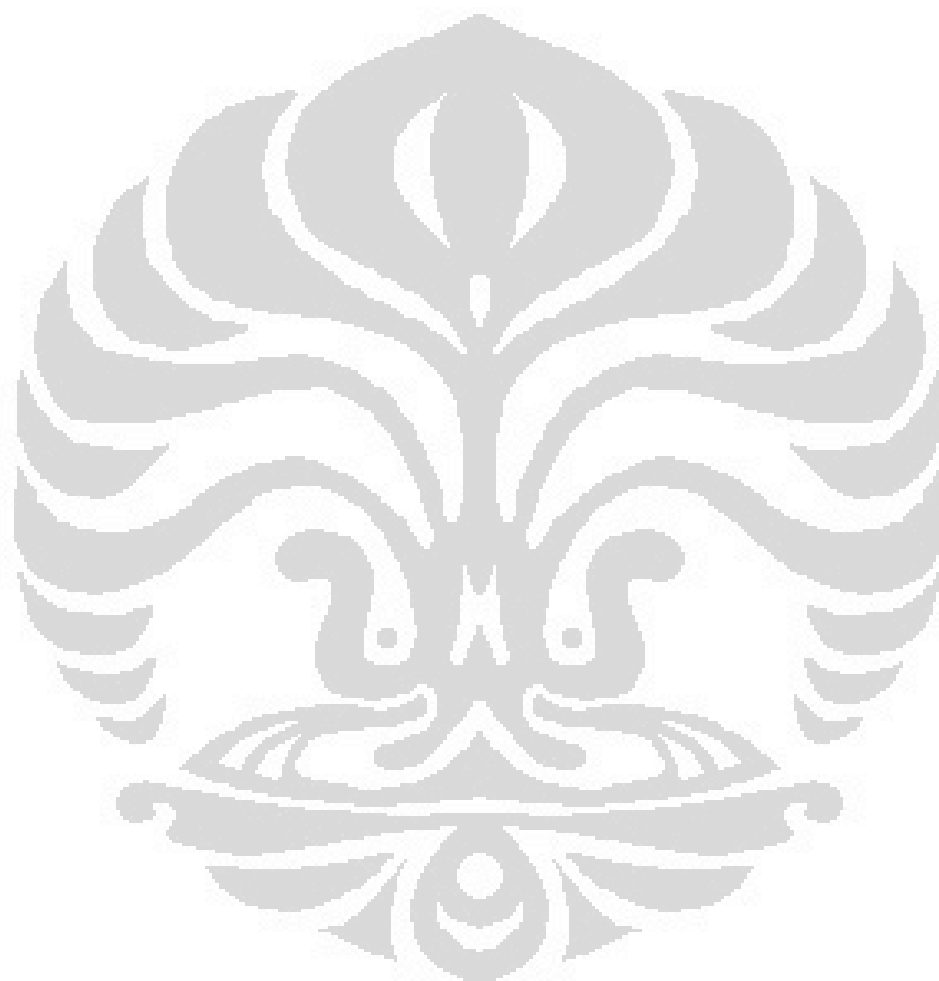
## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vii
ABSTRAK.....	viii
<i>ABSTRACT</i> .....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR BAGAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5.1 Tujuan Umum.....	3
1.5.2 Tujuan Khusus.....	4
1.5 Manfaat penelitian.....	4
1.6.1 Untuk Institusi.....	4
1.6.2 Untuk Peneliti Lain.....	4
1.6.3 Untuk Keilmuan.....	4
1.6.4 Untuk Praktisi Kesehatan.....	4
1.6.5 Untuk Peneliti.....	4
1.6 Kerangka Teori.....	5
1.7 Kerangka Konsep.....	6
1.8 Alur Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
2.1 Latihan Fisik.....	8
2.2 Latihan Fisik Kesehatan.....	8
2.3 Apoptosis.....	10
2.3.1 Mekanisme Apoptosis.....	11
2.3.2 Jalur Ekstrinsik.....	12
2.3.3 Jalur Intrinsik.....	14
2.3.4 Fase Apoptosis dan Molekul-Molekul yang Terlibat.....	16
2.4 <i>Reactive Oxygene Species</i> (ROS) Sebagai Pemicu Apoptosis.....	21
2.5 Pengaruh Latihan Fisik Dalam Menurunkan Apoptosis Kardiomyosit.....	24
2.6 Latihan Fisik Meningkatkan Antioksidan Endogen.....	28
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>34</b>
3.1 Desain Penelitian.....	34
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	34
3.3 Subjek Penelitian.....	34
3.4 Penetapan Jumlah Hewan Coba.....	35
3.5 Keterangan Lolos Kaji Etik.....	36
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	36

3.7	Prosedur Penelitian.....	<b>DAFTAR ISI</b> .....	36
3.7.1	Persiapan Jaringan.....		36
3.7.2	Teknik Pulasan Imunohistokimia (IHK) Caspase-3.....		37
3.7.3	Penilaian Parameter Penelitian.....		38
3.8	Definisi Operasional.....		40
3.9	Variabel Penelitian.....		40
3.10	Analisis Data.....		41
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN</b> .....		42
4.1	Uji Normalitas dan Homogenitas Data.....		42
4.2	Uji Statistik Perbandingan Persentase Ekspresi Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu dengan Kelompok Kontrol.....		43
4.3	Uji Statistik Perbandingan Persentase Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu Henti-Latih dengan Kelompok Kontrol.....		44
4.4	Uji Statistik Perbandingan Persentase Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu dengan Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu Diikuti dengan Henti-Latih.....		45
4.5	Uji Statistik Perbandingan Persentase Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 12 Minggu dengan Kelompok Kontrol.....		46
4.6	Uji Statistik Perbandingan Persentase Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 12 Minggu diikuti Henti-Latih dengan Kelompok Kontrol.....		47
4.7	Uji Statistik Perbandingan Persentase Caspase-3 Kelompok Latihan Aerobik 12 Minggu dengan Kelompok Latihan Aerobik 12 Minggu diikuti Henti-Latih.....		48
4.8	Uji Statistik Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu dengan 12 Minggu dan Kelompok Latihan Aerobik 4 Minggu Henti-Latih dengan 12 Minggu Henti-Latih dan kelompok latihan aerobik 4 minggu henti latih dengan 12 minggu henti latih.....		49
<b>BAB V</b>	<b>PEMBAHASAN</b> .....		50
5.1	Pengaruh Latihan Fisik Aerobik Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Tikus.....		50
5.2	Pengaruh Program Henti-Latih Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Tikus.....		52
5.3	Pengaruh Lama Latihan Aerobik Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Tikus.....		53
<b>BAB VI</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....		55
6.1	Kesimpulan.....		55
6.2	Saran.....		55
	DAFTAR PUSTAKA.....		56
	LAMPIRAN.....		60
	RIWAYAT HIDUP		

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Klasifikasi Intensitas Olahraga Yang Dianjurkan Oleh CDC dan ACSM.....	10
Tabel 2.2	Protein-protein Jalur Ekstrinsik.....	13
Tabel 2.3	Protein-protein Jalur Intrinsik.....	15
Tabel 3.1	Kelompok Subjek Penelitian.....	34
Tabel 3.2	Variabel Penelitian.....	40

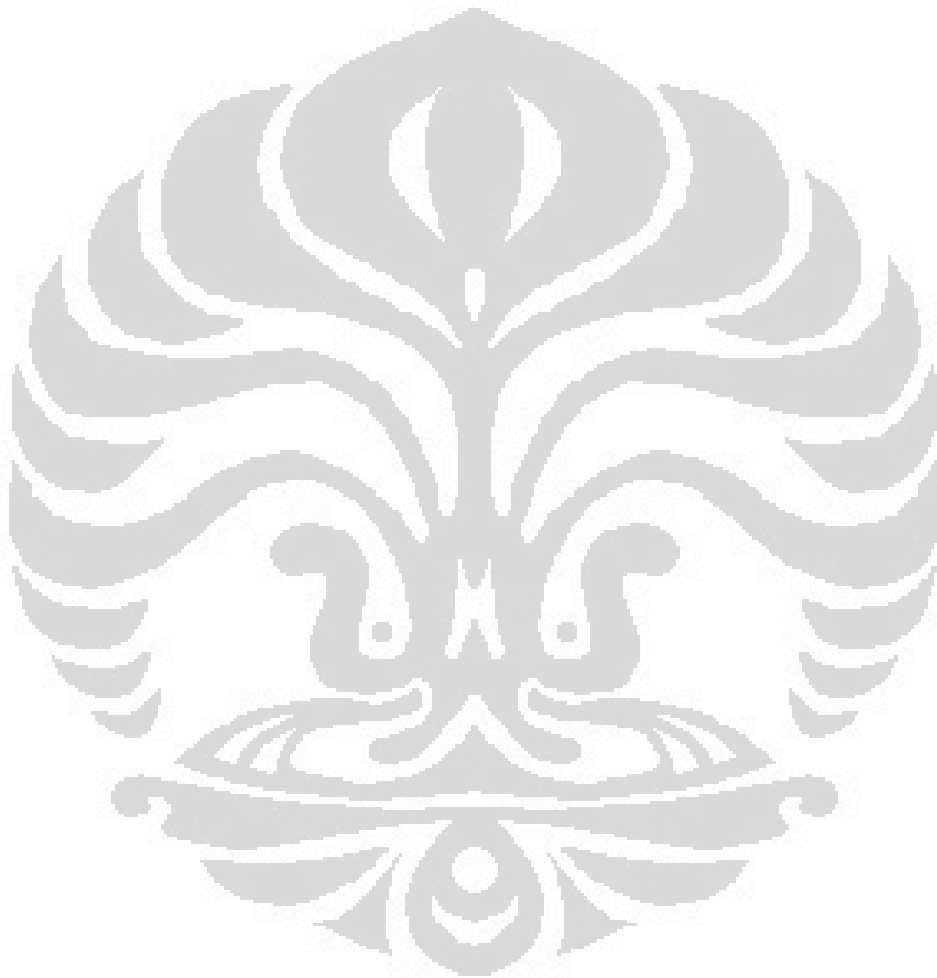


## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tiga Jalur Apoptosis .....	12
Gambar 2.2	Jalur Sinyal Apoptosis Melalui CD95 (Fas) .....	17
Gambar 2.3	Model Rasio Bcl-2 dan Bax Dalam Menyebabkan Apoptosis.....	20
Gambar 2.4	Model Pengaturan apaf-1 oleh Bcl – XL.....	20
Gambar 2.5	Faktor – factor yang mempengaruhi apoptosis .....	22
Gambar 2.6	Skema yang menunjukkan mitokondria sebagai target dan sumber ROS dan peranan ROS dalam menginduksi apoptosis .....	24
Gambar 2.7	Model skema peran latihan fisik dalam menghambat apoptosis .....	25
Gambar 2.8	Peran SOD, katalase dan Glutation peroksidase dalam menetralsir radikal bebas.....	29
Gambar 2.9	Peningkatan ekspresi gen antioksidan enzimatik melalui aktivitas NF-KB oleh ROS.....	31
Gambar 2.10	Peningkatan ekspresi gen antioksidan enzimatik melalui aktivitas Nrf-2 oleh ROS.....	32
Gambar 3.1	Hasil pengamatan mikroskopis .....	39
Gambar 4.1	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 4 minggu dan kelompok kontrol.	43
Gambar 4.2	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti dengan henti latih dan kelompok kontrol .....	44
Gambar 4.3	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 4 minggu dan kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti dengan henti latih .....	45
Gambar 4.4	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 12 minggu dan kelompok kontrol .....	46
Gambar 4.5	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti dengan henti latih dan kelompok kontrol .....	47
Gambar 4.6	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 12 minggu dan kelompok latihan 12 minggu diikuti dengan henti latih .....	48
Gambar 4.7	Perbandingan rerata persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik 4 minggu dengan kelompok latihan aerobik 12 minggu dan kelompok latihan aerobik 4 minggu henti latih dengan 12 minggu henti latih.....	49

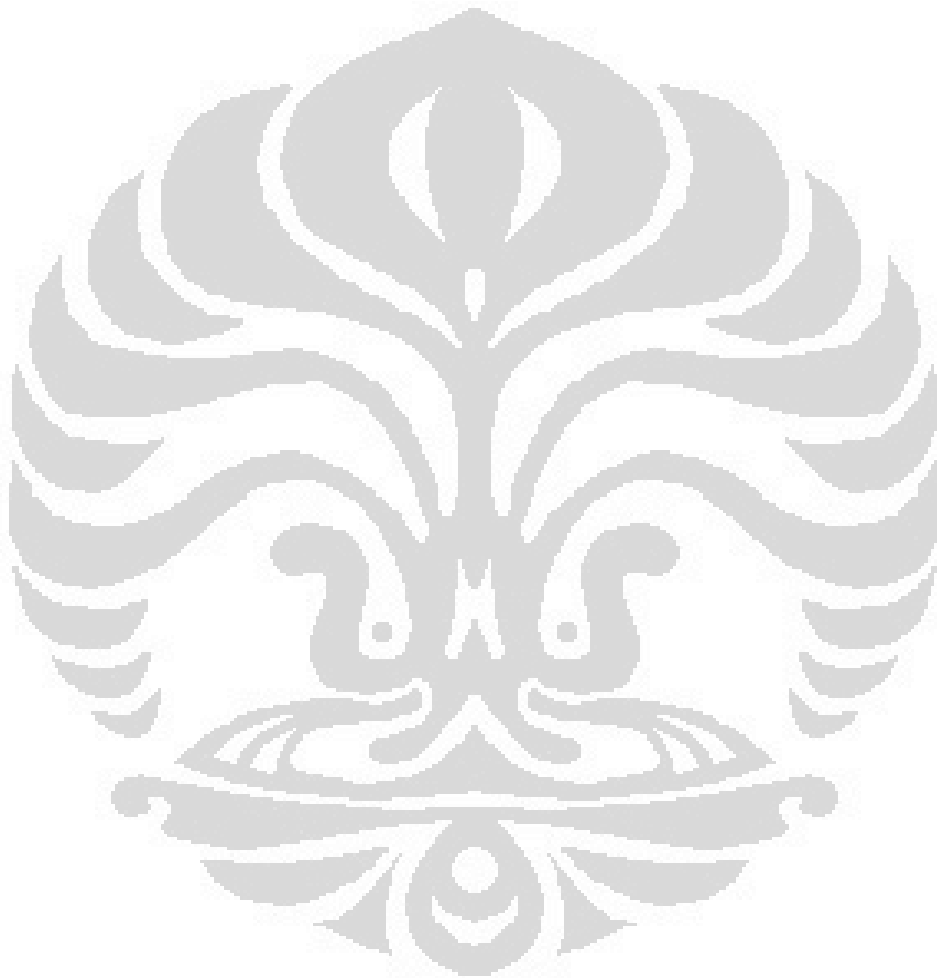
## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil analisa statistic .....	60
Lampiran 2	Protokol pulasan IHK Caspase-3 Abcam Ab4051 .....	64



## DAFTAR BAGAN

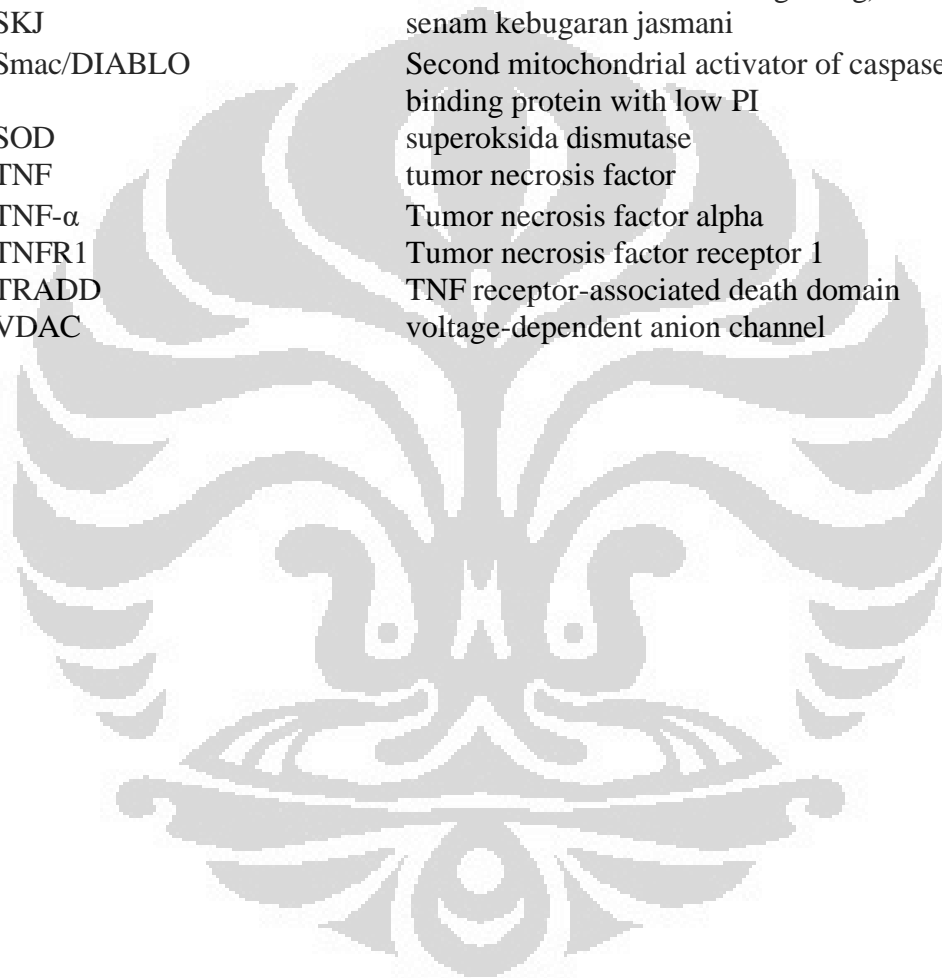
Bagan 2.1	Gen anti apoptosis meningkat dan pro apoptosis menurun setelah latihan fisik endurance ..... 27
-----------	--



## DAFTAR SINGKATAN

ACSM	The American College of Sports Medicine
AES	Acute exercise stress
AIF	Apoptosis inducing factor
ARE	Antioksidan responsive elemen
AR4M	Kelompok latihan 4 minggu
AR4MD	Kelompok latihan 4 minggu disertai henti latih
AR12M	Kelompok latihan 12 minggu
AR12MD	Kelompok latihan 12 minggu disertai henti latih
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor
Apo2L	Apo2 ligand
Apo3L	Apo3 ligand
BAX	Bcl2 associated X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma protein 2
Bid	BH-3-interacting domain death
CAD	<b>Caspase activated DNase</b>
CDC	Center for Disease Control
Caspase-8	CysteinyI aspartic acid-protease 8
CARDs.	caspases recruitment domain
c-FLIP	FLICE-inhibitory protein
CAT	catalase
DED	Death effector domain
DNA	Deoksi Rhibo Nucleat Acid
DHS	Donor horse serum
DR3	Death receptor 3
DR5	Death receptor 5
EKG	Elektro kardiogram
FADD	Fas associated death domain
Fas-L	Fatty acid synthetase ligand
FasR	Fatty acid synthetase receptor
Fas-DISC	Fas inducing signal
GPx	glutation peroksidase
HSP72	Heat shock protein 72
HSP 90	Heat shock protein 90
HtrA2/Omi	High temperature requirement
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	hidrogen peroksida
IAP	inhibitor of apoptosis protein)
ICAD	Inhibitor of <b>Caspase activated DNase</b>
IGF 1	Insulin Growth Factor 1
IHK	Imunohistokimia
JNK	c-jun N-terminal kinase
K4M	Kelompok Kontrol 4 minggu
K12M	Kelompok Kontrol 12 minggu
K16 M	Kelompok Kontrol 16 mingg
K4MD	Kelompok Kontrol 8 minggu

MAPK <sub>s</sub>	Mitogen activated protein kinase
MDA	Malonil Dehyda
MEK1	MAPK- ERK-kinase 1
NF- κB	Nuclear factor kappa B
MnSOD	Mn isoform of superoxide
Nrf2	Nuclear eritroid 2 p 45 related factor 2
NO	Nitric oxide
PBS	Phosphate buffer saline
RIP	Receptor interacting protein
ROS	Reactive oxygen species
SADS	small accelerator for death signaling)
SKJ	senam kebugaran jasmani
Smac/DIABLO	Second mitochondrial activator of caspase/Direct IAP binding protein with low PI
SOD	superoksida dismutase
TNF	tumor necrosis factor
TNF-α	Tumor necrosis factor alpha
TNFR1	Tumor necrosis factor receptor 1
TRADD	TNF receptor-associated death domain
VDAC	voltage-dependent anion channel



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Latihan fisik memiliki banyak manfaat bagi kesehatan. Namun banyak orang yang masih enggan melakukannya karena berbagai alasan, terlebih dengan pola hidup *sedentary* seperti di kota besar saat ini. Dari beberapa jenis latihan fisik, latihan fisik aerobik merupakan latihan yang paling dianjurkan. Latihan aerobik terutama bermanfaat untuk meningkatkan dan mempertahankan kesehatan kardiorespirasi dan paling efektif untuk mengurangi kegemukan.<sup>1</sup> Latihan fisik aerobik diyakini efektif dalam mencegah dan bahkan sebagai terapi rehabilitasi pada penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner, hipertensi dan gagal jantung. Kesehatan kardiovaskular menjadi topik yang sangat penting untuk diangkat mengingat kejadian penyakit kardiovaskular sampai saat ini masih merupakan penyebab kematian nomor satu di dunia.<sup>2</sup> Pada tahun 2030, WHO memperkirakan akan terjadi 23,6 juta kematian karena penyakit jantung dan pembuluh darah. Asia Tenggara juga diprediksi merupakan daerah yang mengalami peningkatan tajam angka kematian akibat penyakit jantung dan pembuluh darah.

Latihan fisik aerobik yang dilakukan secara teratur dan benar dapat meningkatkan kapasitas pertahanan antioksidan yang dapat menangkal pengaruh buruk *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat radikal sehingga mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal.<sup>3,4,5</sup> *Reactive oxygen species* (ROS) dapat menginduksi kematian sel yang disebut apoptosis atau yang sering disebut sebagai “kematian sel terprogram”.<sup>6,7</sup> *Reactive oxygen species* (ROS) menginduksi apoptosis terutama melalui modulasi jalur apoptosis yang dimediasi oleh mitokondria. Tingginya tingkat stress oksidatif akan membuat homeostasis membran mitokondria tidak stabil dan menginduksi pembentukan pori-pori permeabel pada membran mitokondria dan melepaskan faktor pro-apoptosis.<sup>8</sup>

Apoptosis merupakan suatu proses fisiologis, namun jika proses apoptosis ini terjadi berlebihan pada suatu jaringan atau organ, maka akan menyebabkan

disfungsi dan penyakit. Begitupun pada sel otot jantung (kardiomiosit), penurunan jumlah kardiomiosit dalam jumlah yang bermakna diyakini berkontribusi secara langsung terhadap gangguan fungsi kontraktil, kardiomiopati, penyakit jantung dan gagal jantung.<sup>10</sup>

Pada beberapa tahun terakhir, beberapa studi sudah mempublikasi bahwa apoptosis, terjadi pada beberapa keadaan jantung patologis seperti pada keadaan kerusakan “iskemia-reperfusi”, infark miokardium, dan gagal jantung.<sup>7</sup>

Siu dkk (2004) memperlihatkan bahwa protein Mangan superoksida dismutase (Mn-SOD) yang merupakan antioksidan endogen meningkat (64% di soleus dan 39% di otot ventrikel) pada hewan yang diberi latihan fisik *endurance* selama 8 minggu dengan kecepatan 28 m/menit selama 55 menit.<sup>8</sup> Selain itu didapatkan Mn-SOD berkorelasi negatif dengan aktivitas caspase-3 dan index apoptosis. Meskipun bukan suatu hubungan sebab akibat, observasi ini menunjukkan bahwa redaman apoptosis pada sel otot jantung setelah latihan fisik berhubungan dengan peningkatan kapasitas antioksidan pada otot dan memodulasi tingkat stress oksidatif yang dihasilkan dari latihan fisik.<sup>8</sup> Kwak dkk (2006) membuktikan pada tikus yang diberikan latihan fisik selama 12 minggu dengan kecepatan 20 m/menit selama 55 menit dapat menurunkan apoptosis ventrikel kiri jantung tikus yang diinduksi oleh penuaan (usia).<sup>9</sup>

Telah banyak penelitian yang membuktikan manfaat latihan fisik aerobik terhadap peningkatan antioksidan endogen, namun masih sedikit penelitian yang menghubungkannya dengan profil apoptosis sel, terutama pada sel kardiomiosit. Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk mengetahui pengaruh latihan fisik aerobik yang dilakukan pada kecepatan 20 m/menit selama 20 menit baik dalam jangka waktu pendek (4minggu) dan latihan fisik jangka panjang (12 minggu) .

Selain bahwa program latihan fisik aerobik dapat menurunkan apoptosis kardiomiosit, yang juga menjadi perhatian peneliti adalah apa yang akan terjadi jika dilakukan satu periode henti latih. henti latih (*detraining*) adalah penurunan keseluruhan atau sebagian adaptasi organ sistem (dari aspek anatomi dan fisiologi) oleh karena latihan fisik., yang terjadi setelah suatu periode istirahat. Apakah apoptosis kardiomiosit setelah periode henti latih akan menetap, kembali seperti pada keadaan tidak latihan fisik atau bahkan meningkat jika dibandingkan

dengan keadaan pasca latihan. Keingintahuan mengenai pengaruh henti latih didasari pada fenomena dimana pada atlet olahraga, setelah atlet tersebut tidak lagi aktif justru mengalami kelainan jantung.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Saat ini, kita berada pada tahap dimana sudah cukup bukti bahwa apoptosis berhubungan dengan keadaan jantung patologis. Latihan fisik aerobik yang merupakan latihan yang paling dianjurkan bermanfaat untuk kesehatan kardiorespirasi, dan juga dalam hal menurunkan apoptosis kardiomyosit. Selain itu, waktu latihan juga berpengaruh pada apoptosis kardiomyosit. Pada penelitian ini, latihan aerobik dengan kecepatan 20m/menit selama 20 menit, dengan istirahat selama 90 detik setiap 5 menit selama 4 minggu dan 12 minggu, apakah dapat menurunkan apoptosis kardiomyosit? Selain itu, oleh karena penelitian mengenai pengaruh henti-latih setelah latihan fisik terhadap apoptosis kardiomyosit masih sangat jarang, penelitian ini juga ingin mengetahui pengaruh henti-latih 4 minggu terhadap apoptosis kardiomyosit tikus.

## **1.3 Hipotesis**

1. Terjadi penurunan apoptosis pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus yang telah diberi latihan aerobik selama 4 minggu dibandingkan kontrol.
2. Terjadi penurunan apoptosis pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus yang telah diberi latihan aerobik selama 12 minggu dibandingkan kontrol.
3. Terjadi peningkatan apoptosis pasca henti latih selama 4 minggu pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus yang telah dilatih aerobik selama 4 minggu.
4. Terjadi peningkatan apoptosis pasca henti latih selama 4 minggu pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus yang telah dilatih aerobik selama 12 minggu.

## **1.4 Tujuan Penelitian**

### **1.4.1 Tujuan Umum**

Mengetahui profil apoptosis pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus yang diberi latihan fisik aerobik dan pengaruh henti latih pada profil apoptosis tersebut.

### **1.4.2 Tujuan Khusus**

1. Mengukur ekspresi Caspase 3 pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus yang diberi latihan fisik aerobik selama 4 dan 12 minggu.
2. Mengetahui pengaruh henti latih selama 4 minggu terhadap ekspresi Caspase 3 pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus yang diberi latihan fisik aerobik 4 dan 12 minggu.

## **1.5 Manfaat Penelitian**

### **1.5.1 Untuk Institusi**

Institusi pendidikan diharapkan dapat membuat suatu kebijakan untuk memfasilitasi kegiatan latihan fisik dalam rangka meningkatkan kesehatan.

### **1.5.2 Untuk Peneliti Lain**

Membuka kesempatan penelitian lanjutan baik pada tingkat biologi molekuler maupun untuk aplikasi klinis terkait dengan latihan fisik dan jantung.

### **1.5.3 Untuk Keilmuan**

Memberikan data tambahan mengenai keadaan molekuler kardiomiosit, khususnya ekspresi caspase 3 pada kardiomiosit.

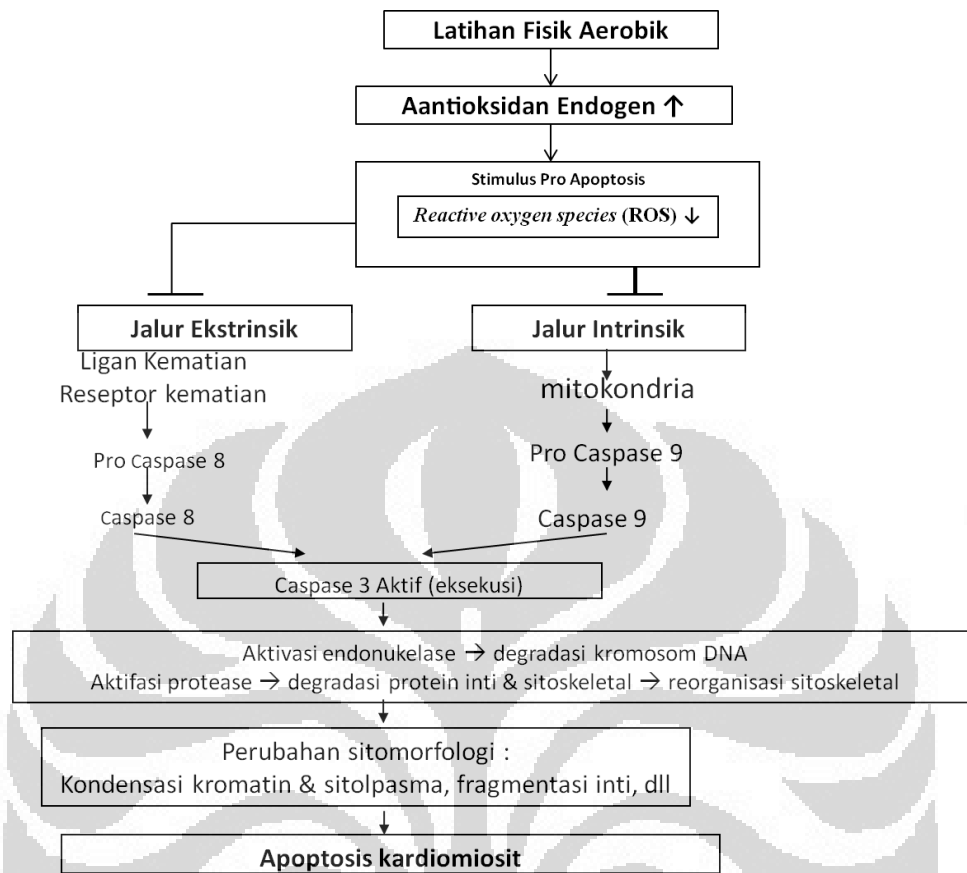
### **1.5.4 Untuk Praktisi Kesehatan**

Memberikan pengetahuan tentang pengaruh latihan fisik aerobik terhadap jantung, khususnya profil apoptosis pada kardiomiosit.

### **1.5.5 Untuk Peneliti**

Penelitian ini merupakan sarana untuk meningkatkan kemampuan analisis mengenai pengaruh latihan fisik terhadap keadaan kardiomiosit jantung.

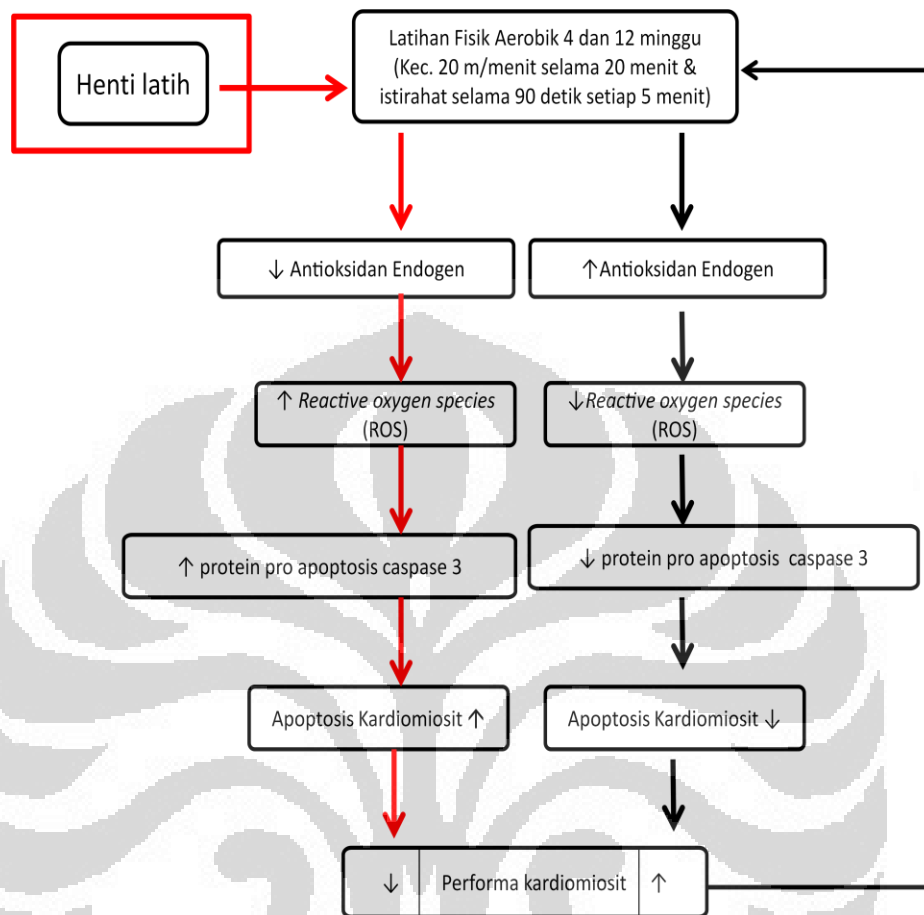
## 1.6 Kerangka Teori



Keterangan :

—| = proses tidak terjadi atau dihambat

## 1.7 Kerangka Konsep



Keterangan :

→ : perlakuan latihan fisik tanpa periode henti-latih

→ : perlakuan latihan fisik dengan henti-latih

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 LATIHAN FISIK**

Sebelum memulai pengkajian lebih dalam, mengingat terdapat kerancuan pada beberapa istilah yang berkaitan, maka perlu didefinisikan secara jelas untuk menyamakan persepsi. Beberapa istilah tersebut adalah aktivitas fisik, latihan dan Olahraga.

Aktivitas fisik adalah segala kegiatan atau aktivitas yang menyebabkan peningkatan penggunaan energi/kalori oleh tubuh. Beberapa contoh aktivitas fisik adalah menyapu, mencuci, mengangkat barang, menaiki tangga dan kegiatan lainnya.<sup>11</sup>

Latihan (*exercise*) merupakan serangkaian aktivitas fisik yang terstruktur dan berirama dengan intensitas tertentu dalam jangka waktu tertentu yang bertujuan untuk meningkatkan kebugaran jasmani. Contohnya adalah senam kebugaran jasmani (SKJ), senam aerobik, bersepeda dll.<sup>11</sup>

Olahraga (*sport*) merupakan serangkaian aktivitas fisik yang dilakukan secara terstruktur dengan berpedoman pada aturan – aturan atau kaidah – kaidah tertentu tetapi tidak terikat pada intensitas dan waktunya.<sup>11</sup> Definisi lainnya, olahraga adalah serangkaian gerak tubuh yang teratur dan terencana yang dilakukan dengan sadar untuk meningkatkan kemampuan fungsionalnya, sesuai dengan tujuannya melakukan olahraga.<sup>12</sup>

Istilah ‘olahraga’ dan ‘latihan fisik’ dalam makalah ini memiliki arti yang sama karena pengertian istilah latihan fisik dan olahraga dalam masyarakat tidak jauh berbeda.

#### **2.2 LATIHAN FISIK KESEHATAN**

Latihan fisik atau olahraga itu sendiri berdasarkan tujuannya dibagi menjadi latihan fisik prestasi, latihan fisik rekreasi, latihan fisik kesehatan dan latihan fisik pendidikan.<sup>12</sup>

Pada umumnya seseorang melakukan latihan fisik dengan tujuan untuk mendapatkan atau memelihara kesehatan baik sehat jasmani maupun rohani.

Sehat jasmani tidak hanya berarti bebas dari penyakit, namun berkaitan pula dengan kebugaran jasmani yaitu suatu keadaan ketika tubuh masih memiliki sisa tenaga untuk melakukan kegiatan – kegiatan ringan yang bersifat rekreasi atau hiburan setelah melakukan kegiatan /aktifitas fisik rutin.<sup>11</sup>

Latihan fisik kesehatan adalah suatu bentuk kegiatan latihan fisik untuk tujuan kesehatan. Latihan fisik yang bertujuan untuk kesehatan adalah suatu aktivitas gerak tubuh dengan intensitas yang setingkat di atas intensitas gerak tubuh yang biasa dilakukan untuk keperluan pelaksanaan kehidupan sehari – hari. Ciri khusus latihan fisik kesehatan ialah intensitasnya homogen dan submaksimal, tidak boleh melakukan gerakan – gerakan yang bersifat eksplosif maksimal dan emosional, oleh karena itu tidak boleh ada unsur kompetisi dalam pelaksanaannya.<sup>12</sup>

Sasaran utama dari latihan fisik kesehatan adalah memelihara kemampuan aerobik yang telah memadai atau meningkatkan kapasitas aerobik.<sup>12</sup>

Latihan fisik dapat mendatangkan manfaat berupa peningkatan kebugaran jasmani jika dilakukan secara teratur dan berkelanjutan (kronis). Latihan fisik yang dilakukan sesekali (akut) tidak akan mendatangkan manfaat. Latihan fisik dianggap teratur jika dilakukan secara berkala dalam seminggu, minimal 3 kali. latihan fisik yang dilakukan teratur sekali seminggu atau sekali sebulan apalagi sekali setahun tidak akan mendatangkan manfaat pada kebugaran jasmani.<sup>11</sup>

Latihan fisik dalam garis besar berdasarkan sumber energinya dapat dibagi menjadi dua yaitu latihan fisik anerobik dan aerobik. Latihan fisik aerobik adalah suatu latihan yang menggunakan energi yang berasal dari pembakaran dengan oksigen, latihan jenis ini membuat otot – otot tubuh yang besar bekerja, terutama otot tungkai. Dari beberapa jenis latihan fisik, latihan aerobik merupakan latihan yang paling dianjurkan. Latihan aerobik terutama bermanfaat untuk meningkatkan dan mempertahankan kebugaran, kesehatan kardiorespiratoar (jantung-paru-peredaran darah) dan paling efektif untuk mengurangi kegemukan.<sup>1</sup> Latihan jenis ini contohnya adalah berjalan, *jogging*, berenang, bersepeda, locat tali dan permainan dengan bola dan raket (seperti bulutangkis, basket, sepakbola dll).

Latihan fisik anaerobik adalah latihan yang menggunakan energi dari pembakaran tanpa oksigen. Contoh latihan anaerobik adalah lari cepat jarak pendek, angkat beban dan bersepeda cepat.<sup>1</sup>

Berdasarkan rekomendasi dari *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) dan *The American College of Sports Medicine* (ACSM), intensitas dalam berolahraga merupakan faktor penentu dalam mencegah terjadinya penyakit kardiovaskular. Klasifikasi intensitas olahraga yang dianjurkan oleh CDC dan ACSM dapat dilihat pada tabel dibawah ini.<sup>13</sup>

Tabel 2.1. Klasifikasi Intensitas Olahraga yang Dianjurkan Oleh CDC dan ACSM

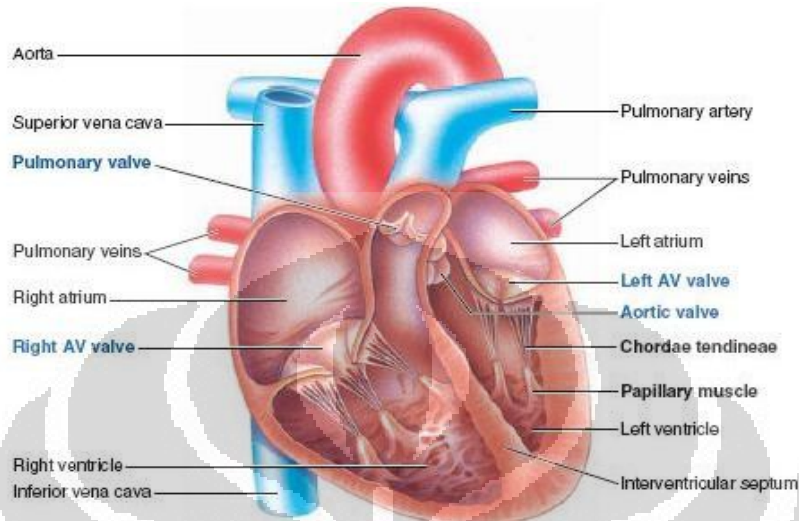
<b>Intensitas</b>	<b>%VO<sub>2</sub>Max</b>	<b>% Denyut Nadi Maksimal (DNM)</b>
<b>Sangat Ringan</b>	< 30	< 35
<b>Ringan</b>	30 – 49	35 – 59
<b>Sedang</b>	50 – 74	60 – 79
<b>Berat</b>	75 – 84	80 – 89
<b>Sangat Berat</b>	>85	> 90

### 2.3 VENTRIKEL KIRI JANTUNG

Latihan fisik dapat menyebabkan perubahan hemodinamik dan beban kerja pada jantung. Tubuh akan memberi respon terhadap perubahan yang terjadi ini, salah satunya adalah pada sistem kardiovaskular. Respon jangka pendek pada sistem kardiovaskular meliputi peningkatan tekanan darah, denyut jantung, isi sekuncup dan curah jantung melalui peningkatan rangsang simpatis pada saat latihan fisik.

Jantung tersusun dari kardiomiosit (sel otot), sel non-miosit (fibroblast, sel endothelial, sel mast, sel otot polos (vaskuler) dan matriks ekstraseluler. Meskipun secara anatomis jantung adalah organ tunggal namun sisi kanan dan kiri jantung berfungsi sebagai dua pompa terpisah. Jantung dibagi menjadi paruh kanan dan paruh kiri serta memiliki empat rongga, satu rongga atas dan satu rongga bawah di masing – masing paruh. Rongga – rongga atas, atrium menerima darah yang kembali ke jantung dan memindahkannya ke rongga bawah, ventrikel

yang memompa darah dari jantung. Pemisahan ini sangat penting karena separuh kanan jantung menerima dan memompa darah miskin oksigen, sementara sisi kiri jantung menerima dan memompa darah kaya oksigen.<sup>14</sup>



Gambar 2.1 Anatomi Jantung<sup>14</sup>

Ventrikel kiri harus menghasilkan tekanan yang cukup tinggi untuk mengatasi tahanan sirkulasi sistemik, dan mempertahankan aliran darah ke jaringan-jaringan perifer. Ventrikel kiri mempunyai otot-otot yang tebal dan bentuknya yang menyerupai lingkaran, mempermudah pembentukan tekanan yang tinggi selama ventrikel berkontraksi. Bahkan sekat pembatas kedua ventrikel (septum interventrikularis) juga membantu memperkuat tekanan yang ditimbulkan oleh seluruh ventrikel pada kontraksi.<sup>14</sup>

Pada latihan fisik teratur jangka waktu lama, jantung dapat mengalami *remodeling* morfologi (yaitu penambahan geometri ventrikel kiri jantung, yang memompakan darah ke seluruh tubuh) guna meningkatkan kinerja jantung. Perubahan mendasar yang terjadi pada *remodeling* ventrikel jantung pada latihan fisik adalah hipertrofi jantung fisiologis, yaitu proses terjadinya peningkatan massa sel otot yang disebabkan oleh peningkatan ukuran kardiomyosit.

Perubahan yang terjadi pada struktur jantung ini meningkatkan crah jantung, guna memenuhi kebutuhan peningkatan volume darah pada saat latihan fisik.

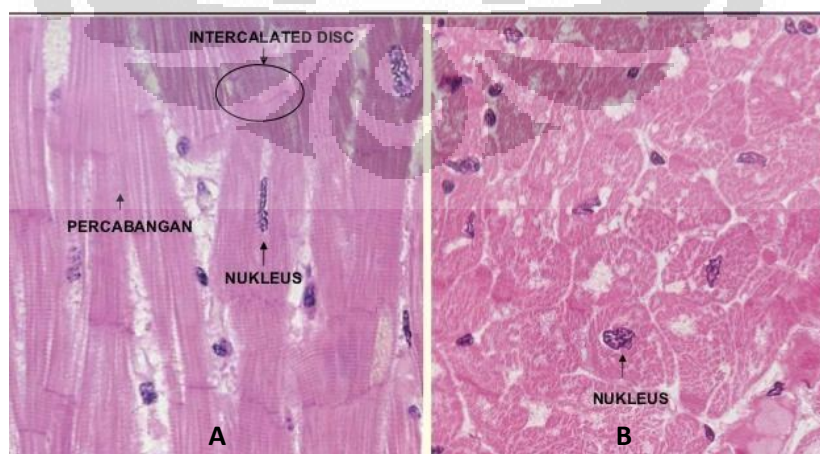
## 2.4 OTOT JANTUNG

Otot jantung adalah organ muskuler yang berkontraksi secara ritmik dan memompa darah dalam sistem sirkulasi. Jantung tersusun atas kompartemen seluler dan ekstraseluler. Komponen seluler jantung terdiri atas kardiomyosit, sel interstitial termasuk sel endotel kapiler, fibroblas, sel monosit dan sel vaskuler dari arteri dan vena koronaria.

Secara histologi otot jantung merupakan jaringan otot yang khusus, serat-serat otot jantung yang tersusun seperti suatu kisi – kisi seratnya terpisah, kemudian bergabung kembali dan menyebar kembali. Otot jantung bergaris-garis dengan pola yang sama dengan otot rangka. Otot jantung mempunyai miofibril-miofibril yang mengandung filamen aktin dan miosin, filamen-filamen ini saling bertautan dan saling menyisip terhadap satu dengan yang lainnya.<sup>15</sup>

Serat otot jantung terdiri dari sel-sel otot jantung yang saling berhubungan. Setiap sel otot jantung dipisahkan oleh suatu membran sel yang disebut diskus interkalaris. Di dalam diskus interkalaris terdapat dua struktur yaitu desmosom dan *gap junction*.

Dibawah mikroskop otot jantung memiliki pola bergaris-melintang serupa dengan otot rangka namun serat-seratnya bercabang dan saling berhubungan dengan serat didekatnya. Sarkoplasmanya lebih banyak dan corak garis memanjang lebih jelas karena berkas – berkas miofibril dipisahkan oleh deretan mitokondria. Miofibril menghindari inti di pusat, memetakan daerah aksial fusiform yang kaya organel<sup>15</sup>.



Gambar 2.2 Histologi Otot Jantung. A.Potongan Memanjang. B.Potongan Melintang<sup>15</sup>

## 2.5 APOPTOSIS

Apoptosis atau kematian sel terprogram berasal dari bahasa Yunani yang berarti gugur (*falling off*). Terminologi apoptosis disampaikan pertama kali oleh Kerr pada tahun 1972 untuk menggambarkan perbedaan morfologi dari sel yang mati, meskipun konsep kematian sel ini sebenarnya telah dibicarakan beberapa tahun sebelumnya.<sup>16</sup>

Apoptosis yang dikenal dengan istilah “kematian sel terprogram” merupakan suatu proses kematian sel yang terjadi pada sel tunggal secara terencana yang ditandai dengan gambaran morfologi, biokimiawi dan kejadian molekular yang khas, sebagai akibat dari inisiasi oleh stimuli fisiologis maupun patologis tanpa menimbulkan reaksi radang.<sup>17</sup> Apoptosis merupakan proses yang terkoordinasi dan aktif yang memerlukan energi karena prosesnya terjadi oleh sel sendiri hingga mengakibatkan kematian sel. Proses apoptosis melibatkan aktivasi grup protease sistein yang disebut “caspase” dan kaskade yang kompleks yang dimulai dari pemicu awal sampai akhir kematian sel.<sup>16,17,18</sup>

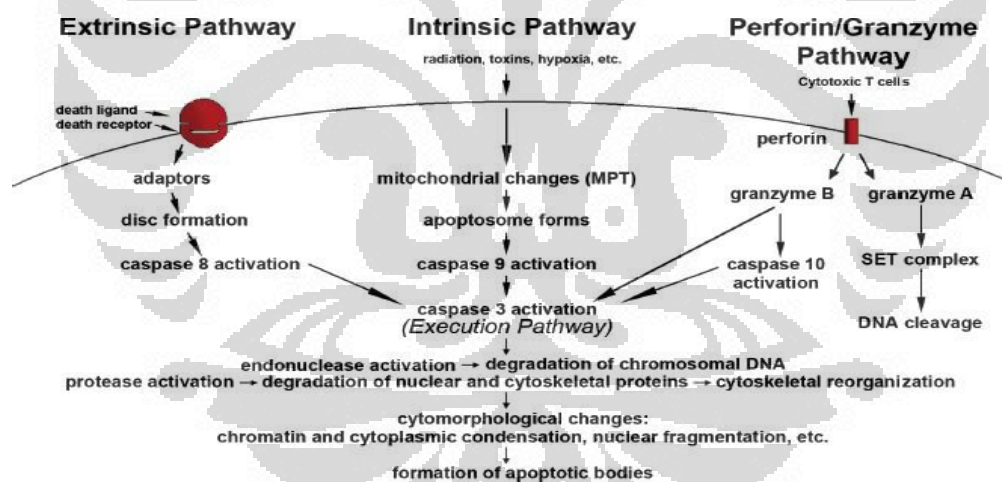
Apoptosis merupakan proses biologi yang mendasar dan kompleks yang memungkinkan suatu organisme untuk membunuh dan menyingkirkan sel-sel yang tidak diinginkannya atau yang berpotensi menjadi sel yang berbahaya. Apoptosis terjadi selama perkembangan dan penuaan organisme multiselular.

Apoptosis pada kondisi fisiologis merupakan mekanisme homeostasis untuk memelihara populasi sel dalam jaringan, selain itu apoptosis juga merupakan mekanisme pertahanan sebagai bagian dari reaksi imun atau ketika sel mengalami kerusakan oleh karena penyakit atau agen berbahaya.<sup>16</sup> Apoptosis berfungsi untuk mengatur jumlah sel, proliferasi dan menghilangkan sel yang sudah tidak berguna lagi sebagai suatu perkembangan normal dari sel, seperti pada embriogenesis, *hormone-dependent involution* pada siklus menstruasi dan atresia folikel pada menopause, delesi sel pada proliferasi sel epitel, eliminasi sel reaktif limfosit yang berlebihan, kematian sel yang diinduksi oleh sel T sitotoksik pada infeksi virus dan perkembangan tumor. Apoptosis juga terjadi pada kondisi patologi, dimana apoptosis bertanggung jawab pada kematian sel seperti stimulasi kerusakan eksternal pada radiasi, obat sitotoksik anti-kanker, infeksi virus, atrofi patologi pada parenkim organ setelah adanya obstruksi saluran, semisal pada

pankreas dan ginjal, juga kematian sel pada tumor. Disregulasi proses kematian sel ini mempunyai peranan pada patogenesis dari penyakit. Penilaian jumlah sel yang mengalami kematian karena apoptosis dinyatakan dalam indeks apoptosis.<sup>19</sup>

### 2.5.1 Mekanisme Apoptosis

Mekanisme apoptosis sangatlah kompleks dan rumit, melibatkan suatu kaskade molekuler yang bergantung energi. Apoptosis terjadi melalui 2 jalur utama yang dipicu oleh bermacam – macam faktor, baik faktor eksternal maupun internal.<sup>20</sup> Apoptosis yang dipicu oleh faktor internal disebut jalur intrinsik atau jalur mitokondria (*mitochondrial pathway*) sedangkan jalur yang dipicu faktor eksternal disebut jalur ekstrinsik atau jalur reseptor kematian (*death receptor pathway*).<sup>16</sup> Kedua jalur tersebut saling berhubungan dan molekul pada salah satu jalur dapat mempengaruhi jalur lainnya.<sup>21</sup>



Gambar 2.3. Tiga jalur apoptosis yaitu jalur ekstrinsik, jalur intrinsik dan jalur perforin/granzim (jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik merupakan jalur utama)<sup>16</sup>

Selain 2 jalur tersebut, terdapat satu jalur tambahan yang melibatkan sel T sitotoksik yang disebut jalur *perforin/Granzyme*. Jalur *Perforin/granzyme* dapat menginduksi apoptosis baik melalui *granzyme B* atau *granzyme A*. Jalur

ekstrinsik, intrinsik dan *granzyme* B bertemu di akhir yang sama atau disebut jalur eksekusi. Jalur eksekusi dimulai dengan aktivasi caspase 3 dan mengakibatkan fragmentasi DNA, degradasi sitoskeleton dan protein inti, *cross-linking* protein, pembentukan badan-badan apoptosis, ekspresi ligan untuk reseptor sel fagositik dan akhirnya terjadi fagositosis oleh sel fagosit. Sedangkan *granzyme* A dapat menyebabkan kematian sel tidak bergantung pada jalur caspase, namun melalui kerusakan DNA rantai tunggal.<sup>16</sup>

### 2.5.2 Jalur Ekstrinsik

Jalur sinyal ekstrinsik yang menginisiasi apoptosis melibatkan interaksi atau ikatan antara protein sinyal kematian ekstraselular dengan reseptor permukaan sel sasaran. Reseptor permukaan ini dikatakan sebagai reseptor kematian. Sinyal kematian ekstraselular contohnya seperti TNF- $\alpha$  dan Fas-Ligand (Fas-L).<sup>18</sup> Sedangkan reseptor kematian yang paling banyak adalah anggota superfamili dari gen reseptor *tumor necrosis factor* (TNF). Anggota dari famili reseptor TNF memiliki domain ekstraselular yang kaya sistein dan memiliki domain sitoplasmik sekitar 80 asam amino yang disebut “domain kematian” (“*death domain*”). Domain kematian ini menjalankan peran yang penting dalam mentransmisi sinyal kematian dari permukaan sel ke dalam jalur sinyal intraselular. Berikut adalah beberapa contoh gabungan interaksi ligan dan reseptor kematian, FasL/FasR, TNF- $\alpha$ /TNFR1, Apo3L/DR3, Apo2L/DR4 dan Apo2L/DR5. Tabel dibawah memperlihatkan protein – protein dari jalur ekstrinsik.<sup>16</sup>

Tabel 2.2: Protein – protein jalur ekstrinsik<sup>16</sup>

Singkatan	Nama protein
TNF- $\alpha$	Tumor necrosis factor alpha
TNFR1	Tumor necrosis factor receptor 1
FasL	Fatty acid synthetase ligand
FasR	Fatty acid synthetase receptor
Apo3L	Apo3 ligand
DR3	Death receptor 3
Apo2L	Apo2 ligand
DR4	Death receptor 4
DR5	Death receptor 5

FADD	Fas associated death domain
TRADD	TNF receptor-associated death domain
RIP	Receptor interacting protein
DED	Death effector domain
Caspase-8	Cysteinylnl aspartic acid-protease 8
c-FLIP	FLICE-inhibitory protein

Jalur ekstrinsik apoptosis dapat dijelaskan dengan model interaksi Fas/FasL dan TNF- $\alpha$ /TNFR1. Pada model ini terjadi ikatan antara reseptor dengan ligannya. Setelah berikatan dengan ligand yang sesuai, reseptor kematian (*death receptor*) membentuk kompleks homotrimerik, disusul dengan rekrutmen protein – protein adapter sitoplasmik yang merupakan death domain yang berikatan dengan reseptor tersebut. Dalam hal jalur FasL/FasR, death domain nya adalah FADD (*Fas associated death domain*), sedangkan jalur TNF/TNFR adapter protein yang terikat adalah TRADD (*TF receptor associated death domain*). FADD dan TRADD kemudian berikatan dengan pro caspase 8 melalui dimerisasi domain efektor kematian (*death effector domain*). Pada saat ini terbentuklah *death inducing signaling complex* (DISC) yang menyebabkan aktivasi autokatalitik pro caspase 8. Setelah caspase 8 diaktivasi, terjadi stimulasi fase eksekusi. Apoptosis yang dimediasi oleh reseptor kematian dapat dihambat oleh protein yang disebut c-FLIP yang mengikat FADD dan caspase 8 sehingga keduanya menjadi tidak efektif.<sup>16</sup>

### 2.5.3 Jalur Intrinsik

Jalur intrinsik yang mengawali apoptosis melibatkan sejumlah besar stimulus yang tidak dimediasi reseptor (*non-receptor-mediated*), yang menghasilkan sinyal intraseluler yang langsung beraksi dengan sasaran intrasel dan berkaitan erat dengan mitokondria. Pengontrolan dan pengaturan proses dalam jalur mitokondria dilakukan melalui keluarga protein Bcl-2, yang dapat bersifat sebagai protein pro-apoptosis (seperti protein Bax) atau sebagai protein anti-apoptosis (seperti protein Bcl-2).

Stimulus yang mengawali jalur intrinsik menghasilkan sinyal intrasel yang dapat berupa sinyal negatif atau sinyal positif. Sinyal negatif terjadi pada kondisi ketiadaan faktor pertumbuhan, sitokin atau hormon tertentu yang menyebabkan

kegagalan supresi program kematian, sehingga berakibat kematian, sedangkan sinyal positif diantaranya dihasilkan oleh radiasi, toksin, hipoksia, hipertermia, infeksi virus atau radikal bebas.

Stimulus pada jalur intrinsik menyebabkan perubahan pada pori membran mitokondria sehingga menjadi permeabel dan dilepaskannya 2 kelompok protein pro apoptosis ke dalam sitosol. Kelompok pertama terdiri atas sitokrom c, Smac/DIABLO dan serine protease HtrA2/Omi. Protein – protein ini mengaktifasi jalur mitokondria yang bergantung pada caspase. Sitokrom c mengikat Apaf-1 dan pro caspase 9 dan membentuk apoptosom. Smac/DIABLO dan HtrA2/Omi mempromosikan apoptosis dengan cara menghambat IAP (*inhibitor of apoptosis protein*). Kelompok kedua adalah AIF, endonuklease G dan CAD, yang dilepaskan pada saat sel akan mengalami (*committed*) apoptosis.

Tabel dibawah memperlihatkan sebagian dari protein – protein jalur intrinsik.<sup>16</sup>

Tabel 2.3: Protein – protein jalur intrinsik

Singkatan	Nama protein
Smac/DIABLO	Second mitochondrial activator of caspase/Direct IAP binding protein with low PI
HtrA2/Omi	High temperature requirement
IAP	Inhibitor of apoptosis protein
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor
Caspase – 9	CysteinyI aspartic acid protease 9
AIF	Apoptosis inducing factor
CAD	Caspase activates DNAase
Bcl-2	B-cell lymphoma protein 2
BAX	Bcl2 associated X protein
BID	BH3 interacting domain death against
BAD	Bcl2 antagonist of cell death
BIM	Bcl2 interacting protein BIM
PUMA	Bcl2 binding component 3
BIK	Bcl2 interacting killer

Gangguan internal sel akan menyebabkan Bax yang merupakan protein pro apoptosis melakukan penetrasi dalam membran mitokondria yang menyebabkan keluarnya sitokrom c. Sitokrom c dan Apaf-1 akan mengikat molekul caspase 9 dan membentuk kompleks yang disebut apoptosom. Kompleks

tersebut akan menginisiasi urutan aktivitas caspase sampai pada fagositosis sel tersebut. Selain terjadi pelepasan sitokrom c, ada mekanisme alternatif yang melibatkan pelepasan protein mitokondria lain yaitu *apoptosis-inducing factor* (AIF). AIF terbukti memiliki aktivitas proteolitik yang bisa dihambat oleh inhibitor caspase spektrum luas, tetapi tidak bisa dihambat oleh inhibitor spesifik untuk caspase 1 dan caspase 7.

Beberapa anggota famili Bcl-2 yang bersifat proapoptosis seperti Bax ditemukan dalam sel pada konsentrasi yang cukup untuk menyebabkan apoptosis. Meskipun demikian anggota famili Bcl-2 tersebut tidak bisa secara langsung menyebabkan apoptosis, sebab aktivitasnya dikontrol dalam bentuk laten. Protein Bax dan BH-3-*interacting domain death* (Bid) ditemukan dalam sitoplasma sel hidup. Adanya sinyal letal yang diterima akan menyebabkan Bax mengalami perubahan konformasi dan bergerak menuju sitosol. Setelah dipecah oleh caspase 8, Bid bergerak menuju mitokondria dan menyebabkan pelepasan sitokrom c. Dengan cara yang sama, Bax tampaknya mengalami perubahan konformasi bentuk inaktif menjadi aktif. Mekanisme seluler inilah yang bertanggung jawab terhadap pengaturan aktivitas famili gen Bcl-2 dalam mengontrol apoptosis.<sup>16</sup>

#### **2.5.4 Fase Apoptosis dan Molekul – Molekul yang Terlibat**

Proses apoptosis dapat dibagi dalam tiga fase, yaitu fase inisiasi atau induksi heterogen yang bergantung pada stimulus, fase efektor atau komitmen pada saat mana diambil keputusan untuk “bunuh diri”, dan fase degradasi atau eksekusi dimana sel – sel bersangkutan memperlihatkan gambaran biokimia dan morfologi apoptosis.<sup>21</sup>

##### **1. Fase induksi atau inisiasi**

Selama fase induksi sel menerima stimulus yang menginduksi kematian, kehilangan faktor – faktor yang menunjang ketahanan hidup, kekurangan suplai untuk metabolisme dan terjadi pengikatan reseptor yang meneruskan sinyal kematian, misalnya pengikatan Fas/FasL, TNF/TNFR dan lain-lain reaksi kimia yang berperan dalam fase induksi ini sangat heterogen bergantung pada seberapa mematakannya (*lethal*) stimulus yang diterimanya.

## 2. Fase Efektor

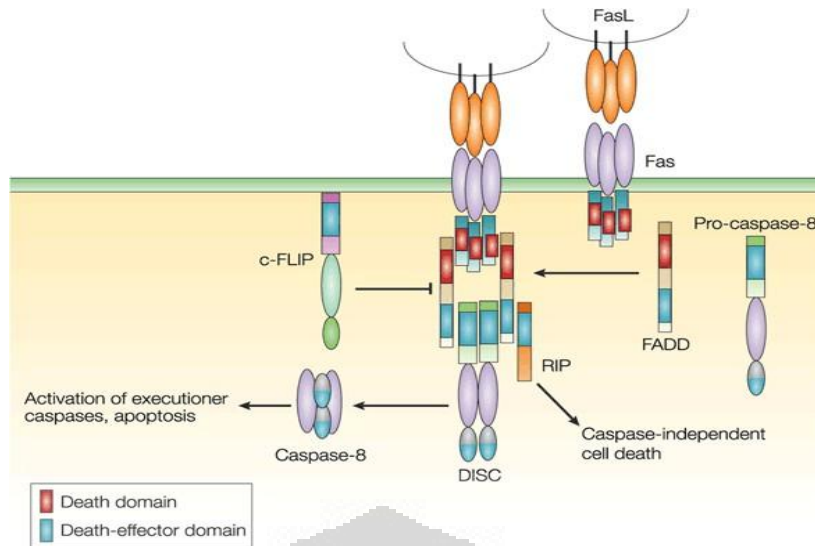
Pada fase berikutnya, yaitu fase efektor, proses inisiasi dilanjutkan dengan reaksi metabolik dengan pola yang lebih teratur, dan sel mengambil keputusan atau komitmen untuk “bunuh diri”.

## 3. Fase Degradasi atau eksekusi

Pada fase ini terjadi peningkatan berbagai aktivitas, termasuk peningkatan aktivasi enzim – enzim katabolik dan produksi *reactive oxygen species* (ROS). Pada fase ini perubahan morfologi dan biokimiawi sel, di antaranya fragmentasi DNA, degradasi berbagai jenis protein dan lain – lain menjadi lebih jelas. Semua sel mengalami apoptosis menurut pola tertentu dan mengandung inhibitor sintesis protein cycloheximide, yang menunjukkan bahwa sel –sel tersebut mengekspresikan semua komponen protein yang diperlukan untuk meng-eksekusi kematian sel.

### Faktor – Faktor Yang Berperan Pada Fase Inisiasi

Berbagai stimulus dapat mengawali fase inisiasi melalui aktivitas berbagai reseptor transmembran. Contoh khas dari stimulus ini adalah pengikatan Fas (CD95) yang merupakan protein homotrimerik dengan FasL, TNF- $\alpha$  dengan TNFR dan beberapa yang lain. Pada pengikatan Fas/FasL terjadi oligomerisasi dari reseptor yang mengakibatkan bagian intraselular dari CD95 menggumpal dan dikenal dengan sebutan “*death domain*”. Protein lain yang kemudian direkrut dari sitoplasma dan berfungsi juga sebagai “*death domain*” adalah FADD (*Fas associated death domain*). FADD merupakan molekul adaptor yang berperan merekrut caspase. Untuk mempermudah proses ini molekul FADD mengandung pengikat yang disebut DED (*death effector domain*) yang juga dimiliki oleh procaspase 8, sehingga keduanya dapat saling berikatan.<sup>16</sup>



Gambar 2.4 Jalur sinyal apoptosis melalui CD95 (Fas)<sup>22</sup>

Fas (CD95, suatu reseptor pada permukaan sel yang berikatan dengan FasL (CD95L) merupakan awal dari sinyal apoptosis. Pada gambar di atas tampak bahwa sekuen asam amino yang merupakan unsur – unsur “death domain” , FADD dan procaspase 8 saling berikatan untuk menginduksi fase efektor. Pengikatan CD95 pada FADD terjadi akibat interaksi homotipik antara “death domain” kedua protein. Faktor – faktor lain yang berperan pada inisiasi apoptosis adalah reseptor TNF (TNFR), CD27, CD30, CD40, DR3, DR4 dan DR5. Seperti halnya molekul CD95, molekul TNFR1, DR3, DR4 dan DR5 juga memiliki “death domain”. Beberapa penelitian terakhir mengungkapkan bahwa pada saat berlangsung sinyal apoptosis melalui Fas, yang pertama terbentuk adalah Fas-DISC (*Fas inducing signal*). Salah satu komponen Fas-DISC adalah SADS (*small accelerator for death signaling*) yang fungsinya meningkatkan interaksi antara FADD dengan procaspase 8. Hambatan terhadap SADS memperlambat apoptosis.<sup>16</sup>

### Faktor Yang Berperan Pada Fase Efektor

Terdapat berbagai bukti bahwa pengendalian apoptosis dihubungkan dengan gen yang mengatur siklus sel, termasuk di antaranya gen p53, Rb, myc dan lain – lain. Di lain pihak berbagai jenis gen berfungsi sebagai penghambat apoptosis, diantaranya keluarga bcl-2. Gen Bcl-2 sejak lama dikenal sebagai inhibitor apoptosis. Keluarga protein *B cell/lymphoma-2* (Bcl-2) ini termasuk

keluarga gen yang anggota keluarganya semakin lama semakin bertambah, beberapa anggota keluarga gen ini bersifat menghambat apoptosis tetapi beberapa anggota keluarga yang lain ternyata bersifat memudahkan apoptosis.

Anggota famili protein Bcl-2 dapat dibedakan menjadi 3 subkelompok<sup>17</sup> :

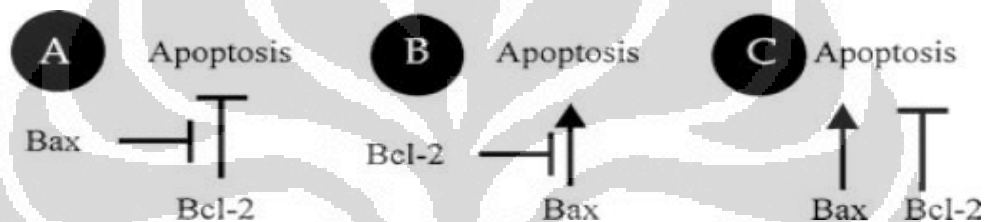
1. Subkelompok pertama bersifat anti-apoptosis terdiri dari Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w, Mcl-1, A1/Bfl 1, Boo/DIVA dan Nrf3. Protein subkelompok ini mencegah kematian sel dengan mengikat anggota famili Bcl-2 dari subkelompok yang lain.
2. Subkelompok kedua bersifat proapoptosis terdiri dari Bax, Bak dan Bok/Mtd. Aktivitas dari anggota subkelompok ini dapat menstimulasi pelepasan sitokrom- c dari membran mitokondria.
3. Subkelompok ketiga yang bersifat pro apoptosis, terdiri dari Bid, Bad, Bim, Bik/Nbk Blk, Hrk, Bnip3, Nix, Noxa, dan Puma. Protein subkelompok ini mendorong kematian sel sebagai protein adaptor yang terikat pada jalur *upstream* untuk memutuskan berlangsungnya program apoptosis.

Protein – protein dari famili Bcl-2 yang bersifat pro-apoptosis seperti Bax bertranslokasi ke membran mitokondria dan memodulasi apoptosis dengan menimbulkan permeabilitas membran dalam dan membran luar mitokondria sehingga berakibat lepasnya sitokrom-c. Sebagian besar protein famili Bcl-2 mampu berinteraksi secara fisik, membentuk homodimer/heterodimer, dan berfungsi mengatur apoptosis. Selain itu Bcl-xl mengikat dan menginaktivasi Apaf-1, sementara anggota – anggota yang pro apoptosis dapat menggeser Bcl-xl dari ikatannya dengan Apaf-1 yang memungkinkannya mengaktivasi caspase 9.

Protein Bcl-2 (anti-apoptosis) dapat menghambat kerja Bax/Bak dengan membentuk heterodimer yang menginaktivasi mereka, dan juga dapat berikatan dengan *voltage-dependent anion channel* (VDAC) pada membran luar mitokondria dan menstabilkannya, sehingga mencegah permeabilitas membran luar mitokondria. Molekul – molekul anti apoptosis ini juga membentuk homodimer dan saluran – saluran ion kecil.

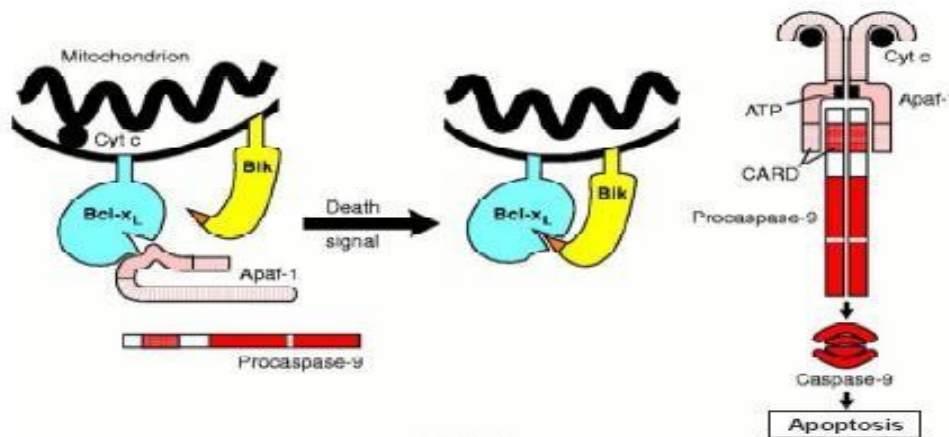
Regulasi apoptosis sangat tergantung dengan rasio antara Bcl-2 dan Bax untuk menentukan apakah sel akan bereaksi dengan menjadi apoptosis atau tetap bertahan hidup. Ada beberapa model untuk menggambarkan rasio pro survival (Bcl-2) dan pro apoptosis (Bax) dalam menghambat atau menyebabkan apoptosis.

Model pertama menyebutkan Bcl-2 menghambat apoptosis, dan Bax menghapus hambatan tersebut sehingga terjadi apoptosis. Model kedua menyebutkan bahwa Bax menginduksi apoptosis dan Bcl-2 menghambat induksi ini. Model ketiga yaitu model yang menyebutkan adanya saling ketergantungan. Bcl-2 menghambat apoptosis dan Bax menginduksinya. Apoptosis merupakan kombinasi ketiga model yang ada dan terjadi secara kompleks.<sup>23</sup>



Gambar 2.5. Model rasio Bcl-2 dan Bax dalam menyebabkan apoptosis.<sup>23</sup>

Protein Bcl-2 mencegah lepasnya sitokrom-c dari mitokondria dengan membentuk homodimer dan heterodimer dengan proapoptosis Bax. Ketidakseimbangan rasio Bax/Bcl-2 sehingga Bax berhasil membentuk homodimer akan menyebabkan lepasnya sitokrom c dari mitokondria. Selanjutnya sitokrom-c akan mengaktifkan Apaf-1. Untuk menjadi aktif Apaf-1 memerlukan dua ko-faktor yaitu ATP dan sitokrom-c. Sitokrom-c yang telah keluar dari ruang intermembran mitokondria masuk ke dalam sitoplasma, akan terikat dengan Apaf-1 yang selanjutnya akan menyebabkan kaskade caspase sampai terjadinya apoptosis.<sup>25</sup>



Gambar 2.6. Model pengaturan Apaf-1 oleh Bcl-X<sub>L</sub>.<sup>24</sup>

### Faktor Yang Berperan Pada Fase Degradasi Atau Eksekusi

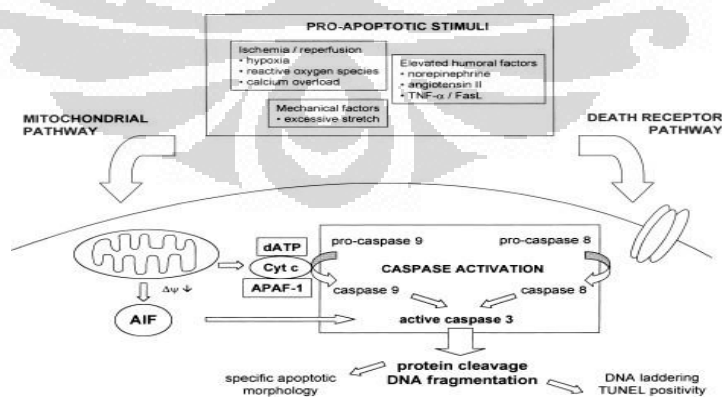
Fase terakhir dari apoptosis adalah eksekusi yang terjadi melalui aktivasi enzim caspase yang merupakan eksekutor utama dari apoptosis.<sup>21</sup> Caspase merupakan pusat mekanisme apoptosis yang mempunyai fungsi katalitik terhadap berbagai substrat. Caspase merupakan protease cysteine, selalu ada dalam sitosol sel normal dalam bentuk proenzim rantai tunggal (pro-caspase). Proenzim diaktivasi menjadi enzim protease yang berfungsi penuh melalui suatu proses *cleavage* pertama, yaitu proses dimana rantai tunggal proenzim itu menjadi beberapa sub-unit caspase berukuran besar dan kecil, dan *cleavage* kedua untuk menghilangkan domain N-terminal.<sup>16</sup>

Aktivasi caspase dapat terjadi melalui interaksi antar caspase satu dengan yang lain melalui suatu kaskade aktivasi, tetapi juga dapat terjadi akibat diaktivasi oleh protease lain misalnya granzyme B yang diintroduksi ke dalam sel oleh limfosit sitotoksik dan merangsang apoptosis melalui aktivasi caspase 3. Caspase dengan predomain pendek yang tidak memiliki kandungan protein interaksi (caspase 3, 6, 7) mungkin terutama diaktivasi melalui protease lain, dan caspase ini disebut caspase “down stream”, efektor atau eksekutor. Agregasi pro-caspase cukup untuk mengawali auto- atau *transprocessing* untuk menghasilkan caspase yang aktif. Agregasi pro-caspase terjadi melalui pengikatan molekul adaptor pada domain interaksi yang terdapat pada caspase, diantaranya yang merupakan *death receptor domain* (DEDs) dan *caspases recruitment domain* (CARDs).

Berdasarkan data kinetik, spesifisitas substrat dan struktur pro-caspase maka secara konseptual caspase dibedakan menjadi inisiator caspase dan efektor caspase. Inisiator caspase berperan mengaktifkan efektor caspase sebagai respon sinyal kematian sel yang spesifik. Inisiator caspase diaktivasi oleh oligomer sedangkan efektor caspase biasanya diaktivasi oleh protease lain yang hampir semuanya adalah inisiator caspase, maupun oleh protease lain melalui trans-aktivasi. Secara *in vitro* telah diketahui bahwa procaspase 3 dan procaspase 7 dapat diaktivasi oleh caspase 6, 8, 9, 10. Caspase 3, 6 dan 7 merupakan efektor caspase yang bersifat langsung maupun tidak langsung.

## 2.6 REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS) SEBAGAI PEMICU APOPTOSIS

Beberapa faktor yang dapat memicu apoptosis kardiomyosit adalah faktor mekanik seperti peregangan yang berlebihan, peningkatan konsentrasi kalsium di dalam sitosol dan atau meningkatnya konsentrasi neurohormonal seperti angiotensin II, norepinefrin dan peningkatan sitokin seperti TNF $\alpha$ . Faktor-faktor lain yang juga terlibat sebagai pemicu apoptosis kardiomyosit termasuk pembentukan radikal bebas oksigen (*reactive oxygen species*) dan paparan hipoksia.<sup>24</sup> Beberapa perubahan yang terjadi pada intraselular dan ekstraselular selama iskemia dan / atau reperfusi, seperti kelebihan NO yang merupakan radikal bebas terlibat dalam induksi apoptosis.<sup>26</sup>



Gambar 2.7. Faktor – faktor yang menginduksi apoptosis.<sup>7</sup>

*Reactive oxygen species* (ROS) dan mitokondria memiliki peran penting dalam menginduksi terjadinya apoptosis baik dalam kondisi fisiologis maupun patologis. Yang menarik adalah bahwa mitokondria menjadi sumber dan target dari ROS. Sitokrom-c dilepaskan dari mitokondria, yang memicu aktivasi caspase, tampaknya sebagian besar dimediasi oleh ROS baik secara langsung maupun tidak langsung.<sup>27</sup>

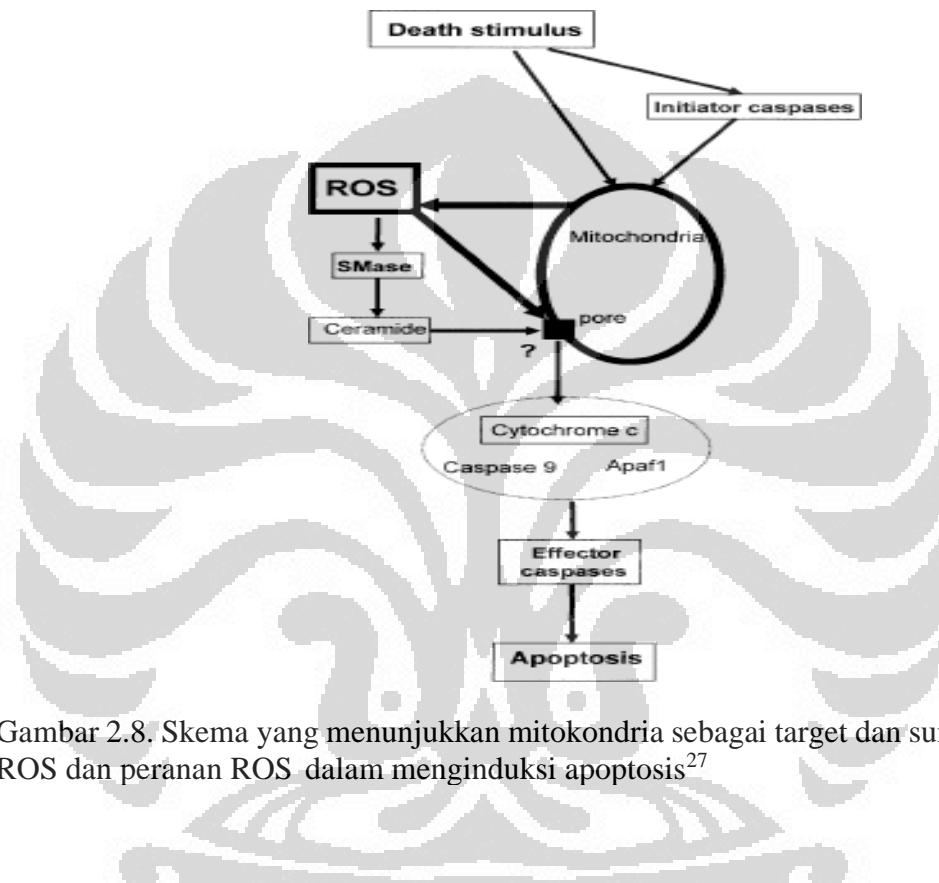
Reseptor dari famili *Tumor necrosis factor* (TNF) atau *nerve growth factor* (NGF) memperlihatkan fungsi pleiotrofi, mulai dari reseptor pertumbuhan sel dan berdiferensiasi menjadi reseptor kematian sel. Subset dari famili ini telah terbukti dapat menginduksi apoptosis melalui beberapa sistem dan oleh karena itu disebut reseptor kematian (*death receptor*). Reseptor TNF/NGF memiliki domain di sitoplasma yang disebut domain kematian (*death domain*) yang penting untuk menginduksi kematian sel melalui mekanisme yang bergantung caspase.<sup>27</sup>

Namun, mekanisme lain seperti pembentukan ROS tampaknya sama pentingnya dalam menginduksi apoptosis. Misalnya, suatu antioksidan N-acetylcystein dapat memblok TNF dalam beberapa sistem, menunjukkan peran fungsional ROS selama proses ini. ROS dapat menginduksi TNF yang memiliki peran dalam apoptosis. Selain itu, ROS pun dapat mengaktivasi reseptor Fas, yang juga termasuk kedalam famili reseptor TNF/NGF, menyebabkan terjadinya transduksi sinyal apoptosis, hal ini berdasarkan bukti bahwa antioksidan dapat menghambat reseptor Fas. Di samping dapat menginduksi apoptosis melalui aktivasi reseptor Fas, ROS juga dapat menginduksi apoptosis melalui gen reseptor dan ligan Fas (FasR/FasL).<sup>27</sup>

ROS dapat menyebabkan oksidasi pori mitokondria, yang menyebabkan terganggunya potensial membran mitondia, selanjutnya hal ini berkontribusi dalam pelepasan sitokrom-c. Menariknya, melalui mekanisme yang belum sepenuhnya dimengerti mitokondria sendiri dapat melepaskan ROS. ROS tersebut dapat secara langsung ataupun tidak langsung (melalui pembentukan ceramide) meningkatkan pori-pori mitokondria. Hal ini memperlihatkan bahwa mitokondria menjadi target sekaligus sumber dari ROS.

*Nitric oxide* (NO) telah terbukti dapat menginduksi apoptosis di berbagai sistem sel seperti sel epitel, sel mesangial dan sel endotel. Mekanisme apoptosis

yang diinduksi NO tidak sepenuhnya diketahui. Walau beberapa peneliti mengamati adanya peningkatan ekspresi reseptor Fas, sedangkan peneliti yang lainnya memberikan pemikiran bahwa perubahan permeabilitas mitokondria akibat peningkatan ROS merupakan mekanisme. Fakta bahwa NO yang dapat memicu apoptosis dihambat oleh Bcl-2, memperlihatkan bahwa mitokondria memang merupakan target utama dari NO.<sup>27</sup>



Gambar 2.8. Skema yang menunjukkan mitokondria sebagai target dan sumber ROS dan peranan ROS dalam menginduksi apoptosis<sup>27</sup>

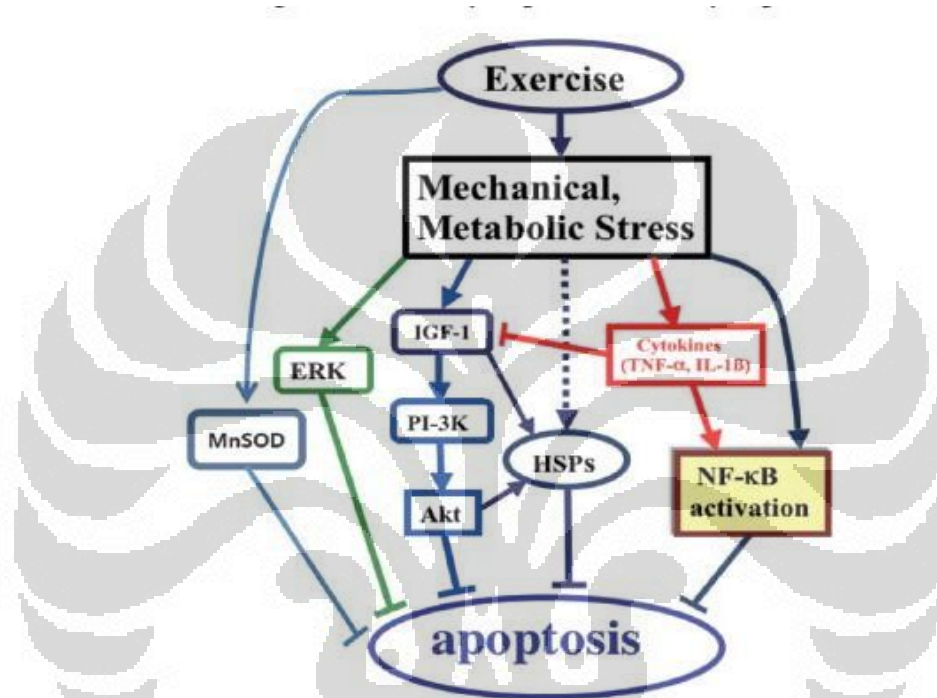
## 2.7 PENGARUH LATIHAN FISIK DALAM MENURUNKAN APOPTOSIS KARDIOMIOSIT

Latihan fisik dapat menurunkan resiko kerusakan, stress oksidatif dan sinyal inflamasi dari faktor mekanik dan gangguan oksidan, selama latihan fisik tersebut tidak sampai terjadi *overtraining*.<sup>26</sup> Latihan fisik juga dapat meningkatkan kapasitas kardiovaskular dan menurunkan faktor resiko penyakit kardiovaskular baik pada dewasa muda maupun orang tua.<sup>10</sup>

Latihan fisik berpotensi menurunkan apoptosis melalui peningkatan protein protektif stress (*protectie stress-sensitive protein*), termasuk di dalamnya

*nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B), *insulin-like growth factor* (IGF-1) dan *heat shock protein* (HSP90 dan HSP70).<sup>8,10</sup>

Berdasarkan penemuan terbaru, latihan fisik dapat mendorong terbentuknya protein – protein yang berperan dalam mempertahankan kelangsungan hidup sel seperti Mn *isoform of superoxide* (MnSOD), NF- $\kappa$ B, *extracelullar receptor kinase* (ERK), IGF-1/Akt pathway dan *heat stress protein* (HSPs) di jantung.<sup>8,10,28</sup>



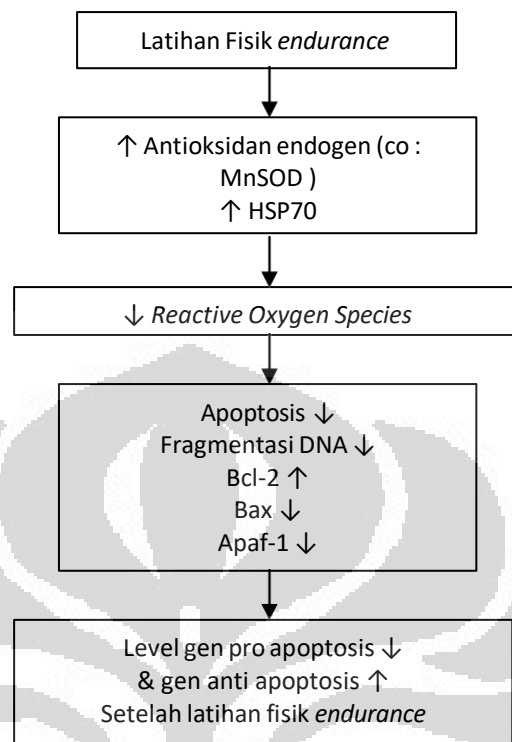
Gambar 2.9. Model skema peran latihan fisik dalam menghambat apoptosis<sup>10</sup>

Pada sebuah penelitian oleh Siu dkk (2004) dilaporkan bahwa dengan latihan fisik intensitas sedang yang teratur dapat mempengaruhi apoptosis pada kardiomyosit tikus muda. Terdapat korelasi positif antara level protein HSP70 dan level protein/mRNA Bcl-2. Sedangkan antara HSP70 dan level mRNA Bax terdapat korelasi yang sebaliknya. Pada penelitian tersebut juga ditemukan bahwa protein Mn-SOD berkorelasi positif dengan transkripsi Bcl-2 dan protein HSP70, sedangkan dengan indeks apoptosis dan aktivitas caspase-3 terdapat korelasi negatif. Dari data tersebut terlihat bahwa HSP70 dan Mn-SOD berperan dalam memodulasi homeostasis faktor apoptosis pada kardiomyosit.<sup>8</sup>

Berkaitan dengan apoptosis, terbukti latihan fisik dapat menurunkan fragmentasi DNA, meningkatkan protein dan level transkripsi dari Bcl-2, menurunkan level protein apaf pada kardiomyosit tikus yang diberi latihan fisik dibandingkan dengan tikus yang tidak diberi perlakuan latihan fisik. Dari data yang didapatkan mengindikasikan bahwa latihan fisik intensitas sedang berhubungan dengan perubahan taraf gen anti apoptosis dan menurunkan taraf gen pro apoptosis pada kardiomyosit post mitosis.<sup>8</sup>

*Reactive oxygen species* mempengaruhi apoptosis terutama melalui modulasi jalur mitokondria (jalur instrinsik). Terdapat suatu hipotesis bahwa tingginya tingkat stress oksidatif dapat mengganggu kestabilan homeostasis membran mitokondria dan menginduksi pembentukan pori mitokondria yang permeabel sehingga melepaskan faktor pro apoptosis (contohnya sitokrom c). Protein famili Bcl-2 bertanggung jawab terhadap modulasi pembentukan pori permeabel membran mitokondria, dan karenanya meregulasi apoptosis melalui jalur mitokondria (jalur intrinsik). Pada penelitiannya tersebut memperlihatkan bahwa pada sampel otot tikus yang diberikan latihan fisik *endurance* selama delapan minggu, protein Bcl-2 yang merupakan produk gen anti apoptosis meningkat sedangkan protein Bax yang merupakan produk gen pro apoptosis menurun.<sup>8</sup>

Beberapa antioksidan endogen yang sangat penting adalah sebagai berikut, Cu/Zn-SOD, katalase, glutathion peroksidase, glutathion reduktase dan Mn-SOD. Dalam penelitian Siu dkk, mereka memperlihatkan setelah diberikan latihan fisik *endurance* selama 8 minggu, antioksidan endogen Mn-SOD meningkat pada hewan tersebut dibandingkan kontrol. Mereka pun memperlihatkan bahwa Mn-SOD berkorelasi negatif terhadap indeks apoptosis dan aktivitas caspase-3 dan berkorelasi positif dengan aktivitas transkripsi Bcl-2 dan HSP-70. Bukti-bukti tersebut mengindikasikan bahwa penurunan apoptosis pada kardiomyosit secara potensial berhubungan dengan peningkatan kapasitas antioksidan dan modulasi tingkat stress oksidatif yang disebabkan oleh latihan fisik.<sup>8</sup>



Bagan 2.1. Gen anti-apoptosis meningkat dan pro apoptosis menurun setelah latihan fisik *endurance*<sup>8</sup>

Selain melalui peningkatan ekspresi antioksidan endogen dan protein HSP70, peran latihan fisik dalam menurunkan apoptosis juga dapat melalui perubahan ekspresi dari beberapa protein – protein yang terlibat dalam apoptosis baik protein pro apoptosis maupun protein anti apoptosis. Latihan fisik dapat meningkatkan ekspresi protein anti apoptosis seperti Bcl-2 dan menurunkan protein – protein pro apoptosis seperti Bax, caspase, Apaf-1. Latihan fisik juga dapat menurunkan ekspresi dari ligan – ligan kematian (*death ligand*) seperti Fas-L dan TNF- $\alpha$  dan juga reseptor kematian seperti TNF reseptor.

Dikatakan bahwa HSP70 dapat menghambat aktivitas Bax, AIF, Apaf-1 dan reseptor kematian, seperti reseptor TNF dan reseptor Fas.

## 2.8 LATIHAN FISIK MENINGKATKAN ANTIOKSIDAN ENDOGEN

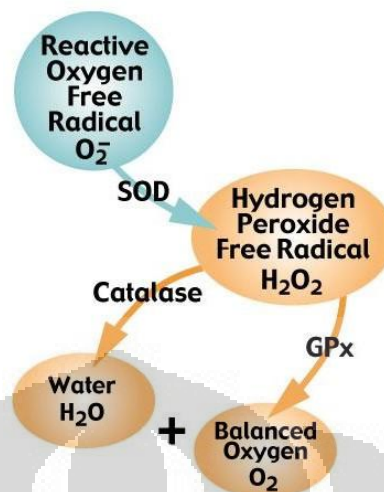
Dalam arti yang sangat luas antioksidan dapat didefinisikan sebagai zat yang menunda atau mencegah oksidasi suatu substrat.<sup>29</sup> Secara biologis, pengertian antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh.<sup>29,30</sup> Antioksidan diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif.

Secara umum antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan enzimatis (antioksidan endogen) dan antioksidan non-enzimatis (antioksidan eksogen).<sup>29</sup> Antioksidan enzimatis meliputi glutathione peroksidase (GPx), superoksida dismutase (SOD), dan *catalase* (CAT). Sedangkan antioksidan non-enzimatis meliputi antioksidan larut lemak (seperti tokoferol, karotenoid, quinon, flavonoid dll) dan antioksidan larut air (seperti asam askorbat).

Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang meminimalisir kerusakan oksidatif dengan cara mengkatalisis suatu reaksi kimia untuk menetralkan radikal bebas.<sup>3</sup> Antioksidan endogen bekerja dengan menghambat pembentukan radikal bebas, yaitu dengan memutus reaksi berantai, kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Antioksidan dalam kelompok ini disebut juga *chain-breaking-antioxidant*.<sup>29</sup>

Superoksida Dismutase adalah enzim yang mengkatalisis dismutasi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) dan  $O_2$ . Meskipun radikal superoksida tidak begitu toksik, namun dapat menarik elektron dari membran sel atau komponen sel lainnya dan menyebabkan reaksi radikal berantai. Radikal superoksida memiliki kemampuan untuk berpartisipasi dalam pembentukan radikal hidroksil.<sup>31</sup>

Hidrogen peroksida, setelah terbentuk juga harus dikeluarkan untuk mencegah pembentukan radikal hidroksil. Katalase dan Glutathione peroksidase mengubah hidrogen peroksida menjadi air.<sup>31</sup>



Gambar 2.10. Peran SOD, katalase dan Glutation peroksidase dalam menetralsisir radikal bebas<sup>31</sup>

Teori mengenai efek buruk dari radikal bebas telah tertanam kuat dalam benak para ilmuwan selama 30 tahun terakhir. Namun, saat ini dari beberapa penelitian membuktikan bahwa *reaktive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan selama kontraksi otot memiliki peran fisiologis dalam adaptasi terhadap latihan fisik. Pada beberapa penelitian menyatakan bahwa, ROS yang terbentuk dalam jumlah ringan-sedang saat latihan fisik sedang dapat meningkatkan antioksidan endogen.<sup>3,4</sup>

Terdapat bukti yang berkembang bahwa *reaktive oxygen species* (ROS) dalam konsentrasi rendah-sedang dapat menginduksi ekspresi gen antioksidan endogen seperti *Mitochondrial superoxide dismutase* (MnSOD) dan Glutation peroksidase (GPx).<sup>4</sup>

Mekanisme bagaimana *reaktive oxygen species* (ROS) dapat menginduksi ekspresi gen antioksidan endogen adalah bahwa radikal bebas, melalui beberapa jalur transduksi sinyal dapat mengaktifkan faktor transkripsi yang berperan dalam ekspresi gen antioksidan endogen.

Beberapa antioksidan endogen mengandung situs pengikatan faktor transkripsi *Nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B) pada daerah promoter gen nya, seperti pada *Mitochondrial superoxide dismutase* (MnSOD).<sup>3</sup> Pada tahun 2005 Gomez-Cabrera dkk menyimpulkan bahwa pembentukan *Reactive oxygen species*

(ROS) selama latihan fisik sedang mengaktifasi Jalur *Mitogen Activated Protein Kinases* (MAPKs) (p38 dan ERK1/ERK2), yang selanjutnya akan mengaktifasi NF-KB yang merupakan sebuah faktor transkripsi. Aktifasi dari NF-KB akan meningkatkan ekspresi antioksidan enzimatis (MnSOD dan GPx). Ia melaporkan bahwa ROS yang dihasilkan pada saat latihan fisik, berperan sebagai sinyal yang mengatur peristiwa molekuler yang penting dalam adaptasi sel otot.<sup>32</sup>

Ji, telah mempelajari secara ekstensif peran ROS terhadap aktivasi NF-KB dan MAPKs dalam adaptasi sel otot terhadap stress oksidatif dan menyimpulkan bahwa jalur ini merupakan respon penting untuk mempertahankan homeostasis otot.<sup>33</sup>

*Mitogen-activated protein kinases* (MAP-kinase) adalah protein ubiquitous yang menerjemahkan persepsi dari sinyal ekstraselular atau perubahan di lingkungan menjadi suatu respon sel. Sampai saat ini terdapat lebih dari 20 MAP-kinase yang telah diidentifikasi, yang dikelompokkan menjadi 4 kelompok :<sup>5</sup>

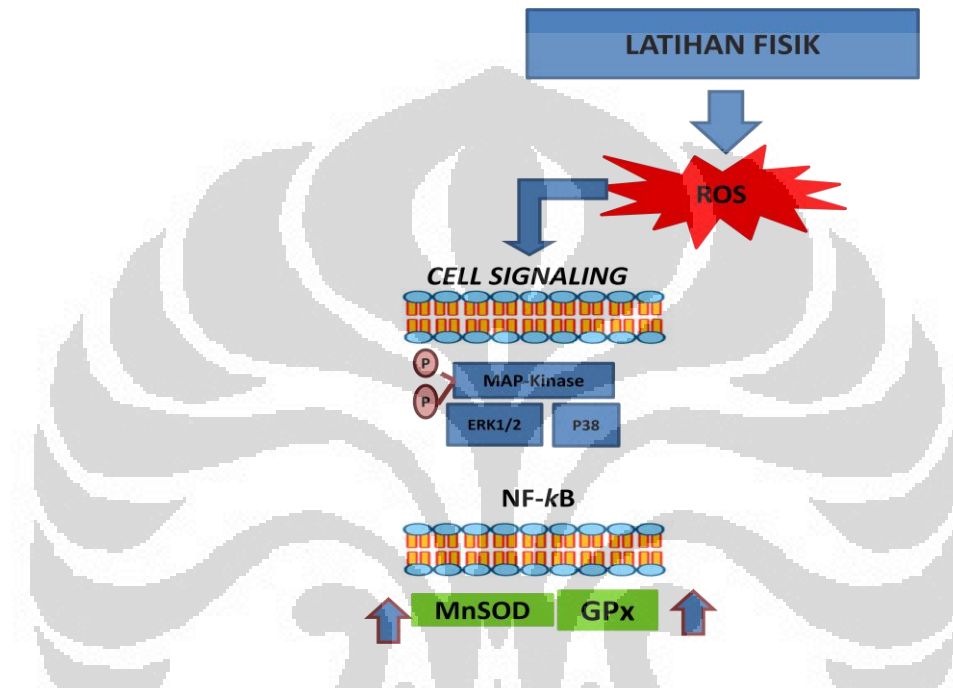
1. Extracelullar signal-regulated kinase I dan 2 (MAPK<sup>ERK1/2</sup>)
2. Stress-activated protein kinase p38 (MAPK<sup>p38</sup>)
3. C-jun N-terminal kinase (MAPK<sup>jnk</sup>)
4. The extracelullar signal –regulated kinase 5 (MAPK<sup>ERK5</sup>)

Semua jalur MAP kinase (MAPKs) memiliki aktifitas yang sama, yaitu fosforilasi konkomitan residu treonin dan tirosin dari domain kinase. MAPKs adalah elemen terakhir dari jalur kaskade fosforilasi ini. Tekanan lingkungan seperti hipoksia, stress oksidatif, perubahan osmotik dan sitokin inflamasi dapat menjadi sinyal yang menstimulasi jalur MAPKs ini. Jalur MAPKs mentransfer informasi dari lingkungan luar sel ke dalam nukleus melalui tiga tingkat jalur yang melibatkan fosforilasi berantai dari tiga kinase, yaitu, MAPK Kinase (MAPKK) / MAPK-ERK-Kinase (MEK), MAPK kinase kinase (MAPKKK) / MEK-Kinase (MEKK) dan MAPK.<sup>5</sup>

Jalur ERK diaktifasi melalui beberapa reseptor yang berbeda termasuk reseptor tirosin kinase, *G-protein-couple seven transmembrane-spanning domain receptors* atau reseptor serin-threonin kinase dimana semuanya menyampaikan pesan ke protein Ras. Ras selanjutnya mengerahkan dan mengaktifasi MEKK dari keluarga Raf. Kemudian Raf akan memfosforilasi dan mengaktifkan dua MEK,

MEK1 dan MEK2. Kemudian pada akhirnya MEKs memfosforilasi dan mengaktifasi ERK 1 dan 2.<sup>5</sup>

NF- $\kappa$ B berada di sitoplasma dalam keadaan inaktif. Ketika diaktivasi oleh jalur MAPKs, NF- $\kappa$ B akan bermigrasi masuk ke dalam nukleus dan berikatan dengan situs pengikatannya di daerah promotor dari suatu gen.

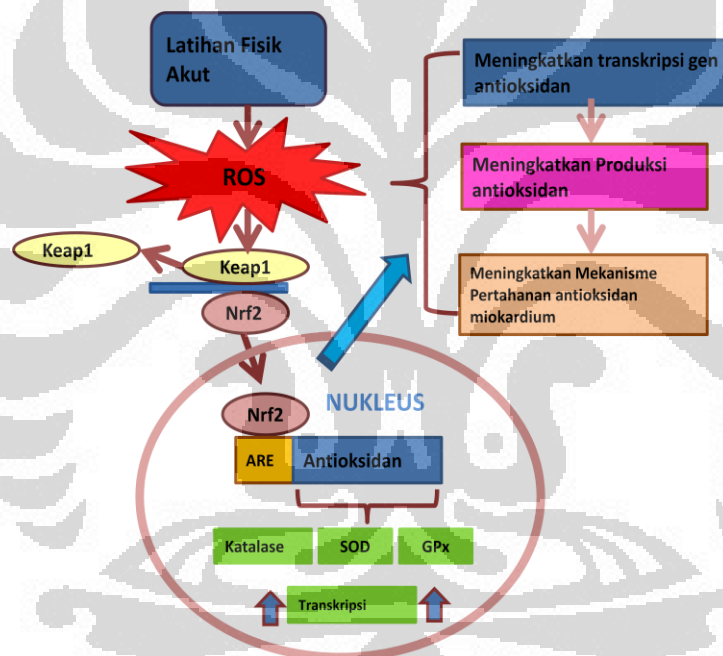


Gambar 2.11. Peningkatan ekspresi gen antioksidan enzimatik melalui aktivasi NF- $\kappa$ B oleh ROS.<sup>3</sup>

Peran faktor transkripsi lain dalam ekspresi gen antioksidan endogen juga telah dilaporkan oleh Muthusamy *et al* yaitu *Nuclear erythroid 2 p45 factor 2* (Nrf2). *Nuclear erythroid 2 p45-related factor 2* (Nrf2), sebuah protein yang meregulasi transkripsi dari beberapa gen antioksidan merupakan *redox-sensitive*. Aktivasi terus menerus dari Nrf2 meningkatkan transkripsi antioksidan endogen pada jantung. Pada penelitiannya Muthusamy *et al* memperlihatkan bahwa *acute exercise stress* (AES) mengakibatkan aktivasi Nrf2/ARE (*antioxidant respon element*) dan kemudian meningkatkan mekanisme pertahanan antioksidan pada jantung tikus wild-type, sementara pada stress oksidatif terjadi mekanisme pertahanan antioksidan yang tumpul. Dengan demikian AES menginduksi ROS dan meningkatkan fungsi Nrf2, namun gangguan pada Nrf2 meningkatkan

kerentanan miokardium terhadap stress oksidatif. Penemuannya mengungkapkan pendekatan nonfarmakologi untuk mengaktifkan *signaling* Nrf2/ARE yang mungkin dapat menjadi target terapeutik yang potensial untuk melindungi jantung dari stress oksidatif.<sup>34</sup>

Dalam kondisi normal, Nrf2 berada di sitoplasma dalam keadaan inaktif, terikat dengan molekul represornya yaitu Keap1. ROS menyebabkan pemisahan kompleks Nrf2-Keap1, dan berujung pada ubiquinisasi Keap1 dan translokasi Nrf2 ke dalam nukleus. Nrf2 menstimulasi transkripsi gen antioksidan dengan cara berikatan dengan *antioxidant responsive element* (ARE) pada daerah promoter gen targetnya.<sup>34</sup>

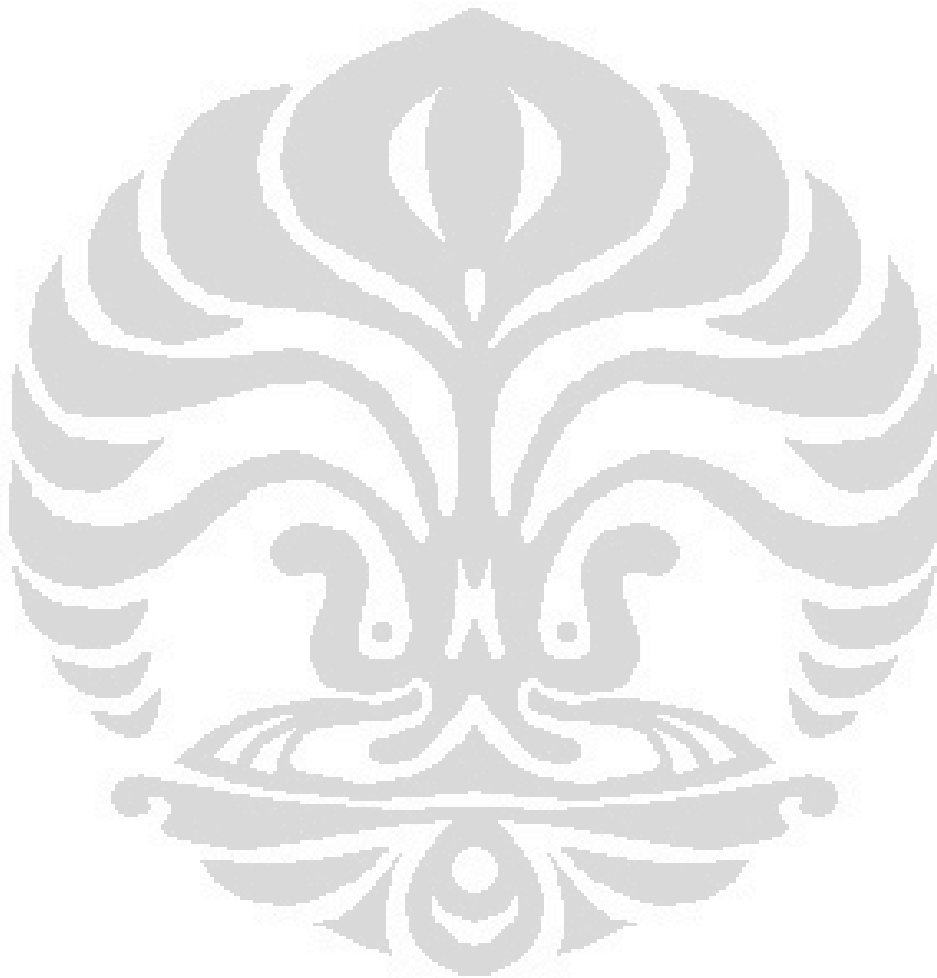


Gambar 2.12. Peningkatan ekspresi gen antioksidan enzimatik melalui aktivasi Nrf-2 oleh ROS.<sup>34</sup>

Pada latihan fisik akut terjadi peningkatan pembentukan radikal bebas yang dapat memicu ekspresi gen antioksidan endogen melalui aktivasi faktor transkripsinya dan pada latihan fisik kronis terjadi peningkatan pembentukan antioksidan endogen akibat adanya suatu respon adaptif.

Pada hewan yang diberikan latihan fisik kronis memperlihatkan terjadi sedikit kerusakan oksidatif dibandingkan hewan yang tidak terlatih, hal ini terjadi akibat respon adaptif dari latihan fisik jangka panjang. Respon adaptif ini

merupakan hasil efek kumulatif dari stimulus latihan fisik yang diberikan berulang dalam jangka waktu lama (kronis).<sup>3</sup> Oleh karena itu agar kapasitas mekanisme pertahanan antioksidan endogen dalam tubuh menjadi efektif perlu dilakukan latihan fisik yang berkelanjutan, bukan hanya sekedar sesekali.



## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian dengan studi ekperimental menggunakan jaringan ventrikel jantung hewan coba tikus Wistar jantan strain albino species *Rattus Novergicus*.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Departemen Patologi Anatomi dan Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia pada bulan Februari 2014 - Juli 2014.

### 3.3 Subjek Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada jaringan ventrikel jantung tikus Wistar jantan strain albino species *Rattus Novergicus*, berusia 8 – 10 minggu, dengan berat badan 100 – 250 gram. Tikus dibagi secara acak menjadi 2 kelompok utama yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan latihan aerobik dengan atau tanpa disertai henti latih. Setiap kelompok kontrol dan perlakuan dibagi lagi menjadi 4 sub-kelompok sebagai berikut :

Tabel 3.1 Kelompok Subjek Penelitian

<b>Kelompok</b>	
<b>Kontrol</b>	<b>Perlakuan</b>
4 minggu (K4M)	Latihan fisik aerobik 4 minggu (AR4M)
8 Minggu (K4MD)	Latihan Fisik aerobik 4 minggu dilanjutkan dengan henti-latih selama 4 minggu (AR4MD)
12 minggu (K12M)	Latihan fisik aerobik 12 minggu (AR12M)
16 minggu (K12MD)	Latihan fisik aerobik 12 minggu dilanjutkan dengan henti-latih selama 4 minggu (AR12MD)

Pemilihan dan pembagian kelompok subjek penelitian serta perlakuan latihan fisik sudah dilakukan oleh peneliti terdahulu Dewi Nirmalasari dkk (2012). Sebelum dan selama perlakuan, kesehatan tikus dijaga, tikus diberi makan dan minum secara *ad libitum* kandang dijaga kebersihannya serta diatur 12 jam terang dan 12 jam gelap, dengan suhu lingkungan dijaga pada suhu  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ . diperhatikan pula hal lain sesuai dengan kode etik komisi penanganan dan penggunaan hewan coba.

Jenis latihan fisik yang diberikan pada tikus percobaan ini adalah latihan fisik aerobik dengan kecepatan 20m/menit selama 20 menit, dengan istirahat selama 90 detik setiap 5 menit, dilakukan dengan menggunakan *animal treadmill* (T-6000). Latihan dilakukan secara teratur dengan frekuensi 5kali/minggu selama 4 minggu dan 12 minggu kemudian tikus didekapitasi. Pada kelompok perlakuan dengan henti-latih, latihan fisik aerobik dihentikan selama 4 minggu sebelum tikus didekapitasi.

Setelah didekapitasi, dilakukan pengambilan jaringan kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus dan kemudian jaringan tersebut dibuat dalam blok parafin.

### 3.4 Penetapan Jumlah Hewan Coba

Jumlah hewan coba (sampel) ditentukan berdasarkan rumus Federer, apabila  $t$  adalah jumlah kelompok perlakuan yaitu 8 kelompok, sedangkan  $n$  merupakan jumlah tikus tiap kelompok, maka  $n$  dapat dihitung dengan rumus :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

$$7n-1 \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15 + 7$$

$$7n \geq 22/7$$

$$n \geq 4$$

Dari perhitungan di atas diperoleh jumlah sampel sebanyak 4 subjek untuk tiap kelompok, sehingga total jumlah sampel sebanyak 32 ekor tikus.

### 3.5 Keterangan Lolos Kaji Etik

Penelitian ini menggunakan sampel jaringan dalam bentuk blok parafin yang didapatkan dari penelitian terdahulu dengan surat lolos kaji etik (*ethical-clearance*) dari komite etik FKUI yang diajukan oleh peneliti sebelumnya. Untuk keperluan penelitian ini tidak diambil jaringan tambahan dari hewan coba sehingga tidak menggunakan hewan coba baru.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat dan bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut :

#### 3.6.1 Bahan Penelitian

- Sediaan blok parafin ventrikel kiri jantung yang diambil dari tikus strain Wistar jantan umur 8-10 minggu.
- Antibodi primer : Poliklonal anti rabbit anti-Caspase 3 antibody (Abcam ab4051)
- Bahan – bahan yang dibutuhkan untuk pulasan IHK : Xylol, Alkohol (absolut, 96%, 80%), PBS pH 7,4, 0,1% tween 20, hydrogen peroksida 3% , Air deionized *Donor horse serum* (DHS) 5%, *Starr trek universal HRP detection system* (*Trekkie universal link*, *Trek Avidin-HRP label*, *Betazoid DAB chromogen* dan *DAB buffer*) Biocare<sup>®</sup>, hematoksilin, lithium carbonat 5% dalam dH<sub>2</sub>O, serta mounting medium (entelan).

#### 3.6.2 Alat Penelitian

- Alat-alat untuk pulasan IHK : kaca preparat/*object glass*, kaca penutup/*cover glass*, mikrotom, *water bath*, *slide warmer*, *microwave*, pipet mikro, lemari pendingin, wadah kamar lembab, vortex, *Super PAP pen*, sarung tangan dan masker serta mikroskop Olympus BX 51.

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Persiapan Jaringan

Sediaan blok parafin dari sampel dipotong setebal 4 µm menggunakan mikrotom. Jaringan yang telah dipotong diapungkan ke dalam *water bath*

kemudian jaringan dilekatkan ke gelas objek yang telah dilapisi dengan *poly-L-lysine* sehingga menjadi slide yang siap untuk dilakukan pulasan imunohistokimia. Preparat yang telah dibuat kemudian dikeringkan pada suhu 37°C didalam oven pengering, lalu dipanaskan diatas *slide warmer* 60°C selama 30 menit.

### 3.7.2 Teknik Pulasan Imunohistokimia (IHK) Caspase 3 :

- Preparat dengan potongan jaringan setebal 4µm dideparafinisasi dengan xylol tiga kali lima menit, dan dilakukan hidrasi dengan serial alkohol bertingkat (alkohol absolut, 96%, dan 80%) masing-masing selama 4 menit. Setelah itu jaringan dicuci dibawah air mengalir selama 5 menit.
- Peroksidase endogen dihambat dengan hydrogen peroksida 3% selama 30 menit, kemudian preparat dicuci dibawah air mengalir selama 5 menit.
- *Antigen retrieval* dilakukan dengan pemanasan di dalam *microwave*. Jaringan direndam dalam cairan sitrat buffer, kemudian dipanaskan dengan *microwave* dengan power 8 selama 5 menit, dilanjutkan dengan power 1 selama 5 menit. Angkat dan dinginkan pada suhu kamar selama ± 30-45 menit. Kemudian cuci dengan PBS yang telah dicampur dengan 0,1% tween 20 dua kali 5 mneit. Langkah ini penting untuk mempermudah pengikatan antibodi-antigen dengan membuka *methylene bridge* yang terbentuk pada saat fiksasi jaringan.
- Angkat preparat dari PBS dan keringkan cairan yang masih menempel, kemudian buat pembatas hidrofobik disekeliling jaringan pada preparat dengan menggunakan super PAP pen.
- Kemudian teteskan campuran DHS 5%, PBS dan 0,1% tween 20 sebanyak 4 tetes dan diamkan pada suhu kamar selama 1 jam, perlakuan ini bertujuan sebagai *protein blocker*.
- Slide diinkubasi dengan antibody primer poliklonal *rabbit* anti Caspase-3 (Abcam ab4051) dengan titer 1 : 150 untuk pemeriksaan caspase-3 dengan pendilusi PBS/0,1% tween 20 berisi 5% DHS selama *overnight* pada suhu 4<sup>0</sup> C. setelah itu preparat dicuci dalam PBS/0,1% tween 20 dua kali 10

menit. Sedangkan untuk preparat kontrol negatif hanya ditetaskan campuran DHS 5%, PBS dan 0,1% tween 20 (tanpa antibodi primer).

- Dilanjutkan inkubasi dengan antibodi sekunder (*biotinylated universal secondary antibody*) starr *Trek Universal* (Biocare Medical) yakni *Trekkie Universal Link* sebanyak 4 tetes selama 20 menit. Setelah itu preparat dicuci dengan menggunakan larutan PBS/0,1% tween 20 dua kali 10 menit. Setelah itu preparat ditetesi label *Trekavidin-HRP* (*TrekAvidin* adalah protein yang dapat berikatan dengan biotin pada antibodi sekunder) sebanyak 4 tetes dan diinkubasi selama 10 menit, kemudian cuci preparat dalam PBS/0,1% tween 20 tiga kali 10 menit. Selanjutnya teteskan *DAB chromogen* (substrat yang dapat bereaksi dengan enzim HRP dan kemudian memberi warna coklat) sebanyak 200  $\mu$ L dan didiamkan selama  $\pm$  30 detik (sampai terlihat warna coklat), kemudian cuci preparat di bawah air mengalir selama 15 menit.
- Lakukan pewarnaan *counter staining* dengan hematoksin selama  $\pm$ 2 menit, dilanjutkan dengan pencucian preparat di bawah air mengalir selama 5 menit, kemudian dimasukkan lagi ke dalam larutan lithium carbonat jenuh (5% dalam aquades) selama 1 menit dan dicuci kembali di bawah air mengalir selama 3 menit. Terakhir dehidrasi dengan alkohol konsentrasi bertingkat, *clearing* dengan xylol, dan *mounting* dengan entelan serta *coverglass*. Setiap proses pulasan dibuat pula kontrol negatifnya tanpa memberikan antibodi primer dan kontrol positifnya dengan menggunakan jaringan tonsil manusia.

### 3.7.3 Penilaian Hasil Imunohistokimia

Pewarnaan imunohistokimia terhadap preparat sediaan jaringan ventrikel kiri jantung tikus ini menggunakan antibodi caspase-3 di mana sel yang positif mengekspresikan caspase-3 akan memiliki sitoplasma yang berwarna coklat (lihat gambar 3.1). Hal ini disebabkan karena lokasi caspase-3 adalah di sitoplasma. Preparat difoto dengan menggunakan mikroskop cahaya binokuler (Olympus BX51) dengan pembesaran 400x, lalu dilakukan pengambilan gambar preparat yakni sebanyak 5 lapang pandang yang dipilih secara acak untuk setiap

preparat. Foto preparat yang telah didapat kemudian diproses dengan program imageJ untuk menentukan jumlah ekspresi protein caspase 3.

Evaluasi berdasarkan persentase imunoreaktivitas ekspresi caspase-3. Persentase (%) imunoreaktivitas ekspresi caspase-3 = jumlah sel positif/jumlah total sel x 100% menurut cara Kokkawa dkk.<sup>34</sup>

Untuk menentukan jumlah sel yang mengekspresikan caspase 3, pertamanya program imageJ dijalankan, lalu pilih menu “file”, setelah itu pilih sub-menu “open” untuk memilih foto preparat yang akan kita analisa. Setelah foto yang diinginkan terbuka, pilih menu “plugin” diikuti sub-menu “analyze”, lalu pilih “cell counter”, selanjutnya pilih “initialize”. Selanjutnya pilih dan tentukan “type 1” sebagai sel yang mengekspresikan caspase 3 (positif caspase 3) dan secara manual kita manandai sel-sel yang mengekspresikan caspase 3. Sedangkan untuk sel-sel yang tidak mengekspresikan caspase 3 (negatif caspase 3) ditandai sebagai “type 2”. Setelah semua sel dianalisis, pilih menu “result” untuk mengetahui rekap jumlah sel yang mengekspresikan caspase 3 dan sel yang tidak mengekspresikan caspase 3

### 3.8 Definisi Operasional

1. Latihan fisik aerobik : latihan fisik pada *animal treadmill* dengan kecepatan 20 m/menit, selama 20 menit, dengan istirahat selama 90 detik setiap 5 menit. Frekuensi 5kali/minggu selama periode 4 minggu dan 12 minggu.
2. Henti-Latih : suatu periode penghentian latihan fisik selama 4 minggu pasca-latihan fisik aerobik.
3. Persentase ekspresi caspase 3 : persentase ekspresi enzim caspase-3 yang disekresikan dalam sitoplasma sel yang terpulas warna coklat dengan pulasan imunohistokimia.

### 3.9 Variabel Penelitian

- Variabel bebas/*independent* : latihan fisik aerobik dan henti-latih.
- Variabel terikat/*dependent* : persentase ekspresi caspase 3.

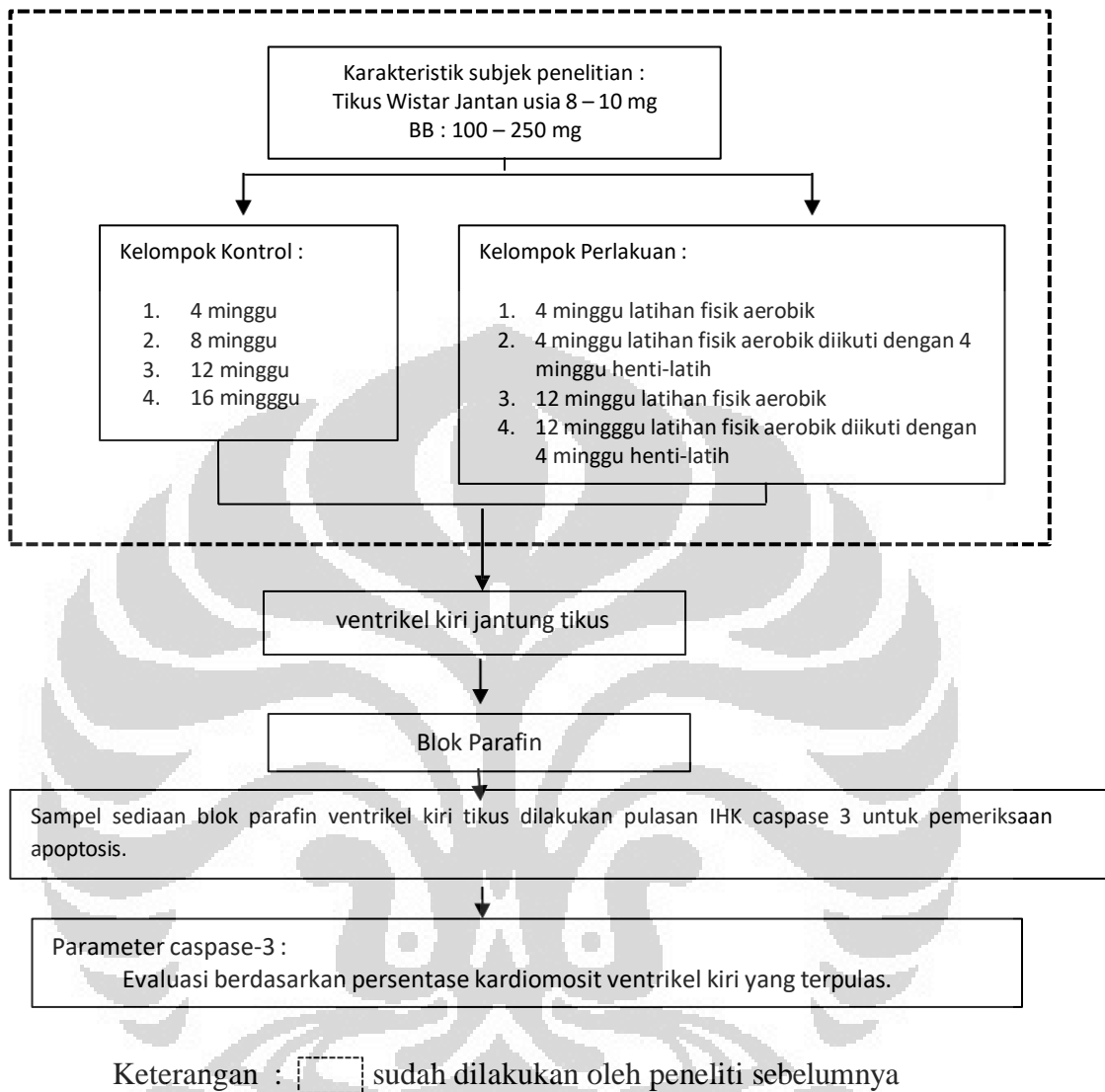
Tabel 3.2 Variabel Penelitian

Variabel	Definisi Operasional
Variabel Bebas	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Latihan fisik aerobik</li> </ul>	Latihan dengan kecepatan 20m/menit selama 20 menit dengan istirahat selama 90 detik setiap 5 menit. Frekuensi latihan 5 kali/minggu selama 4 minggu dan 12 minggu.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Henti latih</li> </ul>	Penghentian latihan fisik selama 4 minggu pasca latihan fisik aerobic
Variabel Terikat	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ekspresi Caspase-3</li> </ul>	Enzim caspase-3 yang disekresikan dalam sitoplasma sel yang terpulas warna coklat dengan pulasan imunohistokimia.

### 3.10 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer SPSS versi 20. Analisis Statistik dimulai dengan uji normalitas Shapiro-Wilk (untuk sampel kurang dari 50), bila nilai  $p \geq 0,05$  maka data terdistribusi normal, data kemudian dianalisis homogenitasnya. Untuk data yang terdistribusi normal dilakukan uji parametrik. Uji parametrik untuk mengetahui perbedaan rerata > 2 kelompok sampel dilakukan uji One-Way Anova yang dilanjutkan dengan analisis Post Hoc:LSD untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan. Perbedaan antara kelompok dianggap bermakna bila  $p < 0,05$ .

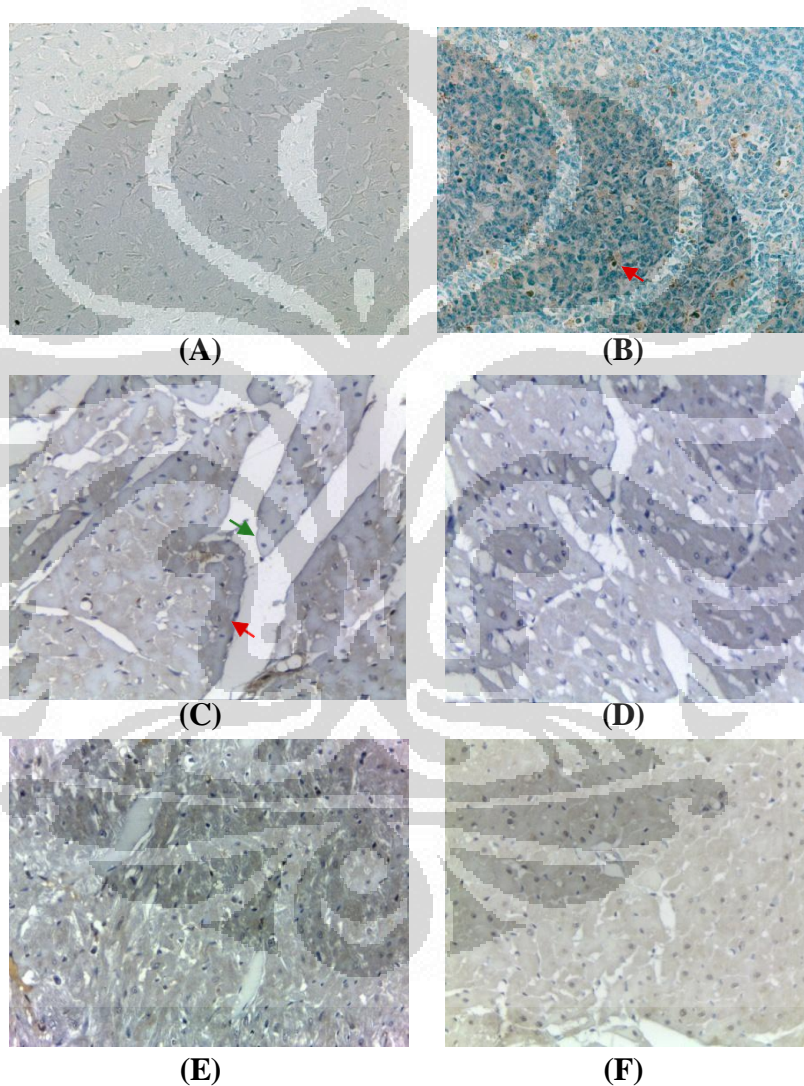
### 3.11 Alur Penelitian



## BAB IV HASIL PENELITIAN

### 4.1 Gambaran Hasil Immunohistokimia Caspase-3

Gambar dibawah adalah gambaran hasil pulasan imunohistokimia caspase-3. Sel yang positif mengekspresikan caspase-3 akan memiliki sitoplasma yang berwarna coklat (lihat gambar 4.1). Hal ini disebabkan karena lokasi caspase-3 adalah di sitoplasma.



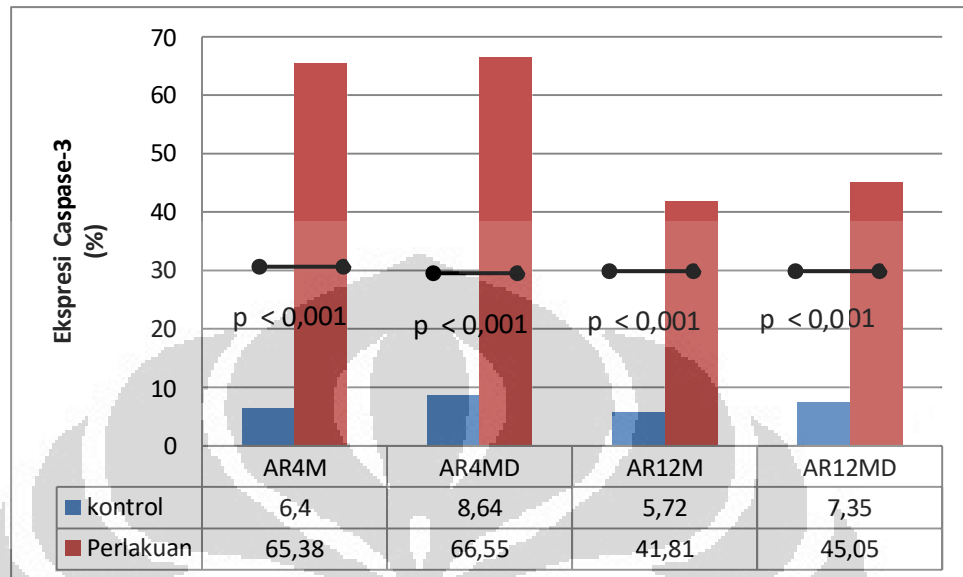
Gambar 4.1. Hasil Pulasan Immunohistokimia. (A) Kontrol Negatif, (B) Kontrol Positif, (C) Latihan Fisik Aerobik 4 Minggu (AR4M), (D) Latihan Fisik Aerobik 12 minggu (AR12M), (E) Latihan fisik aerobik 4 minggu dengan henti latih 4 minggu (AR4MD), (F) Latihan fisik 12 minggu dengan henti latih 12 minggu (AR12MD).

Pada kontrol negatif tidak terlihat sel dengan sitoplasma yang berwarna kecoklatan, artinya tidak ada sel yang mengekspresikan caspase-3 seperti terlihat pada gambar 4.1 A. Pada penelitian ini kami menggunakan tonsil manusia sebagai kontrol positif dan didapatkan hasil sel dengan sitoplasma berwarna kecoklatan (gambar 4.1 B panah merah). Gambaran imunohistokimia pada masing masing kelompok perlakuan terlihat pada gambar 4.1 C,D,E dan F. Gambar 4.1 C panah merah memperlihatkan sel yang mengekspresikan caspase 3 ditandai dengan sitoplasma yang berwarna kecoklatan.

#### 4.2 Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Semua data persentase ekspresi caspase-3 dari setiap kelompok terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk*. Data terdistribusi normal apabila  $p > 0,05$ . Dari hasil uji normalitas tersebut didapatkan semua data dari kelompok latihan aerobik 4 minggu (AR4M), latihan aerobik 12 minggu (AR12M), latihan aerobik 4 minggu disertai henti-latih (AR4MD), latihan aerobik 12 minggu disertai henti-latih (AR12MD) dan kontrol 4 minggu (K4M), kelompok kontrol 8 minggu (K4MD), kelompok kontrol 12 minggu (K12M) dan kontrol 16 minggu (K16M) terdistribusi normal. Data kemudian dianalisis homogenitasnya menggunakan statistik Levene. Dari hasil uji homogenitas didapatkan signifikansi lebih dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa kedelapan kelompok data berdasar persentase caspase-3 mempunyai varian sama, oleh karena itu analisis data dilakukan dengan menggunakan uji parametrik One-way ANOVA, untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan, maka dilakukan analisis Post Hoc: LSD (dengan perbedaan antara kelompok dianggap bermakna bila  $p < 0,05$ ).

### 4.3 Perbandingan Persentase Ekspresi Caspase-3 Kelompok Perlakuan Latihan dengan Kontrol



Gambar 4.2 Perbandingan persentase ekspresi caspase- 3 antara kelompok latihan aerobik dan kelompok kontrol.

Dari hasil analisis statistik didapatkan hasil seperti yang terlihat pada gambar 4.2. Gambar diatas menunjukkan data kuantitatif persentase ekspresi caspase-3 pada jaringan ventrikel kiri jantung antara kelompok Perlakuan dengan kelompok kontrol.

Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu adalah  $65,38\% \pm 2,54031$  sedangkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok kontrol 4 minggu adalah  $6,40 \pm 1,78077$  . Berdasarkan gambar di atas dapat terlihat terdapat perbedaan bermakna rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrolnya, dengan perbedaan rata-rata sebesar 58.97% dengan nilai  $p < 0,001$ .

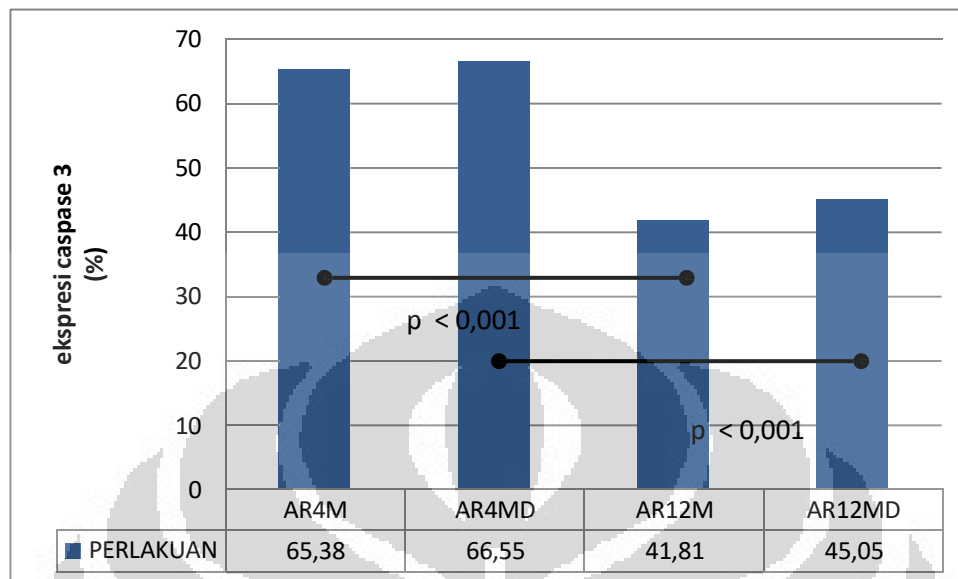
Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti dengan henti latih adalah  $66,55\% \pm 1,88542$  sedangkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok kontrol 8 minggu adalah  $8,64\% \pm 3,59553$ . Berdasarkan gambar di atas dapat terlihat persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan

aerobik 4 minggu diikuti dengan henti latih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrolnya dengan perbedaan rata-rata sebesar 57,91% dan nilai  $p < 0,001$ .

Gambar 4.2 menunjukkan persentase ekspresi caspase-3 pada kelompok latihan aerobik 12 minggu lebih tinggi secara bermakna ( $p < 0,001$ ) dibandingkan dengan kelompok kontrol 12 minggu. Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 12 minggu adalah  $41,81\% \pm 3,21161$  sedangkan persentase ekspresi caspase-3 kelompok kontrol 12 minggu adalah  $5,72\% \pm 0,87593$ . Perbedaan rata-rata antara kedua kelompok sebesar 36,10%.

Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti dengan henti-latih adalah  $45,05\% \pm 1,50009$  sedangkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok kontrol 16 minggu adalah  $7,35\% \pm 2,06330$ . Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti dengan henti-latih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrolnya, dengan rata-rata sebesar 39,43%, dengan nilai  $p < 0,001$  ( $p < 0,05$ ). Jadi dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna rerata persen positif caspase-3 pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus antara kelompok aerobik 12 minggu yang diikuti dengan henti-latih dan kontrol 16 minggu.

#### 4.4 Pengaruh Henti Latih dan Lama Latihan Terhadap Persentase Ekspresi Caspase-3 Kardiomiosit Ventrikel Kiri Jantung Tikus



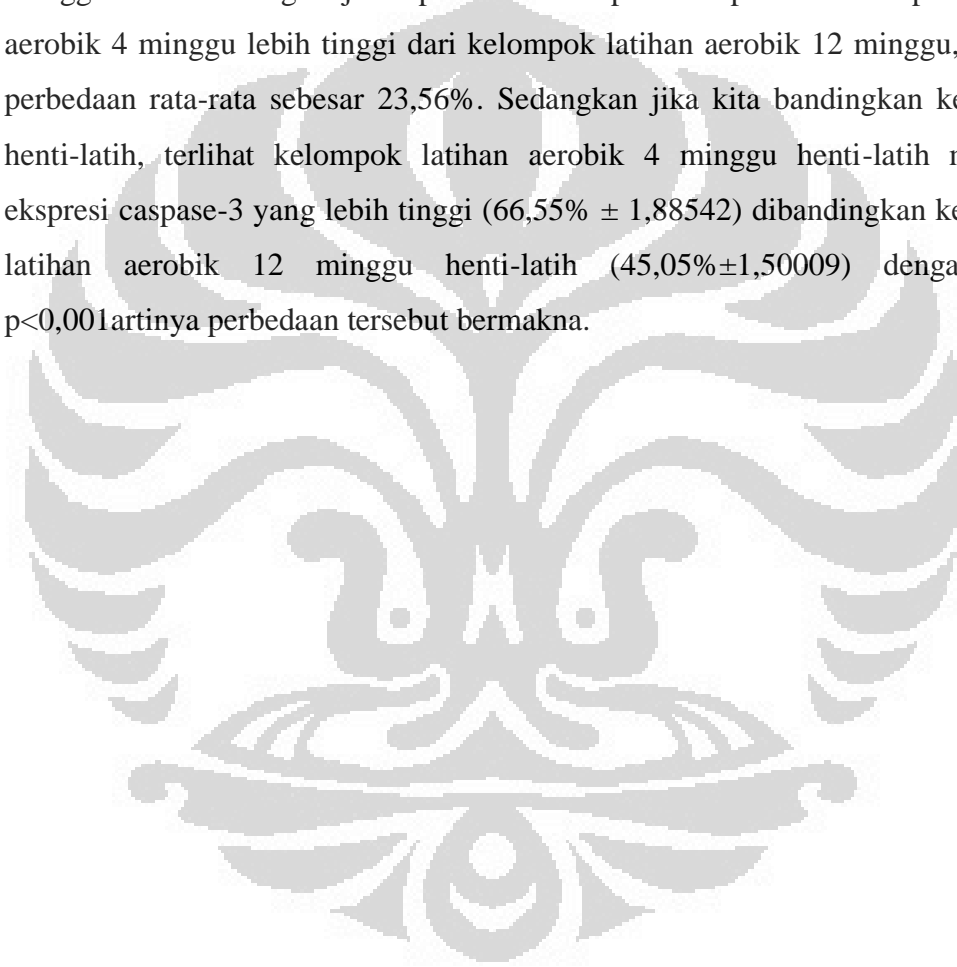
Gambar 4.3 Perbandingan persentase ekspresi caspase-3 antara kelompok latihan aerobik dengan Kelompok Henti Latih

Gambar 4.3 menunjukkan data kuantitatif persentase ekspresi caspase-3 pada jaringan ventrikel kiri jantung antara kelompok latihan aerobik dengan kelompok henti-latih.

Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu adalah 65,38%  $\pm$  2,54031 sedangkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti henti-latih adalah 66,55%  $\pm$  1,88542 ( $p=0,484$ ). Meskipun secara uji statistik tidak ada perbedaan yang bermakna, namun terlihat rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti dengan henti latih lebih tinggi dibandingkan kelompok latihan aerobik 4 minggu.

Gambar diatas juga menunjukkan persentase ekspresi caspase-3 pada kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti dengan henti-latih lebih tinggi yaitu 45,05%  $\pm$  1,50009 dibandingkan kelompok latihan aerobik 12 minggu yaitu sebesar 41,81%  $\pm$  3,21161. Perbedaan ini tidak bermakna secara statistik ( $p=0,063$ ).

Jika kita lihat perbandingan persentase kelompok latihan aerobik 4 minggu dengan kelompok latihan aerobik 12 minggu, terlihat terdapat perbedaan bermakna persentase ekspresi caspase-3 pada jaringan ventrikel kiri jantung antara kelompok latihan aerobik 4 minggu dan kelompok latihan aerobik 12 minggu, dengan  $p < 0,001$ . Persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu adalah  $65,38\% \pm 2,54031$  sedangkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 12 minggu adalah  $41,81\% \pm 3,21161$ . Gambar di atas menggambarkan dengan jelas persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu lebih tinggi dari kelompok latihan aerobik 12 minggu, dengan perbedaan rata-rata sebesar 23,56%. Sedangkan jika kita bandingkan kelompok henti-latih, terlihat kelompok latihan aerobik 4 minggu henti-latih memiliki ekspresi caspase-3 yang lebih tinggi ( $66,55\% \pm 1,88542$ ) dibandingkan kelompok latihan aerobik 12 minggu henti-latih ( $45,05\% \pm 1,50009$ ) dengan nilai  $p < 0,001$  artinya perbedaan tersebut bermakna.



## BAB V PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Latihan Fisik Aerobik Terhadap Apoptosis Kardiomiosit Ventrikel Kiri Tikus

Hasil penelitian menunjukkan peningkatan yang bermakna secara statistik rata-rata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik, dibandingkan dengan masing-masing kelompok kontrolnya. Peningkatan ekspresi caspase-3 ini mengindikasikan peningkatan profil apoptosis kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus. Penemuan ini berbeda dari hipotesis yang diharapkan sesuai dengan penelitian yang dilakukan Siu PM dkk (2004). Pada penelitiannya Siu PM dkk memperlihatkan indeks apoptosis yang lebih rendah pada kelompok tikus yang diberi latihan fisik dibandingkan dengan kelompok kontrol.<sup>8</sup> Perbedaan hasil ini dapat terjadi kemungkinan dikarenakan program latihan aerobik yang dilakukan pada penelitian ini masih terlalu berat untuk tikus. Pada penelitiannya, Siu PM dkk (2004) memberikan latihan aerobik dengan menggunakan *treadmill* 5kali/minggu selama 8 minggu dengan kecepatan dan durasi *treadmill* secara bertahap ditingkatkan. Pada 4 minggu pertama kecepatan dan durasi latihan secara bertahap ditingkatkan mulai dari 10m/min selama 10 menit sampai 28 m/menit selama 55 menit diakhir minggu keempat pertama. Untuk 4 minggu terakhir tikus terlebih dahulu diberikan latihan pemanasan dengan kecepatan 20m/menit selama 5 menit, kemudian diikuti sesi latihan dengan kecepatan 28m/menit selama 55 menit. Siu PM dkk menyebut protokol latihan ini merupakan latihan aerobik *endurance* tingkat sedang.<sup>8</sup> Sedangkan program latihan aerobik yang dilakukan pada penelitian ini agaknya masih terlalu berat untuk tikus, pada penelitian ini hanya dilakukan adaptasi latihan selama 1 minggu dengan meningkatkan kecepatan *treadmill* bertahap setiap harinya, kemudian setelah itu masuk sesi perlakuan latihan aerobik 4 minggu dan 12 minggu dengan kecepatan 20m/menit selama 20 menit dan istirahat selama 90 detik setiap 5 menit (dilakukan 5x/minggu) sehingga yang terjadi adalah sebaliknya, yaitu terjadi peningkatan apoptosis kardiomiosit. Hal tersebut dapat disebabkan oleh karena proses iskemia-reperfusi yang terjadi pada saat tikus melakukan latihan fisik.

Selain proses iskemia – reperfusi, faktor mekanik yaitu regangan yang berlebihan pada otot yang melakukan latihan fisik juga dapat menjadi faktor yang dapat memicu apoptosis kardiomyosit.<sup>7</sup>

Peterson JM dkk (2008) dalam penelitiannya membuktikan bahwa apoptosis otot jantung pada tikus obes menurun setelah diberikan latihan fisik. Metode perlakuan latihan fisik aerobik yang diberikannya pun dilakukan secara bertahap. Ia melatih tikus menggunakan *treadmill* selama 9 minggu. Selama 3 minggu pertama tikus berlari 10m/menit selama 15 menit, kemudian secara bertahap ditingkatkan sampai mencapai 20 m/menit selama 55 min/hari.<sup>35</sup>

Terlepas dari apakah latihan yang diberikan termasuk ringan, sedang atau berat, pada kenyataannya latihan fisik termasuk juga latihan fisik aerobik menyebabkan perubahan hemodinamik dan beban kerja pada jantung. Respon akut yang terjadi berupa peningkatan konsumsi oksigen, denyut jantung, volume sekuncup dan curah jantung serta aliran balik vena. Apabila latihan fisik ini dilakukan dalam jangka waktu yang lama maka akan terjadi suatu respon terhadap peningkatan volume berlebih pada ventrikel kiri tersebut berupa hipertrofi jantung. Pada atlet perubahan morfometrik jantung ini dikenal dengan istilah “jantung atlet”.<sup>36,37</sup>

Dari Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Dewi Nirmala Sari dkk (2012) dengan menggunakan sampel dan jenis perlakuan yang sama memperlihatkan bahwa latihan fisik aerobik yang dilakukan pada penelitian ini mengakibatkan hipertrofi ventrikel kiri jantung tikus.

Maron dan Pellicia (2006) menyatakan bahwa latihan fisik akan mengakibatkan 50% atlet mengalami perubahan ukuran pada ventrikel kiri jantung berupa peningkatan ukuran diameter dan tebal ventrikel kiri.<sup>36</sup> Hipertrofi jantung yang terjadi pada atlet tersebut merupakan respon fisiologis, namun hipertrofi jantung yang disebut adaptasi fisiologis terhadap latihan fisik, nyatanya dapat pula berupa adaptasi yang maladaptif yang mengakibatkan berbagai disfungsi jantung seperti aritmia, gagal jantung serta kematian mendadak pada atlet. Nampaknya aritmia, gagal jantung serta kematian mendadak yang dapat terjadi pada atlet berhubungan dengan adanya apoptosis (kematian sel) pada kardiomyosit tersebut. Beberapa penelitian menyatakan terdapat hubungan antara

hipertrofi jantung dengan kejadian apoptosis pada jantung, hipertrofi dan apoptosis dapat terjadi secara bersamaan terutama saat gagal jantung.<sup>35,38</sup>

Olivetti dkk (1997) (melabel nukleus miosit dengan dUTP) memperlihatkan pada gagal jantung kongestif terdapat 232 miosit yang mengalami apoptosis dari 100.000 sel, sedangkan pada jantung iskemik terdapat 242 miosit yang mengalami apoptosis dari 100.000 sel.<sup>39</sup>

## 5.2 Pengaruh Program Henti-Latih Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Tikus

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik yang diikuti dengan henti-latih lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok latihan aerobik tanpa diikuti dengan program henti-latih meskipun peningkatannya tidak bermakna secara statistik. Hal ini memperlihatkan bahwa program henti-latih selama 4 minggu yang dilakukan pasca latihan aerobik (baik latihan aerobik 4 minggu maupun 12 minggu) meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.

Pada saat dilakukan henti-latih terjadi penurunan keseluruhan atau sebagian adaptasi organ sistem (dari aspek anatomi maupun fisiologi) oleh karena latihan fisik, yang terjadi setelah suatu periode istirahat.<sup>40</sup>

Pada saat seseorang melakukan latihan fisik aerobik, yang diharapkan adalah terjadinya peningkatan kapasitas antioksidan tubuh sehingga dapat menangkalkan efek buruk dari radikal bebas. Redaman terhadap radikal bebas ini pada akhirnya diharapkan dapat mencegah terjadinya apoptosis kardiomyosit. Selain itu dengan melakukan latihan fisik aerobik diharapkan terjadi peningkatan protein protektif stress (*protective stress-sensitive protein*), termasuk didalamnya *nuclear factor kappa B* (NF- $\kappa$ B), *insuline-like growth factor* (IGF-1) dan *heat shock protein* (HSP90 dan HSP70). Protein protektif stress ini pun dapat meredakan kejadian apoptosis pada sel.<sup>8,27</sup>

Pada penelitiannya Su SH dkk (2011) melakukan penelitian mengenai pengaruh latihan fisik dan henti-latih terhadap apoptosis neutrofil. Di dalam penelitiannya Su SH dkk membandingkan apoptosis neutrofil sebelum latihan, setelah latihan dan setelah diberikan henti-latih, hasilnya menunjukkan bahwa

dibandingkan dengan pra-latihan, neutrofil yang dikumpulkan setelah latihan menunjukkan penurunan tingkat apoptosis, yang sebagian kembali setelah henti latih.<sup>40</sup> Meskipun berbeda sel yang diamati, kemungkinan alasan dari hasil yang didapat pada penelitian ini sama seperti pada penelitian Su SH dkk, apoptosis sel kembali atau bahkan lebih tinggi dari kondisi kontrol dan pasca latihan karena program henti-latih ini menurunkan keseluruhan atau sebagian adaptasi organ sistem termasuk kemampuan tubuh untuk membentuk antioksidan endogenya dan protein protektif stress.

Liu dkk (2004) menunjukkan henti-latih selama 1 minggu setelah 3 minggu latihan menurunkan ekspresi HSP72 dalam otot manusia. Penelitian terbaru lainnya, memperlihatkan 8 minggu henti-latih menurunkan level HSP27 dan level HSP72 pasca henti-latih dibandingkan dengan pasca latihan, walaupun tidak bermakna secara statistik.<sup>42,43</sup>

### **5.3 Pengaruh Lama Latihan Aerobik Terhadap Apoptosis Kardiomyosit Ventrikel Kiri Tikus**

Latihan fisik yang baik adalah latihan fisik yang mendatangkan kesehatan bagi pelakunya, sasaran utamanya adalah memelihara kemampuan aerobik yang telah memadai atau dalam meningkatkan kapasitas aerobik.<sup>12</sup>

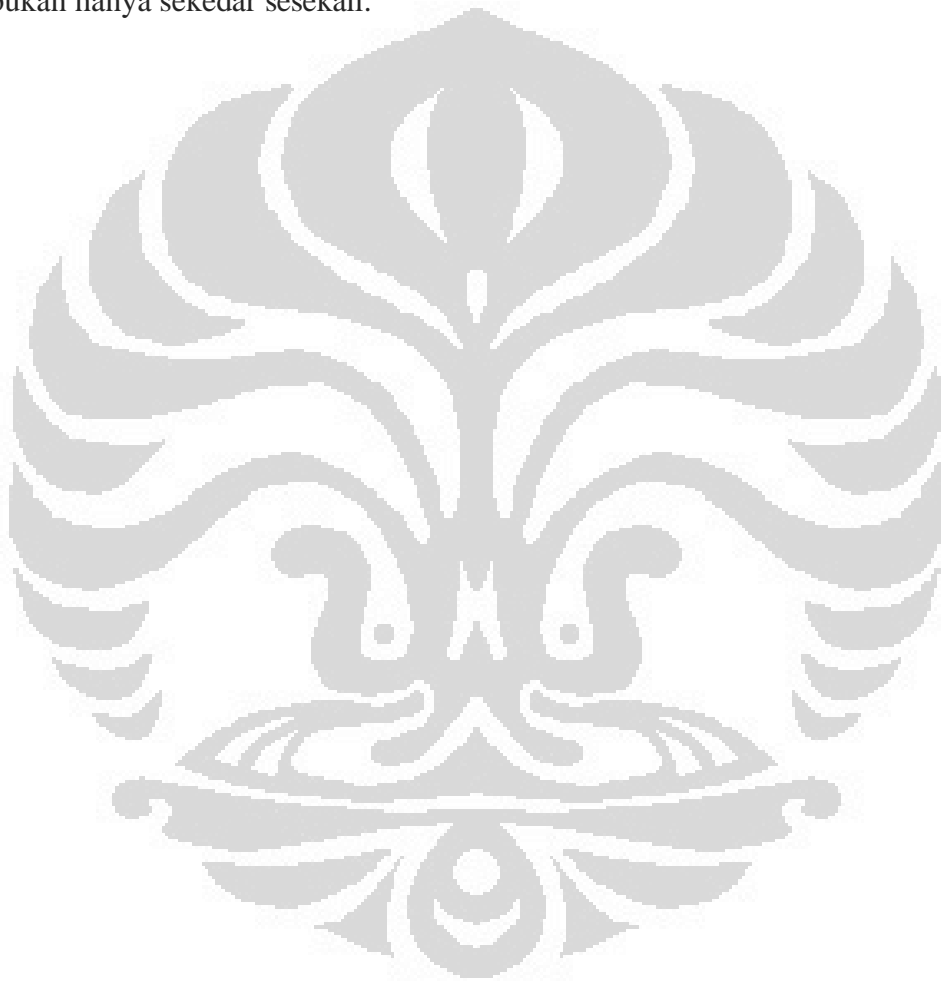
Hasil Penelitian menunjukkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 4 minggu lebih tinggi dari kelompok latihan aerobik 12 minggu. Hal ini menunjukkan bahwa latihan fisik sudah seharusnya dilakukan secara teratur dan berkelanjutan (kronis), bukan hanya sesekali (akut).

Pada hewan yang diberikan latihan fisik kronis memperlihatkan terjadi sedikit kerusakan oksidatif dibandingkan hewan yang tidak terlatih, hal ini terjadi akibat respon adaptif dari latihan fisik jangka panjang. Respon adaptif ini merupakan hasil efek kumulatif dari stimulus latihan fisik yang diberikan berulang dalam jangka waktu lama (kronis).<sup>3</sup>

Selain itu, hasil penelitian juga memperlihatkan rerata persentase ekspresi caspase-3 kelompok latihan aerobik 12 minggu diikuti henti-latih lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok latihan aerobik 4 minggu diikuti henti-latih. Hal tersebut menunjukkan bahwa latihan aerobik yang diberikan secara

berkelanjutan akan memberikan adaptasi yang lebih baik. Meskipun henti-latih dapat mengembalikan profil apoptosis kardiomyosit, namun terlihat ekspresi caspase-3 pada kelompok latihan fisik aerobik yang diberikan selama 12 minggu diikuti henti-latih tetap lebih rendah dibandingkan kelompok 4 minggu latihan diikuti henti-latih.

Oleh karena itu agar kapasitas mekanisme pertahanan antioksidan endogen dalam tubuh menjadi efektif perlu dilakukan latihan fisik yang berkelanjutan, bukan hanya sekedar sesekali.



## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

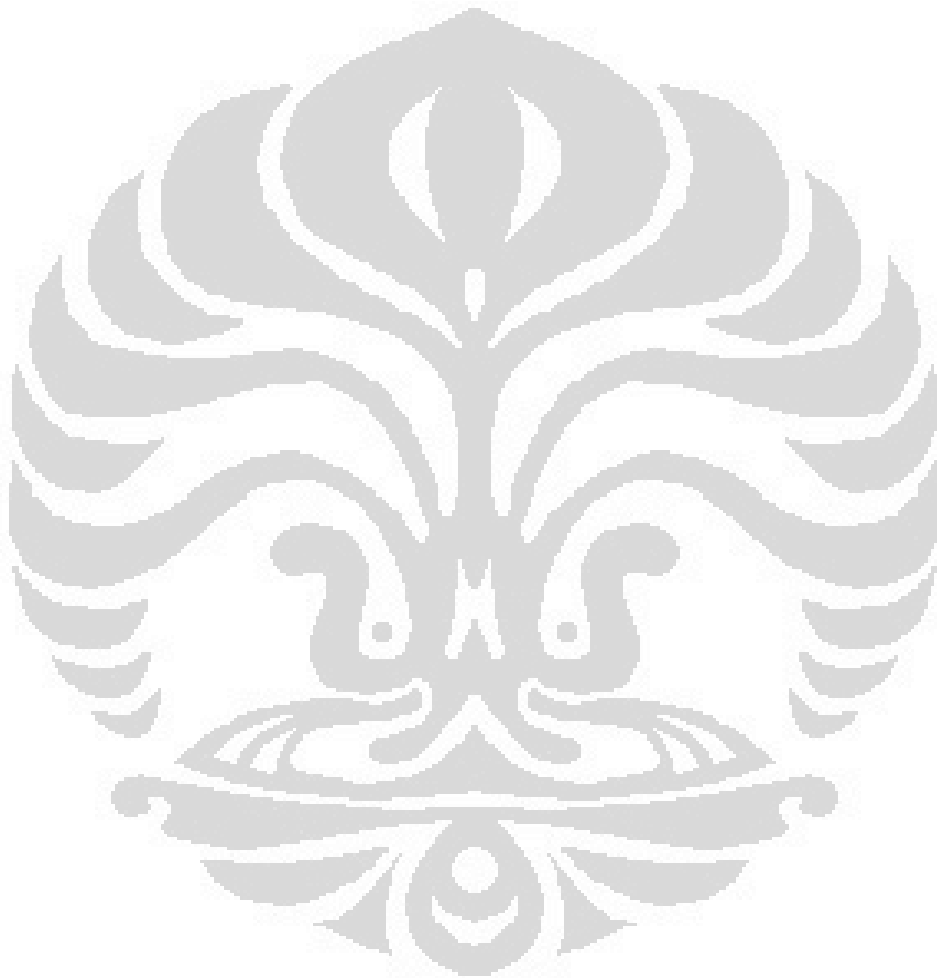
#### **6.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Latihan fisik aerobik 4 minggu meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.
2. Latihan fisik aerobik 12 minggu meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.
3. Program Henti-Latih 4 minggu pasca latihan aerobik 4 minggu tidak meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.
4. Program Henti-Latih 4 minggu pasca latihan aerobik 12 minggu tidak meningkatkan apoptosis kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus.

#### **6.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mendapatkan formula latihan fisik aerobik (baik durasi, kecepatan, frekuensi maupun lama program latihan) agar dapat menilai apoptosis kardiomyosit sebelum dan sesudah latihan. Kaitannya dalam hal menentukan formula latihan fisik untuk masyarakat awam demi meningkatkan kesehatan dan kebugaran tubuh.
2. Penelitian selanjutnya mengenai pengaruh latihan fisik aerobik terhadap apoptosis jantung disarankan dilakukan pemeriksaan kadar antioksidan endogen dan protein protektif stress, agar dapat diketahui dengan jelas mekanisme yang mendasari efek protektif latihan fisik terhadap kejadian apoptosis jantung.
3. Diharapkan penelitian selanjutnya mengenai pengaruh latihan fisik aerobik terhadap apoptosis jantung dapat diperiksa parameter fisiologisnya seperti EKG untuk mengetahui efek langsung terhadap fungsi jantung.



### DAFTAR PUSTAKA

1. Giam CK, Teh KC. Ilmu kedokteran olahraga. Diterjemahkan oleh Satmoko H. Jakarta: Binarupa Aksara; 1993.
2. The American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart Disease and Stroke Statistics 2009 Update: A

- Report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2009; 119: e21 – e181.
3. Gomez Cabrera MC, Domenech E, Vina J. Moderate exercise is an antioxidant: upregulating of antioxidant genes by training. *Elsevier*. 2007;44(2008):126-131.
  4. Berzosa C et al. Acute exercise increase plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men. *Journal of Biomeicine and Biotechnology*. 2011.
  5. Mooren FC, Volker K, editor. *Molecular and cellular exercise physiology*. USA: Human Kinetics; 2005.
  6. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. *Med Scie Sports Exerc*. 2001;33:393-396.
  7. Dyspersyn GGD, Borgers M. Apoptosis in the heart: about programmed cell death and survival. *News Physiol Sci*. 2001;16volume:41-47.
  8. Siu PM, Bryner RW, Martyn JK, Alway SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB*. 2004;18:1150-52.
  9. Kwak HB, Song W, Lawler JM. Exercise training attenuates age-induced elevation in Bax/Bcl-2 ratio, apoptosis, and remodeling in the rat heart. *FASEB J*. 2006;20:791-93.
  10. Kwak HB. Effect of aging and exercise training on apoptosis in the heart. *JER*. 2013;9:212-19.
  11. Afriwardi. *Ilmu kedokteran olahraga*. Jakarta:EGC;2010.
  12. Giriwijoyo S, Sidik D. *Ilmu faal olahraga (Fisiologi Olahraga)*. Bandung:PT Remaja Rosdakarya;2012.
  13. Sherwood L. *Human Physiology. From Cells to System*. 7 ed;2010.
  14. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*, 11<sup>th</sup> ed. Elsevier Saunders, Philadelphia, Pennsylvania. 2006;530829832.
  15. Wang J. Exercise prescription and thrombogenesis. *Journal of Biomedical Science*. 2006;13:753-761.
  16. Elmore S. Apoptosis: A review of programmed cell death. *toxicol pathol*. 2007;35:495-516.
  17. Hadi RS. Mekanisme apoptosis pada regresi sel luteal. *Pharma Medika*. 2011;1(3).
  18. Soini Y, Paakko P, Lehto V-P. Histopathological evaluation of apoptosis in cancer. *AJP*. 1998;4(153):1041-1052.
  19. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *CA Cancer J Clin*. 2005;55:178-94.
  20. Zeiss CJ. The Apoptosis-necrosis Continuum: insights from genetically altered mice. *Vet Pathol*. 2003;40:481-95.

21. Igney FH, Krammer PH. Death and anti death:tumor resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer*. 2002;2:277-88.
22. Weinberg RA. P53 and apoptosis:master guardian and executioner. Dalam *The Biology of Cancer*. New York, Garland Sc. 2007:307-56.
23. Chao DT, Korsmeyer, S.J. 1998. Bcl-2 Family : Regulator of cell death. *Annu.Rev.Immunol*. 16:395-419.
24. Adams, J.M. and Cory, S. 1998. The Bcl-2 protein family : arbiter of cell survival. *Science*. 281: 1322-1325.
25. Sabbah HN. Apoptotic Cell death in heart failure. *Cardiovasc Res*. 2000;45:696.
26. Taimor G, Hofstaetter B, Piper HM. Apoptosis induction by NO in adult cardiomyocytes via cGMP-signaling and Its impairment after simulated ischemia. *Cardiovasc Res*. 2000;45:588.
27. Simon HU, Haj-Yehia A, Levi-Schaffer F. Role of Reactive oxygen species (ROS) in apoptosis induction. *Apoptosis*. 2000;5:415-418.
28. Powers SK, Lennon SL, Quindry J, Mehta JL. Exercise and cardioprotection. *Curr Opin Cardiol* 2002;17:495-502.
29. Winarsi H. Antioksidan alami dan radikal bebas. Cetakan I.Yogyakarta:Kanisius;2007.
30. Kerksick C, Willoughby D. The antioxidant role of glutathione and N-acetyl-cysteine supplements and exercise-induced oxidative stress. *Journal of the international society of sport nutrition*.2005;2(2):38-44.
31. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Biokimia kedokteran dasar sebuah pendekatan klinis. Diterjemahkan oleh Pendit BU. Jakarta.EGC;2000.
32. Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Pallardo FV, Sastre J, Ji LL, Vina J. Decreasing xanthine oxidase-mediated oxidative stress prevents useful cellular adaptations to exercise in rats. *J Physiol*. 2005; 567:113-120.
33. Ji LL, Gomez-Cabrera MC, Steinhafel N, Vina J. Acute exercise activates nuclear factor (NF)-kappaB signaling pathway in rat skeletal muscle. *FASEB J*. 2004;18:1499-1506.
34. Muthusamy VR et al. Acute exercise stress activates Nrf2/ARE signaling and promote antioxidant mechanisms in the myocardium. *Elsevier*.2012;52(2):366-376.
35. Kokawa K, Shikone T, Otani T, Nishiyama R, Ishii Y, Yagi S, et al. Apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 in hyperplasia and adenocarcinoma of the uterine endometrium. *Hum Reprod*. 2001;16:2211-18.
36. Peterson JM, Bryner RW, Sindler A, Frisbee JC, Alway SE. Mitochondrial apoptotic signaling is elevated in cardiac but not skeletal muscle in the obese Zucker rat and is reduced with aerobic exercise. *J Appl Physiol*. 2008;105:1934-1943.

37. Maron B.J, Pellicia A. The Heart of trained athletes : cardiac remodelling and the risk of sports, including sudden death.Circulation.2006;114:1633-1644.
38. Fagard R. Athlete's heart. Br Heart J. 2003;89;1455-61
39. Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA et al. Apoptosis in the failing human heart. N Eengl J Med.1997;336:1131-41.
40. Maximilian BL, Vela D. Cardiomyocytes death and renewel in the normal and diseased heart. Cardiovasc Pathol. 2008;17(6):349-374.
41. Mujika I, Padilla S. Detraining: loss of training-induced physiological and performance adaptations Part I. Sports Medicine. 2000;30(2):79-87.
42. Su SH, Jen CJ, Chen HI. NO signaling in exercise training-induced anti-apoptotic effects in human neutrophils. BBRC.2011;405(1):58-63.
43. Gjovaag TF, Dahl HA. Effect of training and detraining on the expression of heat shock proteins in m.triceps brachii of untrained males and females. Eur J Appl Physiol.2006;98:310-322.
44. Liu Y, Lormes W, Wang L, Reissnecker S, Steinacker JM. Different skeletal muscle hsp70 responses to high-intensity strength training and low-intensity endurance training. Eur J Appl Physio.2004;91:330-335.

Lampiran 1. Hasil Analisis Statistik

### Uji Normalitas

### Tests of Normality

	Kelompok penelitian	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen Positif apoptosis pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus	aerobik 4 minggu	.284	4	.	.887	4	.371
	aerobik 12 minggu	.245	4	.	.917	4	.521
	aerobik detrain 4 minggu	.278	4	.	.883	4	.352
	aerobik detrain 12 minggu	.237	4	.	.938	4	.640
	kontrol 4 minggu	.281	4	.	.939	4	.646
	kontrol 12 minggu	.304	4	.	.832	4	.173
	kontrol 8 minggu	.285	4	.	.817	4	.137
	kontrol 16 minggu	.247	4	.	.927	4	.576

a. Lilliefors Significance Correction

### Uji Homogenitas

#### Test of Homogeneity of Variances

Persen Positif apoptosis pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.687	7	24	.058

#### Descriptives

Persen Positif apoptosis pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
aerobik 4 minggu	4	65.3811	2.54031	1.27016	61.3389	69.4233	63.22	69.00
aerobik 12 minggu	4	41.8193	3.21161	1.60580	36.7089	46.9297	38.27	45.07
aerobik detrain 4 minggu	4	66.5562	1.88542	.94271	63.5561	69.5563	64.17	68.13
aerobik detrain 12 minggu	4	45.0477	1.50009	.75004	42.6607	47.4346	43.30	46.56
kontrol 4 minggu	4	6.4074	1.78077	.89039	3.5738	9.2410	4.09	8.43
kontrol 12 minggu	4	5.7205	.87593	.43796	4.3267	7.1143	4.45	6.37
kontrol 8 minggu	4	8.6494	3.59553	1.79776	2.9281	14.3707	5.29	12.15
kontrol 16 minggu	4	7.3575	2.06330	1.03165	4.0743	10.6406	5.33	9.76
Total	32	30.8674	25.64195	4.53290	21.6225	40.1123	4.09	69.00

#### ANOVA

Persen Positif apoptosis pada kardiomiosit ventrikel kiri jantung tikus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	20251.702	7	2893.100	529.677	.000
Within Groups	131.088	24	5.462		
Total	20382.790	31			

multiple Comparison

ependent Variable: Persen Positif apoptosis pada kardiomyosit ventrikel kiri jantung tikus

LSD

(I) Kelompok penelitian	(J) Kelompok penelitian	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
aerobik 4 minggu	aerobik 12 minggu	23.56179*	1.65258	.000	20.1510	26.9725
	aerobik detrain 4 minggu	-1.17508	1.65258	.484	-4.5858	2.2357
	aerobik detrain 12 minggu	20.33345*	1.65258	.000	16.9227	23.7442
	kontrol 4 minggu	58.97370*	1.65258	.000	55.5629	62.3844
	kontrol 12 minggu	59.66061*	1.65258	.000	56.2499	63.0714
	kontrol 8 minggu	56.73174*	1.65258	.000	53.3210	60.1425
	kontrol 16 minggu	58.02365*	1.65258	.000	54.6129	61.4344
aerobik 12 minggu	aerobik 4 minggu	-23.56179*	1.65258	.000	-26.9725	-20.1510
	aerobik detrain 4 minggu	-24.73687*	1.65258	.000	-28.1476	-21.3261
	aerobik detrain 12 minggu	-3.22834	1.65258	.063	-6.6391	.1824
	kontrol 4 minggu	35.41190*	1.65258	.000	32.0012	38.8227
	kontrol 12 minggu	36.09882*	1.65258	.000	32.6881	39.5096
	kontrol 8 minggu	33.16995*	1.65258	.000	29.7592	36.5807
	kontrol 16 minggu	34.46186*	1.65258	.000	31.0511	37.8726
aerobik detrain 4 minggu	aerobik 4 minggu	1.17508	1.65258	.484	-2.2357	4.5858
	aerobik 12 minggu	24.73687*	1.65258	.000	21.3261	28.1476
	aerobik detrain 12 minggu	21.50853*	1.65258	.000	18.0978	24.9193
	kontrol 4 minggu	60.14877*	1.65258	.000	56.7380	63.5595
	kontrol 12 minggu	60.83569*	1.65258	.000	57.4249	64.2464
	kontrol 8 minggu	57.90681*	1.65258	.000	54.4961	61.3176
	kontrol 16 minggu	59.19873*	1.65258	.000	55.7880	62.6095
aerobik detrain 12 minggu	aerobik 4 minggu	-20.33345*	1.65258	.000	-23.7442	-16.9227
	aerobik 12 minggu	3.22834	1.65258	.063	-.1824	6.6391
	aerobik detrain 4 minggu	-21.50853*	1.65258	.000	-24.9193	-18.0978
	kontrol 4 minggu	38.64025*	1.65258	.000	35.2295	42.0510
	kontrol 12 minggu	39.32716*	1.65258	.000	35.9164	42.7379
	kontrol 8 minggu	36.39829*	1.65258	.000	32.9875	39.8090
	kontrol 16 minggu	37.69020*	1.65258	.000	34.2795	41.1009
kontrol 4 minggu	aerobik 4 minggu	-58.97370*	1.65258	.000	-62.3844	-55.5629
	aerobik 12 minggu	-35.41190*	1.65258	.000	-38.8227	-32.0012
	aerobik detrain 4 minggu	-60.14877*	1.65258	.000	-63.5595	-56.7380
	aerobik detrain 12 minggu	-38.64025*	1.65258	.000	-42.0510	-35.2295
	kontrol 12 minggu	.68691	1.65258	.681	-2.7238	4.0977
	kontrol 8 minggu	-2.24196	1.65258	.188	-5.6527	1.1688
	kontrol 16 minggu	-.95004	1.65258	.571	-4.3608	2.4607
kontrol 12	aerobik 4 minggu	-59.66061*	1.65258	.000	-63.0714	-56.2499

minggu	aerobik 12 minggu	-36.09882*	1.65258	.000	-39.5096	-32.6881
	aerobik detrain 4 minggu	-60.83569*	1.65258	.000	-64.2464	-57.4249
	aerobik detrain 12 minggu	-39.32716*	1.65258	.000	-42.7379	-35.9164
	kontrol 4 minggu	-.68691	1.65258	.681	-4.0977	2.7238
	kontrol 8 minggu	-2.92887	1.65258	.089	-6.3396	.4819
	kontrol 16 minggu	-1.63696	1.65258	.332	-5.0477	1.7738
kontrol 8 minggu	aerobik 4 minggu	-56.73174*	1.65258	.000	-60.1425	-53.3210
	aerobik 12 minggu	-33.16995*	1.65258	.000	-36.5807	-29.7592
	aerobik detrain 4 minggu	-57.90681*	1.65258	.000	-61.3176	-54.4961
	aerobik detrain 12 minggu	-36.39829*	1.65258	.000	-39.8090	-32.9875
	kontrol 4 minggu	2.24196	1.65258	.188	-1.1688	5.6527
	kontrol 12 minggu	2.92887	1.65258	.089	-.4819	6.3396
	kontrol 16 minggu	1.29191	1.65258	.442	-2.1188	4.7027
kontrol 16 minggu	aerobik 4 minggu	-58.02365*	1.65258	.000	-61.4344	-54.6129
	aerobik 12 minggu	-34.46186*	1.65258	.000	-37.8726	-31.0511
	aerobik detrain 4 minggu	-59.19873*	1.65258	.000	-62.6095	-55.7880
	aerobik detrain 12 minggu	-37.69020*	1.65258	.000	-41.1009	-34.2795
	kontrol 4 minggu	.95004	1.65258	.571	-2.4607	4.3608
	kontrol 12 minggu	1.63696	1.65258	.332	-1.7738	5.0477
	kontrol 8 minggu	-1.29191	1.65258	.442	-4.7027	2.1188

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran 2. Protokol Pulasan IHK Caspase-3 Abcam Ab4051

No.	Tahap	Waktu
1	Potong Jaringan 4 mm	
2	Keringkan 37°C, panaskan di atas slide warmer 60°C	30 menit
3	Deparafinisasi (Xilol I,II,III)	@ 5 menit
4	Rehidrasi (Alkohol Abs, Alk 96%, Alk 80%)	@ 4 menit
5	Cuci dengan air mengalir	5 menit
6	Blocking endogen peroksida 3%	10 menit
7	Cuci dengan air mengalir	5 menit
8	Pretreatment dengan sitrat buffer pH 6 pada microwave <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cook I, power level 8</li> <li>• Cook II, power level 1</li> </ul>	5 menit 5 menit
9	Dinginkan	30 – 45 menit
10	Cuci dalam PBS/0,1% Tween 20 pH 7,4	2 x 5 menit
11	Blocking buffer (PBS/0,1% Tween 20 + 5% horse serum)	1 jam
12	Antibody primer (anti-caspase-3 antibody) <i>*pengenceran antibodi dengan menggunakan blocking buffer (PBS/0,1% Tween 20 + 5% horse serum)</i>	Overnight
13	Cuci dalam PBS/0,1% Tween 20 pH 7,4	2 x 10 menit
14	Universal Link	20 menit
15	Cuci dalam PBS/0,1% Tween 20 pH 7,4	2x10 menit
16	TrekAvidin-HRP label	10 menit
17	Cuci dalam PBS/0,1% Tween 20 pH 7,4	3 x 10 menit
18	Chromogen DAB	50 detik
19	Cuci dengan air mengalir	15 menit
20	Counterstain dengan hematoxylin	1 – 2 menit
21	Cuci dengan air mengalir	5 menit
22	Lithium carbonat jenuh (5% dalam aquades)	1 menit
23	Cuci dengan air mengalir	3 menit
24	Dehidrasi (Alk 80%, Alk 96%, Alk Abs)	@ 5 menit
25	Clearing (Xylol I,II,III)	@ 5 menit
26	Mounting dengan entelan dan tutup dengan cover glass	

### Lampiran 3. Data Hasil Perhitungan Caspase-3

SAMPEL	Lapang Pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml Total Sel	RATA-RATA
12 AR 2	1	39	42	81	41%
	2	27	20	47	
	3	30	77	107	
	4	26	42	68	
	5	33	69	102	
	Total	155	250	405	
12 AR 3	1	23	54	77	46%
	2	31	43	74	
	3	43	25	68	
	4	38	27	65	
	5	25	46	71	
	Total	160	195	355	
12 AR 5	1	31	56	87	40%
	2	27	53	80	
	3	32	43	75	
	4	37	52	89	
	5	39	45	84	
	Total	166	249	415	
12 AR 6	1	32	64	96	46%
	2	26	43	69	
	3	54	10	64	
	4	26	60	86	
	5	25	31	56	
	Total	163	208	371	
AR 4 m 1	1	44	23	67	64%
	2	35	47	82	
	3	46	21	67	
	4	53	23	76	
	5	54	21	75	
	Total	232	135	367	
AR 4 M 2	1	43	21	64	69%
	2	56	24	80	
	3	63	31	94	
	4	59	27	86	
	5	55	21	76	
	Total	276	124	400	
AR 4 M 3	1	44	26	70	65%
	2	56	23	79	
	3	47	33	80	
	4	64	26	90	
	5	49	31	80	
	Total	260	139	399	
AR 4 M 5	1	37	43	80	64%
	2	58	26	84	
	3	66	28	94	
	4	48	22	70	
	5	54	28	82	
	Total	263	147	410	

SAMPEL	Lapang Pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml Total Sel	RATA-RATA
AR 4 MD 1	1	31	15	46	68%
	2	40	27	67	
	3	36	22	58	
	4	55	13	68	
	5	42	19	61	
	Total	204	96	300	
AR 4 MD 2	1	27	19	46	64%
	2	35	21	56	
	3	37	26	63	
	4	49	21	70	
	5	49	23	72	
	Total	197	110	307	
AR 4 MD 3	1	48	15	63	68%
	2	39	17	56	
	3	26	21	47	
12 MD AR 1	1	23	34	57	44%
	2	30	37	67	
	3	23	27	50	
	4	26	31	57	
	5	31	38	69	
	Total	133	167	300	
12 MD AR 3	1	28	22	50	48%
	2	35	43	78	
	3	27	31	58	
	4	25	30	55	
	5	32	36	68	
	Total	147	162	309	
12 MD AR 6	1	24	37	61	47%
	2	27	33	60	
	3	31	42	73	

	4	39	19	58	
	5	34	15	49	
	Total	186	87	273	
AR 4 MD 6	1	35	17	52	66%
	2	47	21	68	
	3	41	23	64	
	4	36	27	63	
	5	48	19	67	
	Total	207	107	314	

	4	26	25	51	
	5	34	26	60	
	Total	142	163	305	
12 MD AR 7	1	45	38	83	46%
	2	33	29	62	
	3	30	41	71	
	4	34	47	81	
	5	28	44	72	
	Total	170	199	369	

SAMPEL	Lapang pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml total sel	RATA - RATA
K4M1V	1	2	83	85	4%
	2	6	77	83	
	3	8	98	106	
	4	3	85	88	
	5	0	103	103	
	Total	19	446	465	
K4M2V	1	8	85	93	6%
	2	5	73	78	
	3	2	76	78	
	4	9	95	104	
	5	4	69	73	
	Total	28	398	426	
K4M3V	1	9	75	84	8%
	2	1	85	86	
	3	2	47	49	
	4	10	56	66	
	5	8	63	71	
	Total	30	326	356	
K4M4V	1	4	112	116	7%
	2	6	81	87	
	3	13	84	97	
	4	4	87	91	
	5	5	93	98	
	Total	32	457	489	

SAMPEL	Lapang pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml total sel	RATA - RATA
K12M1V	1	3	63	66	4%
	2	12	72	84	
	3	0	68	68	
	4	0	71	71	
	5	2	91	93	
	Total	17	365	382	
K12MV2	1	5	56	61	7%
	2	8	68	76	
	3	7	58	65	
	4	3	67	70	
	5	0	89	89	
	Total	23	338	361	
K12M4V	1	0	73	73	5%
	2	0	67	67	
	3	11	75	86	
	4	3	83	86	
	5	13	109	122	
	Total	27	407	434	
K12MV5	1	0	52	52	5%
	2	8	92	100	
	3	9	67	76	
	4	3	79	82	
	5	4	97	101	
	Total	24	387	411	

SAMPEL	Lapang Pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml Total Sel	RATA - RATA
--------	----------------	---------	---------	---------------	-------------

SAMPEL	Lapang Pandang	POSITIF	NEGATIF	Jml Total Sel	RATA - RATA
--------	----------------	---------	---------	---------------	-------------

K4MD2	1	6	77	83	5%
	2	0	68	68	
	3	5	83	88	
	4	7	53	60	
	5	0	41	41	
	Total	18	322	340	
K4MD3	1	8	56	64	11%
	2	18	76	94	
	3	2	89	91	
	4	12	93	105	
	5	9	69	78	
	Total	49	383	432	
K4MD4	1	2	55	57	6%
	2	3	64	67	
	3	5	69	74	
	4	4	77	81	
	5	6	59	65	
	Total	20	324	344	
K4MD5	1	11	53	64	12%
	2	7	59	66	
	3	7	54	61	
	4	10	73	83	
	5	8	72	80	
	Total	43	311	354	
K12MD 2	1	6	71	77	8%
	2	1	75	76	
	3	2	83	85	
	4	11	77	88	
	5	14	67	81	
	Total	34	373	407	
K12MD 3	1	7	73	80	10%
	2	9	65	74	
	3	8	71	79	
	4	14	83	97	
	5	3	87	90	
	Total	41	379	420	
K12MD 4	1	5	67	72	6%
	2	0	97	97	
	3	6	63	69	
	4	13	74	87	
	5	0	76	76	
	Total	24	377	401	
K12MD 5	1	6	53	59	5%
	2	1	59	60	
	3	3	67	70	
	4	5	57	62	
	5	2	66	68	
	Total	17	302	319	

## BAB 1 RIWAYAT HIDUP

---

### DATA DIRI

Nama lengkap : Mustika Anggiane Putri  
Tempat/tanggal lahir : Jakarta, 26 Desember 1987  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Status : Menikah  
Alamat rumah : Jl.Mawar Merah V, No.104 – Malaka Jaya  
-Duren Sawit, Jakarta Timur 13460  
No. telepon / Fax : 021 - 8609467  
Handphone : 085217173917  
Alamat email : mine.inge@gmail.com



### PENDIDIKAN FORMAL

NO	PENDIDIKAN	Lama Pendidikan	Tempat
1.	Dokter Umum	2005 - 2010	PSPD FKIK Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
2.	SMA	2002 – 2005	SMA Negeri 12 Jakarta
3.	SMP	1999 - 2002	SMP Negeri 18 Bandung
4.	SD	1993 - 1999	SDN No.1 Padang Sambian, Denpasar, Bali

**PELATIHAN PROFESIONAL**

Tahun	Jenis Pelatihan( Dalam/ Luar Negeri)	Penyelenggara
2012	Pelatihan ACLS ( <i>Advanced Cardiac Life Support</i> )	PERKI HOUSE Jakarta
2012	Pelatihan EKG	RS Jantung Harapan Kita Jakarta
2013	Pelatihan ATLS ( <i>Advance Trauma Life Support</i> )	IKABI

**PENGALAMAN PENELITIAN**

Tahun	Judul Penelitian	Ketua/anggota Tim	Sumber Dana
2009	Prevalensi Epilepsi di Poliklinik Saraf RSUP Fatmawati Jakarta Pada Tahun 2004-2008	PENELITI UTAMA	Pribadi

**KEGIATAN ILMIAH**

**A. Seminar / Simposium / Kongres (sebagai peserta, panitia, moderator atau co-moderator)**

**KONFERENSI/SEMINAR/LOKAKARYA/SIMPOSIUM**

Tahun	Judul Kegiatan	Penyelenggara	Panitia/ peserta/pembicara
2011	Symposium Pertemuan Ilmiah Respirologi (PIR) PDPI Banten " <i>Achieving Good Management on Respiratory Problems</i> "	PDPI Banten	Peserta

2011	Seminar “Rehabilitasi Medik Pada Nyeri Tengukuk ( <i>Upper Back Pain</i> ), <i>Low Back Pain</i> dan Vertigo”	RSUD Berkah Pandeglang	Peserta
------	---	------------------------	---------

#### RIWAYAT PEKERJAAN

Tahun	Nama Instansi	Jabatan
Mei 2011–De 2011	RSUD Berkah Pandeglang - Banten	Dokter umum internship
Jan 2011 – April 2012	Puskesmas Panimbang, Pandeglang – Banten	Dokter umum internship
2012 - Sekarang	FKIK UIN Jakarta	Dosen kontrak
2012 - Sekarang	Dokter Praktek Klinik	Klinik Putewa

#### SUMBER DANA PENELITIAN

1. Proyek Penelitian dr. Dewi Irawati SS, M.S
2. Beasiswa HPEQ
3. Dana Pribadi