



**PENGARUH LATIHAN TREADMILL DAYA TAHAN TERHADAP DIAMETER OTOT
MELALUI EKSPRESI IGF-1 DAN PAX7 PADA OTOT LURIK TIKUS WISTAR**

Ratus Norvegicus

TESIS



Mustofa

166070100111002

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018



**PENGARUH LATIHAN TREADMILL DAYA TAHAN TERHADAP DIAMETER OTOT
MELALUI EKSPRESI IGF-1 DAN PAX7 PADA OTOT LURIK TIKUS WISTAR**

RatusNorvegicus

TESIS

Mustofa

166070100111002

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIS

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018



TESIS

PENGARUH LATIHAN DAYA TAHAN TREADMILL TERHADAP DIAMETER OTOT MELALUI EKSPRESI IGF-1 DAN PAX7 PADA OTOT LURIK TIKUS WISTAR *Ratus*

Norvegicus

Oleh :
Mustofa

Dipertahankan di depan penguji
Pada Tanggal : Agustus 2018
Dan dinyatakan memenuhi syarat

Komisi Pembimbing :

Dr.dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA,
Ketua

Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D
Anggota

Penguji,

Prof.Dr.M.Mulyohadi Ali,Sp.FK
Penguji 1

Dr.dr.Umi Kalsum,M.Kes
Penguji 2

Malang,
Universitas Brawijaya
Fakultas Kedokteran
Dekan,

Dr.dr. Sri Andarini, M.Kes
NIP: 195804141987012001
IDENTITAS TIM PENGUJI

**JUDUL TESIS**

PENGARUH LATIHAN TREADMILL DAYA TAHAN TERHADAP DIAMETER OTOT MELALUI EKSPRESI IGF-1 DAN PAX7 PADA OTOT LURIK TIKUS WISTAR *Ratus Norvegicus*

Nama Mahasiswa : Mustofa

NIM : 166070100111002

Program Studi : Magister Ilmu Biomedik

Minat : Fisiologi dan Histologi

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Dr.dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA,

Anggota : Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : Prof.Dr.M.Mulyohadi Ali,Sp.FK

Dosen Penguji 2 : Dr.dr.Umi Kalsum,M.Kes

Tanggal Ujian Tesis :

SK Penguji :

RINGKASAN

Mustofa NIM 166070100111002. Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Agustus 2018. Pengaruh Latihan Treadmill Daya Tahan Terhadap Diameter Otot Melalui Ekspresi IGF-1 Dan PAX7 Pada Otot Lurik Tikus Wistar *Ratus Norvegicus*. Komisi Pembimbing Ketua: Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, Anggota: Dr. Agustina Tri Endharti, S.si, Ph.D.

Olahraga merupakan upaya rehabilitasi tubuh agar seluruh koordinasi jaringan dan organ lebih kuat dan tahan lama. Namun penentuan intensitas latihan yang tepat untuk olahraga rehabilitasi masih belum ditemukan. Selain itu bila olahraga yang dilakukan terlalu ringan maka tidak akan mencapai tahap adaptasi, namun bila olahraga yang dilakukan terlalu berat malah berakibat fatal.

Penelitian ini menguji pengaruh latihan daya tahan treadmill terhadap faktor pertumbuhan Insulin Growth Factor-1 (IGF-1) dan PAX7 terhadap diameter otot lurik anterior tibialis pada tikus wistar. Upaya ini dilakukan untuk memahami pola diameter otot melalui ekspresi IGF-1 dan PAX7 yang diharapkan menjadi dasar penjelasan tentang keseimbangan restorasi jaringan otot. Sehingga perbandingan intensitas latihan tersebut dapat dijadikan rujukan terapis untuk menentukan program latihan rehabilitasi. Peneliti kali ini menggunakan kalkulasi program treadmill rehabilitasi pada tikus wistar dengan validitas VO₂ reserve atau hasil pengurangan VO₂max dan VO₂basal model tikus dengan metode ET (*exercise test*). Dengan kecepatan ET 60% mewakili 72% VO₂ reserve. Jumlah tikus penelitian berjumlah 24 ekor namun yang dilatih dengan treadmill, terdapat tiga kelompok, masing-masing berjumlah 6 tikus, dan 6 ekor sisanya tidak diberikan perlakuan. Kelompok dengan intensitas berat, sedang dan ringan latihan diatur dengan kecepatan 25, 16 dan 10 m/mnt *treadmill* masing-masing.

Pelatihan treadmill dilakukan dalam 5 kali seminggu selama 9 minggu. Pada akhir minggu ke 9, tikus dikorbankan, dan diambil jaringan otot tibialis anterior kemudian dilakukan imunohistokimia. Ekspresi IGF-1 pada latihan intensitas berat 76.33 ± 1.6 , intensitas sedang 61.17 ± 4.6 , intensitas ringan 43.67 ± 2.3 dan pada kelompok tanpa latihan ekspresi IGF-1 33.67 ± 1.0 . Sedangkan ekspresi PAX7 pada latihan intensitas berat 72.5 ± 44.17 , latihan intensitas sedang 139.84 ± 39.29 , latihan intensitas ringan 117.84 ± 37.24 dan kelompok tanpa latihan 93.34 ± 65.89 . Terdapat pengaruh latihan treadmill





terhadap diameter otot lurik dengan rata-rata tertinggi kelompok latihan sedang 2003 \pm 417, latihan ringan 1667 \pm 500, latihan berat 1721 \pm 304 dan kelompok tanpa perlakuan 1115 \pm 175. Terdapat perbedaan signifikan antara kelompok latihan sedang dengan kelompok tanpa latihan pada diameter otot lurik ($p < 0.05$).

Tikus yang diberi *treadmill* dengan intensitas ringan, menunjukkan adanya aktifitas IGF-1 di sarkolema meskipun sedikit, hal ini terjadi karena otot yang diberi stimulus latihan ataupun tidak tetap memiliki persediaan prekursor. Pada latihan intensitas sedang peningkatan IGF-1 otot dan PAX7 memiliki ekspresi yang sama, adanya kerjasama ekspresi antara IGF-1 dan PAX7 akan mendorong aktifitas sel satelit.

Ekspresi IGF 1 otot pada intensitas berat dengan kecepatan 25 mtr/mnt menunjukkan nilai signifikan dan paling tinggi di antara kelompok lainnya.

Adanya tekanan yang tinggi yang dipertahankan dalam waktu tiga puluh menit merupakan jenis latihan berat dan berkepanjangan, sehingga tekanan tersebut dapat dikatakan cenderung stresor. Namun peneliti belum mengetahui apakah tingginya nilai IGF-1 dapat menyebabkan gagalnya kerjasama ekspresi antara agen pertumbuhan IGF-1 dan PAX7 sebagai faktor transkripsinya. Hasil diameter otot setelah diberikan *treadmill* selama 9 minggu menunjukkan adanya peningkatan diameter otot yang signifikan pada kelompok perlakuan intensitas sedang dan ringan.

Hasil penelitian membuktikan bahwa meskipun dengan latihan daya tahan *treadmill* berupa kecepatan tetap merangsang pertumbuhan otot. Namun pada perlakuan intensitas berat rata-rata diameter lebih kecil daripada kelompok perlakuan ringan dan sedang. Hasil ini membuktikan bahwa latihan dengan intensitas berat menyebabkan hambatan pada pertumbuhan diameter otot.

Hasil perbandingan penelitian menunjukkan adanya persamaan ekspresi IGF-1 dan PAX7 seiring dengan intensitas yang diberikan. Pada perlakuan intensitas rendah ke moderat, arah korelasi bersifat positif, namun hanya intensitas tinggi, yang menunjukkan arah korelasi negatif antara IGF-1 dan PAX7. Pada hasil kelompok kontrol PAX7 lebih tinggi daripada kelompok intensitas tinggi.

Hasil data penelitian menunjukkan bahwa pelatihan olahraga ketahanan berupa *treadmill* dengan intensitas berat, sedang dan intensitas ringan dapat

SUMMARY

Mustofa NIM 166070100111002. Biomedical Science Master Program, Medical Faculty, Universitas of Brawijaya Malang, August 2018. Effect of Endurance Treadmill Training on mIGF-1 expression and PAX 7 Satellite Cell in Rat Muscle Tissues. Chief Counselor Commission: Dr. dr. Karyono Mintaroem, Member: Dr. Agustina Tri Endharti, S.si, Ph.D.

Sports is an effort to rehabilitate the body so that all coordination of tissues and organs is stronger and longer lasting. But the determination of the intensity of the right exercise for rehabilitation sports is still not found. In addition, if the exercise is too light, it will not reach the adaptation stage, but if the exercise is too heavy, it will be fatal. This study examined the effect of treadmill endurance exercise on muscle growth factor Insulin Growth Factor-1 (IGF-1) and PAX7 on the diameter of the tibial anterior striated muscle in wistar rats. This effort was made to understand the pattern of muscle diameter through the expression of IGF-1 and PAX7 which is expected to be the basis of an explanation of the balance of muscle tissue restoration. So that the comparison of the intensity of the exercise can be used as a reference for the therapist to determine a rehabilitation exercise program. This time the researcher used the calculation of rehabilitation treadmill program in wistar rats with the validity of VO₂ reserve or the results of VO₂max reduction and VO₂basal mouse model with ET method (exercise test). With an ET speed of 60% representing 72% VO₂ reserve. The number of research rats amounted to 24, but there were three groups trained in treadmills, 6 rats each, and the remaining 6 were not given treatment. The group with severe, moderate and mild intensity exercise was arranged at speeds of 25, 16 and 10 m / min respectively.

Treadmill training is done in 5 times a week for 9 weeks. At the end of the 9th week, rats were sacrificed, and anterior tibial muscle tissue was taken and then immunohistochemistry was carried out. IGF-1 expression in severe intensity exercise was 76.33 ± 1.6 , moderate intensity 61.17 ± 4.6 , mild intensity 43.67 ± 2.3 and in the group without IGF-1 expression exercise 33.67 ± 1.0 . Whereas PAX7 expression on weight intensity exercise was 72.5 ± 44.17 , medium intensity training was 139.84 ± 39.29 , light intensity exercise 117.84 ± 37.24 and group without exercise 93.34 ± 65.89 . There was an effect of treadmill training on striated muscle diameter with the highest average of 2003 ± 417 moderate exercise group, 1667 ± 500 light exercise, 1721 ± 304 weight training and 1115 ± 175 without treatment group. There was a significant difference between the moderate exercise group and the group without exercise on striated muscle diameter ($p < 0.05$). Rat that were given a light intensity treadmill showed that there was little IGF-1 activity in sarcoplasm, this was because the muscles that were given exercise stimuli or did not continue to have precursor supplies. In moderate intensity exercise the increase in muscle IGF-1 and PAX7 have the same expression. the collaboration of expression between IGF-1 and PAX7 will encourage satellite cell activity. Expression of 1 muscle IGF at heavy intensity with a speed of 25 mtr / min showed the highest and highest value among the



other groups. The presence of high pressure which is maintained in thirty minutes is a kind of heavy and prolonged exercise. so that the pressure can be said to be a stressor. However, researchers do not know whether the high value of IGF-1 can cause the failure of the collaboration of expression between IGF-1 growth agents and PAX7 as transcriptional factors. Muscle diameter results after being given a treadmill for 9 weeks showed a significant increase in muscle diameter in the medium and mild intensity treatment groups. These results prove that even though the treadmill endurance exercise in the form of a fixed speed stimulates muscle growth. However, in the treatment the average weight intensity is smaller than the light and medium treatment groups. These results prove that heavy intensity exercise causes obstacles to muscle diameter growth.

Comparative results of the study showed the expression of IGF-1 and PAX7 expression along with the intensity given. At low to moderate intensity treatment, the direction of correlation is positive, but only high intensity, which shows the direction of the negative correlation between IGF-1 and PAX7. In the results of the PAX7 control group higher than the high intensity group. These results indicate that endurance exercise training in the form of treadmills with heavy, medium and light intensity can increase the diameter of striated muscles through IGF-1 and PAX7. These results are associated with muscle tissue hypertrophy and thus with an increase in PAX7 and IGF-1 will increase muscle cell regeneration which is important in the rehabilitation process.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas semua limpahan berkah, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis berjudul **“PENGARUH LATIHAN DAYA TAHAN TREADMILL TERHADAP DIAMETER OTOT MELALUI EKSPRESI IGF-1 DAN PAX7 PADA OTOT LURIK TIKUS WISTAR *Ratus Norvegicus*”** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Penulis menyadari bahwa proses pembuatan tesis ini tidaklah mudah. Banyak pihak yang membantu dan mendukung baik secara moril maupun materil sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik. Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada.

1. Prof. Dr. Ir. Muhammad Bisri, MS selaku Rektor Universitas Brawijaya Malang.
2. Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. dr. Hidayat Sujuti, Ph.D, SpM, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
4. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA selaku ketua pembimbing dan ketua penelitian yang telah memberikan kesempatan bergabung bersama dalam penelitian ini dan senantiasa memberikan banyak ilmu, pengarahan, bimbingan, dukungan moril serta materil sehingga terselesaikannya tesis ini.
5. Dr. Agustina Tri Endharti, S.si, Ph.D. selaku anggota pembimbing yang telah memberikan banyak ilmu, pengarahan, bimbingan, serta bantuannya selama penyelesaian tesis.
6. Prof.dr. Mulyohadi Ali, SpFK selaku ketua tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk membantu dan memberikan ilmunya sebagai masukan, arahan, serta nasihat mulai dari penyusunan proposal hingga terselesaikannya tesis ini.
7. Dr. dr. Umi Kalsum, M.Kes sebagai anggota tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk membantu dan memberikan ilmunya sebagai masukan, arahan, serta nasihat mulai dari penyusunan proposal hingga terselesaikannya tesis ini.
8. Prof. Dr. dr. SANARTOSANTOSO, DTM&H, SpMK yang telah meluangkan waktu untuk membantu dan memberikan ilmunya sebagai masukan, arahan, serta nasihat mulai dari pemberian rekomendasi hingga terselesaikannya tesis ini.
9. Laboran dan Analis Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Biomedik, dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan bimbingannya selama penelitian.



10. Kedua orang tua, dan adik atas segala doa, perhatian, dukungan serta semangat yang telah diberikan kepada penulis selama ini.

11. Teman-teman Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya serta seluruh sahabat tercinta yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tesis.

12. Semua pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung hingga terselesaikannya pendidikan ini.

Semoga Allah, senantiasa membalas segala budi baik yang telah diberikan dalam penyusunan tesis ini. Akhir kata penulis berharap semoga penyusunan tesis ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca. Amin.

Malang, Agustus 2017

Penulis



DAFTAR SINGKATAN

AMPK	: adenosine monophosphate-activated protein kinase
cMET	: tyrosine-protein kinase MET
CD34	: cluster of differentiation 34
CXCR4	: chemokine receptor type 4
DNA	: deoxyribonucleic acid
ERK	: extracellular signal-regulated kinases
EDL	: extensor digitorum longus
ET	: exercise test
FGF	: fibroblast growth factor
HIT	: <i>High Intensity Training</i>
HGF	: hepatocyte growth factor
IGF-1	: Insulin Growth Factor-1
IGFBP	: Insulin Growth Factor Binding Protein 1
IGFR	: Insulin Growth Factor Receptor
IL-6	: Interleukin 6
mTOR	: mammalian target of rapamycin
MyoD	: Myogenic Differentiation
mRNA	: messenger ribo nucleic acid
MGF	: mechano growth factor
NOS	: neuronal nitric oxide synthase
Myf5	: myogenic factor 5
PAX7	: Paired Box Transcription Factor 7
PAX3	: Paired Box Transcription Factor 3
pH	: potential of hydrogen
PI3K	: phosphatidylinositol 3-kinase
PKB	: protein kinase B
RT	: <i>Resistance Training</i>
TSC	: tuberous sclerosis complex
VO ₂ max	: volume oxygen max



DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL.....	iii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR SINGKATAN.....	vi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	5
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2 Manfaat Praktis.....	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Latihan.....	6
2.2 Intensitas Latihan Olahraga.....	7
2.3 Tes Kecepatan Maksimal dapat menggantikan VO ₂ max pada Tikus.....	7
2.4 Program Latihan Treadmill Pada Tikus.....	8
2.5 Latihan Fisik Untuk Olahraga Rehabilitasi.....	9
2.6 Respon dan Adaptasi Latihan.....	10
2.7 Pelatihan untuk mengembangkan sistem energi aerobik dan anaerobik.....	10
2.8 Hubungan antara volume latihan olahraga dan adaptasi.....	11
2.9 Adaptasi olahraga terhadap perubahan otot.....	12
2.10 Keterlibatan Serabut Otot dalam Latihan Olahraga.....	14
2.11 Pelatihan olahraga daya tahan treadmill dengan intensitas ringan, sedang dan berat.....	16
2.12 mIGF-1 (muscle <i>Insulin like Growth Factor 1</i>).....	18
2.13 Pax 7 (Paired Box 7).....	20
2.14 Pax7 sebagai aktivasi dan entry siklus sel regenerasi otot lurik.....	21
2.15 mIGF 1 dan Pax7 pada fase regenerasi otot lurik.....	25
2.16 Diameter Otot Lurik.....	28
2.17 Tibialis Anterior.....	30
2.18 Alat Treadmill Pada Hewan Coba Tikus.....	31



2.19 Kerangka Teori "Dinamika Stimulus Latihan terhadap Aktivasi Pax7 dan Diameter Otot Lurik	33
---	----

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Konsep	34
----------------------------	----

3.2. Hipotesis Penelitian	37
---------------------------------	----

BAB IV METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Jenis/Desain Penelitian	38
-----------------------------------	----

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	38
---------------------------------------	----

4.2.1 Waktu penelitian	38
------------------------------	----

4.2.2 Tempat penelitian	38
-------------------------------	----

4.3 Sampel Penelitian	38
-----------------------------	----

4.3.1 Sampel	38
--------------------	----

4.3.2 Kriteria pemilihan sampel	38
---------------------------------------	----

4.3.2.1 Kriteria inklusi	38
--------------------------------	----

4.3.2.2 Kriteria Eksklusi	39
---------------------------------	----

4.4 Perhitungan Besar Sampel	39
------------------------------------	----

4.4.1 Variabel Penelitian	39
---------------------------------	----

4.4.1.1 Variabel Bebas	39
------------------------------	----

4.4.1.2 Variabel Terikat	39
--------------------------------	----

4.4.1.3 Variabel terkontrol	39
-----------------------------------	----

4.5 Definisi Operasional	
--------------------------------	--

4.5.1 Latihan Intensitas Rendah	40
---------------------------------------	----

4.5.2 Latihan Intensitas Moderat	40
--	----

4.5.3 Latihan Intensitas Tinggi	40
---------------------------------------	----

4.5.4 Ekspresi IGF-1	40
----------------------------	----

4.5.5 Ekspresi PAX 7	41
----------------------------	----

4.6 Prosedur	
---------------------------	--

4.6.1 Prosedur Latihan	41
------------------------------	----

4.6.2 Prosedur penggunaan treadmill	41
---	----

4.6.3 Prosedur Terminasi, Pengambilan Organ	42
---	----

4.7 Alat dan Bahan	42
--------------------------	----

4.7.1 Alat pemeliharaan Binatang Coba	42
---	----

4.7.2 Alat Pembuat Makanan Binatang Coba	42
--	----

4.7.3 Alat Pengambilan Sampel	42
-------------------------------------	----



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Pedoman Latihan Treadmill Tikus untuk program rehabilitasi..... 12

Tabel 5.1 Jumlah ekspresi IGF1 dari 4 kelompok perlakuan..... 60

Tabel 5.2 Jumlah Ekspresi Pax7 dari 4 Kelompok Perlakuan..... 63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kaskasde pensinyalan Ras-ERK.....	26
Gambar 2.2	Respon latihan pada kondisi otot normal dan penuaan.....	20
Gambar 2.3	IGF-1 dan myogenesis saat kompensasi hipertropi	33
Gambar 2.4	Sinergi ablasi menyebabkan pertumbuhan yang cepat pada cadangan sel satelit	34
Gambar 2.5	Otot kaki belakang bagian bawah pada tikus	36
Gambar 2.6	Model Treadmill Tikus dengan 4 jalur	37
Gambar 2.7	Pengaturan tombol pada treadmill tikus	38
Gambar 2.8	Kerangka Teori "Dinamika Stimulus Latihan terhadap Aktivasi Pax7 dan Diameter Otot Lurik	39
Gambar 3.1	Skema Alur Penelitian	40
Gambar 5.1	Pengaruh latihan daya tahan treadmill ringan, sedang dan berat terhadap ekspresi IGF-1 otot lurik Tibialis anterior	63
Gambar 5.2	Perlakuan latihan yang bervariasi meningkatkan ekspresi IGF1 jaringan tibialis anterior tikus	59
Gambar 5.3	Tampilan representatif imunohistokimia tibialis anterior kiri tikus.....	60
Gambar 5.4	Perlakuan latihan yang bervariasi meningkatkan ekspresi Pax7 jaringan tibialis anterior tikus	62
Gambar 5.5	Pengaruh latihan daya tahan treadmill ringan, sedang dan berat terhadap diameter otot lurik tibialis anterior tikus wistar	63



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Laik Etik 90

Lampiran 2. Surat Keterangan Galur Wistar 91

Lampiran 3. Periodisasi Latihan 92

Lampiran 4. Hasil Uji Statistik IGF1 96

Lampiran 5. Hasil Uji Statistik PAX7 102

Lampiran 6. Hasil Uji Statistik Diameter otot 103

Lampiran 7. Hasil Korelasi intensitas dengan IGF1, Pax7 dan Diameter otot lurik 104

Lampiran 8. Langkah menghitung diameter otot menggunakan ImageJ 106

Lampiran 9. Prosedur Penggunaan Treadmill 107

Lampiran 10. Dokumentasi 108

Lampiran 11. Riwayat Hidup 109



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latarbelakang

Salah satu upaya mengurangi penurunan fungsional ketika mengalami penyakit kronik adalah dengan berolahraga. Olahraga merupakan upaya rehabilitasi tubuh secara sistemik agar dapat merangsang seluruh koordinasi kerja organ dan jaringan agar lebih kuat dan tahan lama. Namun penentuan frekuensi latihan yang pas untuk olahraga rehabilitasi masih belum ditemukan. Selain itu bila olahraga yang dilakukan terlalu ringan maka tidak akan mencapai tahap adaptasi, namun bila olahraga yang dilakukan terlalu berat malah berakibat fatal.

Kondisi Atropi, degenerasi neuromuskular junction (Liu, dkk. 2017) dan pasien dengan hemodialisis (Chen, dkk. 2013) memiliki resiko penurunan otot dan *Insulin growth factor-1* (IGF1). Adaptasi hipertropi otot dibutuhkan untuk performa atlet namun juga bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan fungsi otot rangka serta untuk mengatasi kerugian degradasi otot akibat penyakit (Wisdom, dkk. 2014). Olahraga dengan penentuan intensitas yang tepat, terukur dan teratur dapat meningkatkan hipertropi otot (Konopka & Harber. 2014). Menurut Wisdom (2015) perbedaan jenis regangan saat berolahraga memiliki potensi untuk meningkatkan diameter otot. Perbedaan metode dan keterlibatan intensitas yang termuat dalam intensitas latihan, menimbulkan variasi bentuk hasil adaptasi pada pola perkembangan otot. Secara fisiologis. Latihan yang berat akan menyebabkan gangguan fungsional seperti penurunan kekuatan dan kelelahan yang berkepanjangan sebagai akibat kerusakan miofibril (Thiebaud. 2012). Kondisi tersebut selanjutnya menyebabkan proses pemulihan pada kompleks selular membutuhkan waktu yang lama dan dapat memicu terjadinya kegagalan mekanisme coping, sehingga stressor mekanik yang harusnya mampu dikelola tubuh menjadi stimulator dalam membentuk adaptasi sesuai tujuan awal dilaksanakannya olahraga, justru akan menimbulkan jejas dan mengganggu keseimbangan sistem homeostasis muscular intraselular akibat kerusakan miofibril.



Latihan moderat merupakan jenis olahraga dengan intensitas sedang yang didasarkan pada kemampuan individu setara dengan 50-74% kapasitas paru maksimal (Owens, 2013). Latihan moderat memiliki jenis metabolisme energi predominan aerob yang akan memasok kebutuhan energi yang besar dalam jangka waktu yang lama. Hamdi, dkk (2013) menjelaskan bahwa olahraga moderat berupa lari memiliki dampak yang adekuat terhadap adaptasi struktur otot. Teori tersebut diperkuat oleh Shefer (2010) bahwa latihan daya tahan lari dengan periode latihan 13 minggu dengan intensitas moderat, menunjukkan peningkatan jumlah faktor regenerasi sel satelit pada tiap serabut otot tikus usia tua dan muda pada jenis kelamin betina dan jantan. Penelitian yang dilakukan oleh Nederveen dkk. (2015) tentang perbedaan antara olahraga beban atau *Resistance Training* (RE) dan olahraga aerobik intensitas tinggi *High Intensity Training* (HIT), ditemukan adanya peningkatan ekspresi sel satelit, ekspresi MyoD+, dan PAX7+ dengan jenis olahraga RE kedua mRNA tersebut diekspresikan lebih tinggi pada jenis olahraga RE, namun setelah 48 jam prosentase ekspresi MyoD+/PAX7+ memiliki hasil yang sama pada keduanya. Berdasarkan teori dan hasil temuan tersebut, secara tidak langsung dapat disimpulkan bahwa peningkatan diameter otot dalam fungsi biologi selalu melibatkan peran keseluruhan komponen yang berkaitan dengan regenerasi otot.

Proses regenerasi otot diperantarai oleh IGF-1 (McMahon dkk, 2014). Pada saat jaringan otot mengalami cedera, sel satelit akan aktif dan memulai proses perbaikan jaringan. Penelitian (Xie, dkk. 2016) menjelaskan bahwa IGF-1 di otot menjadi immunoreaktif dan terdeteksi pada *myoblast* dan *myotube*, serta sel satelit pada saat proses regenerasi sel. IGF-1 berperan penting pada pertumbuhan sel-sel otot secara anabolik dan mitogenik. IGF-1 bekerja sama dengan sel satelit melalui mediasi autokrin dan parakrin (Liu, dkk, 2010). Sel satelit merupakan prekursor otot yang pada kondisi normalnya bersifat *quiescent* (diam) (Bentzinger dkk, 2013). Sel satelit akan diaktifkan oleh beberapa substansi dalam regenerasi jaringan saat adanya cedera atau adanya aktivasi lain dari sistem tubuh.



Selama otot berkontraksi, secara terus menerus maka tubuh akan selalu menyediakan kebutuhan sesuai dengan sinyal yang ditimbulkan oleh aktivitas intrasel otot untuk mempertahankan keseimbangan fungsi normalnya. Dalam hal ini sel satelit akan diaktifkan untuk berproliferasi dan berdiferensiasi sebagai respon kebutuhan rutin tubuh dan kebutuhan hipertropi dan restorasi (Riuzzi, dkk. 2012). Menurut Guo, dkk(2012) indikator yang digunakan untuk mengetahui profil sel satelit yaitu *paired box transcription factor 7* (PAX7). Sel satelit berproliferasi mengaktifkan myoblast, pada tahap ini PAX7 tetap berekspresi dan meningkatkan ekspresi MyoD (*myogenic differentiation*) yang berfungsi sebagai faktor transkripsi khusus, pada saat myoblast berdiferensiasi, ekspresi PAX7 turun dan MyoD tetap berekspresi (Shefer dkk. 2010). Olahraga memiliki pengaruh sistemik terhadap tubuh (Silva, dkk. 2012), yang tidak hanya menjadi stimulator saja, namun juga berpotensi menimbulkan stresor yang berakibat pada kerusakan jaringan di dalam tubuh (Sahebozamani, dkk. 2015), khususnya kerusakan pada tingkat molekuler (Hamdi, dkk. 2013), dan dapat berakibat pada kematian sel (Kruger dkk. 2014).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Lisio, dkk. (2014) perlakuan olahraga berupa jenis kontraksi regangan dapat mengakibatkan kerusakan pada otot dan terjadi kerjasama ekspresi antara PAX 7 dan IGF-1 yang ditujukan dengan peningkatan proliferasi *myoblast*, akan tetapi hasil penelitian yang membuktikan bahwa olahraga dengan jenis intensitas ringan, sedang dan berat akan menyebabkan pengaruh pada diameter otot masih belum jelas bahkan menunjukkan hasil yang bervariasi. Hal ini memberikan peluang untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut mengenai perbandingan perlakuan olahraga menggunakan *treadmill* dengan intensitas ringan, sedang dan berat terhadap pola diameter otot sebagai salah dasar acuan penerapan program rehabilitasi olahraga yang bersifat aman dan efektif.



1.2 Rumusan masalah

Adakah hubungan perlakuan latihan *treadmill* terhadap diameter otot lurik melalui ekspresi IGF-1 dan PAX7 pada tikus wistar *ratus norvegicus*?

1.2.1 Sub Rumusan Masalah

1. Apakah perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan diameter otot lurik pada tikus *ratus norvegicus* ?
2. Apakah perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi IGF-1 tikus wistar *ratus norvegicus*. ?
3. Apakah perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi PAX7 pada tikus wistar *ratus norvegicus* ?
4. Apakah ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan diameter otot tikus *ratus norvegicus* ?
5. Apakah ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan IGF-1 otot tikus *ratus norvegicus* ?
6. Apakah ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan PAX7 otot tikus *ratus norvegicus* ?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis hubungan perlakuan latihan *treadmill* terhadap diameter otot lurik melalui ekspresi IGF-1 dan Pax7 pada tikus wistar *ratus norvegicus*.



1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan diameter otot lurik pada tikus *ratus norvegicus*
2. Membuktikan perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi IGF-1 tikus wistar *ratus norvegicus*.
3. Membuktikan perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi PAX7 pada tikus wistar *ratus norvegicus*.
4. Membuktikan ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan diameter otot tikus wistar *ratus norvegicus*
5. Membuktikan ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan IGF-1 otot tikus wistar *ratus norvegicus*
6. Membuktikan ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan PAX7 otot tikus wistar *ratus norvegicus*

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Sebagai dasar ilmiah bahwa latihan dengan intensitas tertentu dapat meningkatkan diameter otot dan memelihara kapasitas cadangan regenerasi jaringan otot lurik.

1.4.2 Manfaat praktis

Memberi informasi bahwa intensitas ringan, sedang maupun berat, dapat digunakan sebagai dasar program latihan, seperti lari *treadmill*, sehingga terapis olahraga dapat mengaplikasikan hasil penelitian ini untuk olahraga rehabilitatif.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Latihan

Latihan merupakan suatu bentuk pengulangan dengan tujuan tertentu yang dilakukan secara terus menerus. Adanya kultivasi pengalaman yang didapatkan saat latihan akan meningkatkan penguasaan keterampilan pada aktifitas olahraga maupun aktifitas yang lain.

Latihan dalam olahraga dibagi menjadi 2, yaitu beban dan daya tahan. Latihan beban menitikberatkan pada penambahan masa dan bentuk otot tubuh, sedangkan latihan daya tahan menekankan pada sistem sirkulasi, ventilasi kardiovaskular (Bompa & Haff, 1994).

2.1.1 Intensitas

Intensitas merupakan suatu beban latihan yang diberikan dengan tujuan menambah muatan latihan sehingga tubuh akan berusaha menanggapi tekanan tersebut dengan peningkatan fungsi sistem tubuh. Menurut Sugiharto (2014) intensitas latihan dinyatakan berat ringannya beban latihan dan merupakan faktor utama yang dapat memberikan pengaruh terhadap sistem faal tubuh terhadap beban pada waktu latihan, oleh karena itu beban latihan yang diberikan harus dapat direspon untuk melakukan adaptasi dengan baik oleh tubuh, karena beban latihan yang melebihi ambang nilai ambang kemampuan adaptasi merupakan stresor bagi tubuh yang dapat menimbulkan kondisi patologis. Maka latihan harus dipaksa melakukan kerja yang lebih keras dari pada biasanya, beban tersebut dalam pelatihan fisik dinyatakan dalam overload. Dengan overload dapat memberikan jaminan beban makin meningkat secara bertahap dalam jangka waktu tertentu. Intensitas latihan dianjurkan berada antara 60-80% dari kapasitas aerobik maksimal dan intensitas tersebut dianggap memiliki makna dalam meningkatkan adaptasi tubuh.



2.1.2 Frekuensi

Frekuensi adalah banyaknya pengulangan dalam setiap sesi latihan. Menurut Sarifin (2011) frekuensi merupakan jumlah kejadian atau ulangan dari latihan yang dilakukan dalam suatu periode tertentu (hari, minggu, bulan). Sama halnya dengan volume latihan, frekuensi latihanpun memiliki hubungan dengan intensitas dan durasi (lamanya latihan). Semakin tinggi intensitas dan semakin lama waktu yang digunakan dalam tiap sesi latihan, maka frekuensi latihannyapun semakin sedikit. Hal ini merupakan indikasi bahwa banyaknya pertemuan atau ulangan latihan menunjukkan frekuensi latihannya, sehingga penataan frekuensi latihan memiliki hubungan yang erat dengan intensitas dan durasi dalam program latihan.

2.2 Intensitas latihan Olahraga

Intensitas latihan dinyatakan durasi latihan dan merupakan faktor utama yang dapat memberikan pengaruh terhadap sistem faal tubuh terhadap beban pada waktu latihan, oleh karena itu intensitas latihan yang diberikan harus dapat merespon untuk melakukan adaptasi dengan baik oleh tubuh, intensitas latihan yang melebihi nilai ambang kemampuan adaptasi merupakan stressor bagi tubuh yang dapat menimbulkan kondisi patologis (Sugiharto, 2014). Maka latihan harus memberikan intensitas melebihi aktivitas sehari-hari dan tubuh harus dipaksa melakukan kerja yang lebih keras daripada biasanya.

2.3 Tes Kecepatan Maksimal dapat menggantikan VO₂max pada Tikus

Tes valid untuk mengukur kapasitas fungsi jantung paru secara umum menggunakan satuan VO₂max. Parameter tersebut mampu mewakili fungsi kesehatan untuk kardiovaskuler, paru dan sistem otot rangka. Sehingga dalam penelitian ini kriteria ukur yang setara realibilitasnya dengan VO₂max adalah ET (*exercise test*) atau menggunakan tes kecepatan maksimal tikus pada mesin treadmill. ET (*exercise test*) digunakan sebagai salah satu alternatif kriteria tes, karena memiliki cara pengukuran yang sederhana untuk mengetahui kapasitas



fungsional dan digunakan juga pada program klinik, kualifikasi fisik dan program rehabilitasi jantung (Rodrigues, dkk.: (2007).

2.4 Program Latihan Treadmill Pada Tikus

Untuk merancang perlakuan pelatihan *treadmill* pada hewan perlu diketahui target latihan itu sendiri. Target latihan kali ini dibagi menjadi tiga, yaitu rendah, sedang, dan berat. Pengukuran kemampuan hewan coba tikus akan diukur dengan cara memulai kecepatan *treadmill* paling ringan dan diberikan penambahan kecepatan 0.2 km.h⁻¹ dengan interval 3menit hingga tikus tidak dapat berlari lagi. Durasi latihan diberikan dengan 30-60 menit setiap hari (Queiroz, dkk. 2014) pada masing-masing kelompok.

Penelitian menggunakan tiga macam intensitas latihan, beban latihan ringan, sedang dan berat. Rahimi & Tayebi (2013) mengatakan bahwa olahraga sedang adalah olahraga yang dilakukan dengan 60%-70% kemampuan maksimal. Latihan dikatakan sedang dengan *treadmill* dengan kecepatan 14-16m/menit atau 65-70% VO_{2max}(Kim dkk., 2015). Latihan berat atau berat menggunakan *treadmill* dengan kecepatan antara 22-25m/menit yang setara dengan 80-100% VO_{2max} (Kim dkk., 2013). Bahkan Lin dkk. (2010) mengatakan kecepatan treadmill untuk latihan berat adalah 30m/menit. Metode yang digunakan kali ini menggunakan kalkulasi program treadmill rehabilitasi (Rodrigues, dkk. 2007) pada tikus wistar dengan validitas VO₂ reserve atau hasil pengurangan VO_{2max} dan VO₂basal model tikus. Dengan kecepatan ET 60% mewakili 72% Vo₂ reserve, sehingga 100% dari ET adalah 24 meter/menit (Rodrigues, dkk. 2007)Rangkaian program latihan tersebut dijelaskan dalam tabel berikut.



Tabel 2.1 pedoman Latihan Treadmill Tikus untuk program rehabilitasi

No	Jenis Intensitas	VO2 Reserve	Durasi	Frekuensi
1	Intensitas Ringan Kecepatan 8-12 M/Mnt Atau 33%-50% ET	45-62%	20-30 Menit	5x Per Minggu
2	Intensitas Sedang Kecepatan 14-16 M/Mnt Atau 58%-66% ET	60-78%	30-35	5x Per Minggu
3	Intensitas Berat Kecepatan 22-28 M/Mnt Atau 91%-116% ET	103-128%	30-36	5x Per Minggu

2.5 Latihan Fisik Untuk Olahraga Rehabilitasi

Olahraga rehabilitasi adalah perlakuan aktifitas fisik yang digunakan untuk menguatkan organ tertentu karena lemahnya suatu fungsi tertentu dalam tubuh akibat penyakit atau cedera.

Olahraga rehabilitasi bersifat ringan dan menyesuaikan kemampuan individu. Olahraga yang diberikan dapat berupa gerakan senam ringan, peregangan, pelepasan, berjalan, bersepeda dan berenang (Bompa & Haff, 1994). Olahraga rehabilitasi berfungsi untuk memperbaiki kondisi fisik maupun mental individu. Kondisi fisik tersebut bisa bagian dari otot rangka, persendian maupun gerakan kompleks dari rangkaian gerak tubuh. Olahraga rehabilitasi bertujuan menyeimbangkan struktur dan fungsional sama seperti kondisi normal atau sebelumnya. Olahraga rehabilitasi bertujuan untuk membantu individu yang tidak mampu melakukan aktifitas fisik atau terapi fisik secara mandiri (Bompa & Buzzichelli, 2015).

Olahraga rehabilitasi dapat dimulai dengan melemaskan dan meregangkan anggota tubuh tangan atau kaki. Olahraga rehabilitasi disusun dalam latihan periodik yang teratur dimulai dari kemampuan individu awal kemudian dimonitor harian hingga mingguan kemudian ditingkatkan beban latihannya baik dari intensitas maupun durasi latihannya (Bompa & Buzzichelli, 2015).



2.6 Respon dan Adaptasi Latihan

Latihan akan mempengaruhi seluruh organ tubuh, namun hal ini sangat tergantung dengan jumlah dan jenis latihan olahraga yang dilakukan. Latihan fisik pada dasarnya adalah merupakan latihan bagi tubuh untuk proses adaptasi fisiologik sebesar yang dibebankan pada latihan tersebut (Sugiharto, 2014), sehingga ukuran pembebanan selalu menjadi faktor utama dalam proses pelatihan. Muatan latihan atau beban latihan merupakan tolak ukur intensitas latihan dalam hal ini (Sugiharto, 2014) menyatakan sebagai respon intensitas latihan. Intensitas latihan pada dasarnya dapat berupa lama latihan, dalam set, repetisi, intensitas dan frekuensi (Sugiharto, 2014). Biasanya dikatakan sebagai FIT (*frequency, intensity and time*). Dosis latihan senantiasa harus terukur pada respon tubuh yang muncul, oleh karena itu tubuh memerlukan tolak ukur, yang dapat dikaji dari berbagai konsep.

Proses respon tubuh ini menurut Sugiharto (2014), merupakan penyesuaian diri terhadap beban latihan olahraga yang sangat tergantung kepada:

- a. Stresornya, yaitu jenis olahraga yang dilakukan, intensitasnya, waktu, frekuensi atau intensitas latihan.
- b. Organiknya, yaitu faktor-faktor yang dimiliki individu bersangkutan, yang memberikan kemungkinan seseorang mencapai tingkat kemampuan fungsional yang lebih tinggi misalnya umur, jenis kelamin, tingkat kesegaran jasmani, kesehatan dan tingkat keterlatihannya.
- c. Keadaan lingkungan seperti panas, dingin, kelembapan, ketinggian dan sebagainya.

2.7 Pelatihan untuk mengembangkan sistem energi aerobik dan anaerobik

Program pelatihan baik yang bersifat anaerobik maupun aerobik tergantung pada intensitas latihan dan lama latihan. Bentuk latihan untuk mengembangkan kondisi fisik seseorang dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu latihan interval, latihan sirkuit, lari



percepatan, lari perlambatan berkesinambungan dan dapat juga menggunakan berbagai bentuk permainan. Latihan ditekankan pada kondisi fisik seperti kekuatan, kecepatan, ketahanan, kelincahan, dan yang penting latihan harus mengembangkan kemampuan berkenaan dengan pasokan energi yang diperlukan otot-otot dan keterampilan untuk tiap cabang olahraga.

Sumber energi yang digunakan pada latihan fisik, berasal dari ATP-CP, glikolisis anaerobik, dan sistem aerobik. Misalnya untuk pelari cepat 100 m yang dapat dicapai 9-10 detik energi yang diperlukan 0.43 mol ATP, atau untuk per menitnya memerlukan 2.1 mol ATP (Sugiharto, 2014). Beda halnya dengan peningkatan kapasitas aerobik, dengan waktu yang lama dan intensitas ringan sedang. Misalnya pelari marathons, waktu yang digunakan relatif lama, tetapi kecepatan lari relative rendah. Pada kegiatan ini kemampuan menyediakan energi untuk jangka waktu lama, dengan kecepatan gerak yang terbaik harus merupakan prioritas tujuan pelatihan. Pada kegiatan ini membutuhkan total energi 150 mol ATP (Sugiharto, 2014).

2.8 Hubungan antara intensitas latihan olahraga dan adaptasi

Pemakaian serta ketepatan dosis latihan akan mengakibatkan perubahan-perubahan morfologis, fungsional dan psikologis organism seseorang. Perubahan struktur dan fungsional selama periode latihan berhubungan dengan lama adaptasi. Perubahan percepatan pemulihan setelah latihan juga dipengaruhi lama pelatihan yang dilakukan, sehingga mempengaruhi sistem pemulihan, sebab pemulihan pada dasarnya adalah kemampuan perbaikan homeostasis terhadap intensitas latihan yang dilakukan, yang berimbang pada perubahan adaptasi sistem tubuh yang sangat baik. Adaptasi dapat terjadi karena latihan olahraga memberikan rangsangan fungsional pada tubuh dengan intensitas dan kuantitas perangsang yang cukup besar untuk menyebabkan perubahan-perubahan metabolik dan menimbulkan sisa metabolik, yang pada waktu pemulihan menguraikan sel-sel, sisa metabolik, pemulihan yang berlebihan, hiperfungsi dan hipertropi. Hiperfungsi dan hipertropi memberikan kemampuan pada organ untuk beradaptasi pada tingkat fungsional yang meningkat. Respon dan adaptasi terhadap



olahraga dimaksudkan untuk mengurai stress akibat latihan. Pada saat olahraga berlangsung terjadi peningkatan konsumsi oksigen, peningkatan energi yang diakibatkan oleh peningkatan kecepatan dan peningkatan kontraksi otot, hal ini oleh tubuh akan direspon dengan meningkatkan frekuensi pernapasan dan denyut jantung, sehingga banyak oksigen bisa dikirim ke otot yang aktif berkontraksi dan stress akan berkurang (Sugiharto, 2014).

2.9 Adaptasi olahraga terhadap perubahan otot

Perubahan struktur dan peningkatan fungsional otot yang disebabkan olahraga yang dilakukan misalnya terjadinya hipertropi serabut otot. Hipertropi otot biasanya diikuti dengan peningkatan jumlah myofibril, peningkatan jumlah molekul aktin dan myosin, peningkatan kepadatan mitokondria, peningkatan kapiler, cadangan glikogen, ATP, keratin pospat, fosfolipida, penambahan mioglobin, kenaikan kadar kalium, kalsium dan magnesium, peningkatan enzim-enzim, oksidasi, peningkatan kadar asam askorbat, glutathion, peningkatan aerobik (Sugiharto, 2014). Perubahan tersebut berakibat terhadap peningkatan fungsional dalam melakukan kerja lebih efisien, lebih peka dan peningkatan daya kerja otot.

Perubahan yang terjadi akibat pelatihan olahraga aerobik ditandai dengan peningkatan penggunaan oksigen 10-20 kali lebih besar dari pada masa istirahat. Terhadap tuntutan untuk memenuhi kebutuhan oksigen yang semakin tinggi pada saat latihan olahraga tubuh akan berusaha melakukan kompensasi dengan meningkatkan kadar mioglobin hingga 90%. Adaptasi otot terhadap latihan olahraga yang bersifat aerobik juga meningkatkan kemampuan oksidasi. Peningkatan kemampuan oksidasi otot, diikuti dengan peningkatan jumlah mitokondria, peningkatan enzim mitokondria, dan juga enzim sitokrom oksidase serta suksinat dihidrogenase. Enzim tersebut terlibat dalam daur Krebs dan sistem pengangkutan electron. Selain itu juga berperan dalam peningkatan sumber energi lemak (Sugiharto, 2014).



Pelatihan olahraga dilakukan secara berulang-ulang berakibat terjadi hipertropi otot.

Keadaan ini bukan disebabkan oleh adanya pembentukan serabut baru, namun disebabkan oleh aktifnya serabut otot yang tadinya berada dalam keadaan pasif. Hipertropi ini terjadi akibat lebih banyak dan lebih besarnya myofibril per sel otot, lebih banyaknya protein total terutama myosin, lebih rapatnya kapiler dan lebih banyak serta kuatnya jaringan ikat tendon dan ligament. Hipertropi biasanya diikuti dengan banyaknya kapiler yang aktif dalam otot. Latihan kekuatan akan menyebabkan hipertropi otot, sedangkan latihan yang bersifat aerobik menyebabkan bertambahnya jumlah kapiler, keduanya akan meningkatkan kekuatan otot. Hipertropi akan diikuti dengan peningkatan kekuatan otot, kekuatan tersebut disebabkan oleh penambahan luas penampang otot dan kenaikan curahan saraf kepada otot. Oleh karena itu latihan olahraga berulang akan meningkatkan kontraksi otot dan juga kekuatan otot, keduanya akan mempengaruhi daya ledak otot (Sugiharto, 2014). Daya ledak merupakan kualitas yang memungkinkan otot atau sekelompok otot untuk menghasilkan kerja fisik secara eksplosif. Daya ledaka dapat ditingkatkan dan dikembangkan melalui latihan dengan jalan meningkatkan kekuatan, kecepatan atau meningkatkan keduanya secara bersama-sama. Adaptasi latihan olahraga terhadap peningkatan kekuatan otot pada permulaan disebabkan oleh kenaikan curahan saraf dari saraf kepada otot, sedangkan peningkatan selanjutnya disebabkan oleh penambahan luas penampang otot. Menurut Sugiharto (2014) pelatihan dapat meningkatkan kekuatan dan kecepatan otot. Peningkatan kekuatan otot disebabkan adanya penambahan luas penampang otot. Luas penampang otot pada orang terlatih bertambah sebesar 55% dan 42% disebabkan penambahan sarkoplasma. Sedangkan peningkatan kecepatan kontraksi otot disebabkan oleh peningkatan rekrutmen motor unit, peningkatan pengeluaran impuls, kecepatan hantaran impuls, dan kontrol yang lebih baik dari pada motor unit.



2.10 Keterlibatan Serabut Otot dalam Latihan Olahraga

Latihan olahraga adalah pengulangan beberapa gerakan tertentu secara teratur dan sistematis, berirama yang bertujuan untuk peningkatan kemampuan tubuh. Latihan didefinisikan aktivitas olahraga yang sistematis dalam jangka waktu yang lama, progresif dan individual, yang bertujuan untuk membentuk fungsi fisiologis dan psikologis guna memenuhi tugas yang diperlukan. Latihan olahraga pada dasarnya adalah memberikan stress fisik pada tubuh secara teratur, sistematis dan berkesinambungan sedemikian rupa, sehingga dapat meningkatkan kemampuan dalam melakukan kerja.

Latihan fisik olahraga dikelompokkan berdasarkan intensitas yang digunakan terdiri dari latihan olahraga dengan intensitas rendah, dengan jangka waktu lama, seperti lari marathon. Latihan olahraga intensitas tinggi dalam waktu yang pendek, misalnya lari cepat jarak pendek 100 m dan olahraga dengan intensitas tinggi, jangka waktu pendek misalnya olahraga angkat beban, gerakan melempar pada olahraga atletik, gerakan meloncat pada permainan bola voli, bola basket, sepak bola dan olahraga atletik lainnya. Bentuk olahraga dengan intensitas tinggi tersebut memerlukan tenaga yang kuat dengan daya ledak tinggi. Keterlibatan otot dalam latihan olahraga dipengaruhi oleh sumber energi yang digunakan dalam latihan olahraga sesuai dengan intensitas tersebut, bahkan tingkat keterlibatan otot dalam latihan sangat erat kaitannya dengan gerakan cepat, kuat, pelan, dan lama dengan sumber energi yang digunakan.

Latihan olahraga dengan intensitas yang mendominasi sumber energi anaerobic memerlukan pengerahan serabut otot cepat (otot putih) lebih tinggi. Hal ini serabut otot cepat memiliki sistem energi anaerobik lebih tinggi (sistem ATP-CP(creatin phospat-LA(Lactic Acid)). Namun penggunaan dominasi otot cepat yang tinggi berpengaruh terhadap kecepatan penghentian latihan olahraga. Penggunaan sistem energi anaerobik menyebabkan terjadinya akumulasi laktat, sedangkan akumulasi asam laktat menimbulkan kelelahan, yaitu otot berhenti



menguncup sebelum semua sumber energi habis digunakan. Keterlibatan otot cepat pada olahraga dengan intensitas submaksimal-maksimal, disebabkan oleh sifat saraf motor unit pada serabut otot cepat adalah memiliki laju rambat, dan nilai ambang rangsang yang tinggi.

Latihan olahraga dengan intensitas rendah hanya otot merah yang terlibat, bahkan serabut otot merah selalu digunakan paling awal, apapun jenis latihannya. Hal ini karena otot lambat memiliki ambang rangsang yang rendah. Tetapi bila olahraga berjalan cukup lama maka otot putih tipe IIa digunakan atau diperlukan olahraga dengan intensitas tinggi. Misalnya pada lari jarak jauh 10 Km atau lari marathom kemungkinan serabut otot putih tipe IIa sudah mulai terlibat, sehingga menyebabkan pasokan energi harus dipenuhi dengan anaerobik dan berakibat kelelahan. Serabut otot merah dan serabut otot putih tipe IIA memiliki sistem energi aerobik. Penggunaan sistem aerobik tidak menyebabkan terjadinya akumulasi laktat, namun karena serabut otot putih tipe IIa ikut digunakan, sedangkan serabut otot putih tipe IIa juga memiliki sistem anaerobik maka dalam jangka waktu lama terjadi pula kenaikan asam laktat, walaupun tidak setinggi pada waktu olahraga dengan intensitas tinggi, sumber yang digunakan adalah aerob. Olahraga dalam waktu yang lama dengan intensitas yang rendah juga akan berpengaruh terhadap keterlibatan otot putih tipe IIb, demikian juga dengan intensitas tinggi dalam waktu yang lama serabut otot tipe IIb juga akan terlibat. Sehingga olahraga yang berintensitas tinggi maka otot putih tipe IIb memiliki ambang rangsang yang tinggi maka otot putih tipe IIb akan terlibat dalam olahraga apabila memerlukan usaha penuh atau otot akan mendekati kelelahan.

Urutan keterlibatan serabut otot pada latihan olahraga dipengaruhi oleh intensitas olahraganya. Olahraga dengan intensitas rendah dalam waktu yang singkat hanya serabut otot merah, kemudian kalau olahraga tersebut masih berlangsung maka serabut otot putih tipe IIa mulai terlibat, dan apabila latihan olahraga tetap berlangsung maka serabut otot putih tipe IIb



juga akan terlibat. Dengan demikian otot cepat tipe IIb akan terlihat dalam kegiatan olahraga apabila olahraga yang dilakukan dengan intensitas tinggi dengan mengerahkan semua tenaga.

Berdasarkan sifat dari masing-masing serabut otot, maka dalam keterlibatan latihan olahraga dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Unit motor serabut otot merah memiliki ambang rangsang yang rendah daya kontraksi lambat, kekuatan rendah dan memiliki daya tahan terhadap tingkat kelelahan yang tinggi (slow twitch, low power, long duration). Sedangkan otot putih (otot cepat) memiliki ambang rangsang yang tinggi daya kontraksi cepat, kekuatan tinggi, dan daya tahan terhadap kelelahan yang rendah.
2. Unit motor serabut otot merah adalah aerobik, serabut otot putih (cepat IIa, aerobik dan anaerobik. Otot cepat putih IIb adalah anaerobik.
3. Urutan keterlibatan otot dalam aktifitas fisik olahraga adalah otot merah, otot putih tipe IIa, serabut otot putih tipe IIb. Sehingga pada olahraga dengan intensitas rendah dalam waktu pendek adalah otot merah, intensitas rendah waktu lama dan intensitas tinggi serabut otot lambat dan otot putih tipe IIa, intensitas rendah, waktu lama sampai kelelahan intensitas tinggi hingga kelelahan adalah semua serabut otot terlibat (otot I merah, putih IIa, putih IIb).

2.11 Pelatihan olahraga daya tahan treadmill dengan intensitas ringan, sedang dan berat

1. Latihan Intensitas Ringan

Latihan intensitas ringan merupakan muatan latihan yang bersifat aman. Muatan ini diukur dari keadaan basal subyek yang berada dalam kondisi stabil atau hampir sama dengan subyek lainnya, karena tekanan latihan dengan intensitas ringan mempengaruhi tekanan darah



secara perlahan, sehingga tubuh mampu mengkompensasi kebutuhan oksigen, nutrisi dan keseimbangan pH darah dalam serangkaian aktifitas fisik tersebut. Peningkatan oksigen, nutrisi dan keseimbangan pH secara perlahan inilah yang disebut ringan dan mampu dilakukan oleh subyek latihan namun harus tetap dijaga dalam jangka durasi dan kecepatan latihan yang diberikan (Sugiharto, 2012).

2. Latihan Intensitas Sedang

Latihan sedang adalah latihan yang bersifat ringan namun memiliki peningkatan muatan atau kecepatan dalam aktifitasnya. Dampak dari latihan intensitas sedang akan menghadirkan serangkaian mekanisme *coping* (pengkait) yang terjadi karena adanya induksi volume, intensitas, *density* dan frekuensi dari latihan yang akan menghadirkan suatu bentuk *stressor* bagi tubuh, sedangkan selanjutnya adanya pengulangan terhadap *stressor* secara teratur melalui latihan yang dilakukan dengan dosis sedang dan adekuat tersebut dapat diterima dan tubuh mengubahnya menjadi stimulator, sehingga dalam hal ini tubuh mampu beradaptasi dengan baik (Sugiharto, 2012) yang ditunjukkan tubuh melalui adanya peningkatan kapasitas fungsional. Namun, jika kemampuan fisik yang telah teradaptasi tersebut tidak dijaga dan dipelihara dengan baik melalui latihan yang teratur, maka kemampuan fisik yang telah diperoleh selama latihan akan kembali menurun, sesuai dengan hukum reversibilitas latihan (Sugiharto, 2012).

3. Latihan Intensitas Berat

Latihan yang dipaksakan akan menyebabkan kelelahan yang berlebihan hal ini dimaksudkan untuk mencapai kemampuan maksimal tubuh yang didasarkan pada dosis latihan berupa tingginya durasi dan intensitas latihan. Sedangkan kemampuan latihan maksimal tubuh ditandai dengan pencapaian intensitas maksimal, setara dengan 85-100% volume oksigen



maksimal dan 90-100% dari *maximal heart rate* latihan (Fletcher, dkk. 2001). Kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh latihan yang dipaksakan menyebabkan perubahan pada sistem neuroendokrin dan sistem kekebalan tubuh sehingga menyebabkan kondisi *stress* yang ekstrim pada protein (Melo, dkk. 2009). Selain itu latihan yang dipaksakan dapat menimbulkan kondisi patologis yang disebut sebagai *rhabdomyolysis* (Gagliano, dkk. 2009), karena latihan yang dilakukan dengan intensitas dipaksakan dan berlangsung lama akan memaksa kontraksi otot yang berlebihan sehingga menginduksi kondisi *heatstress* dan dehidrasi, yang selanjutnya mengakibatkan pecah atau rusaknya otot rangka yang diikuti oleh kerusakan mioglobin serta pelepasan berbagai enzim yang terkandung di dalam jaringan otot tersebut seperti *aspartateaminotransferase*, *alanineaminotransferase*, *creatinephosphokinase*, *disseminated intravascularcoagulation*, dan *lacticdehydrogenase* terlepas dalam sirkulasi darah, sehingga memberatkan kerja ginjal bahkan mengakibatkan gagal ginjal akut (Gagliano, dkk. 2009).

2.12 IGF-1 (muscle *Insulin like Growth Factor 1*)

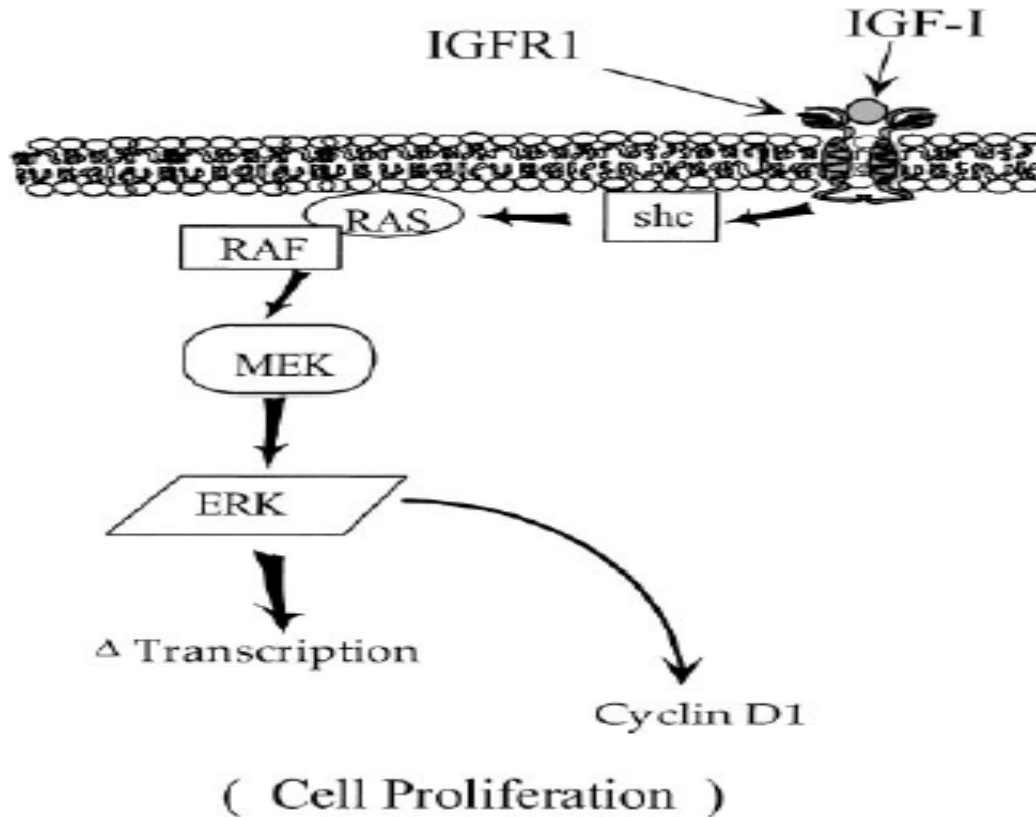
Gen IGF 1 pada manusia disebut juga dengan somatomedin C, yang meliputi 90 kb DNA genomic (terletak pada lengan panjang kromosom 12) dan membawa 6 exon, yang memiliki banyak transkrip mRNA heterogen dengan kombinasi a) lokasi inisiasi transkripsi yang beragam b) memiliki alternative splicing c) sinyal poliadenilasi yang berbeda (Mourkouti, 2005). Keberagaman transkrip IGF1 mRNA tersebut akan mengkode transkrip yang berbeda dalam menghasilkan isoform IGF1 peptida prekursor IGF1, yang juga melalui modifikasi post translasi. Lokasi inisiasi transkripsi yang berebda memiliki dua kelas isoform IGF1, yaitu transkrip kelas 1 memiliki *initiation site* pada exon 1 (promoter), sedangkan kelas 2 memiliki exon 2 sebagai awalan exon 1 (promoter 2). Exon 1 dan 2 terpotong dengan transkrip mRNA yang berbeda, kelas 1 diproduksi dari pemotongan exon 1 hingga exon 3, sedangkan kelas 2 pemotongan exon 2 hingga exon 3. Semua kemungkinan kombinasi antara penggunaan promoter dan



terminal exon (5 atau 6) dapat terjadi dalam transkrip yang berbeda seperti kelas 1 tetapi juga kelas 2 dapat mengekspresikan bentuk IGF-1Ea dan IGF-1Eb (Mourkouti, 2005).

IGF-1 memiliki berbagai fungsi fisiologi yang penting, khususnya saat pertumbuhan dan perkembangan. IGF-1 berada dalam berbagai isoform dan berada di berbagai jaringan dan bertanggung jawab pada peranan autokrin dan parakrin. IGF-1 merupakan regulator dari perkembangan otot. IGF-1 juga berepran pada faktor regulasi sel satelit pada manusia (McKay, 2009). IGF-1 merupakan growth factor pada sirkulasi di hati dan pada otot. terdapat tiga jenis isoform, yaitu IGF-1Ea, IGF-1Eb dan IGF-1Ec yang semuanya ditemukan pada otot dan masing-masing memiliki peranan terhadap regenerasi otot (McKay, 2009)

IGF-1 adalah hormon yang memiliki struktur molekul yang sama dengan insulin. Fungsi IGF-1 terutama dalam proses pertumbuhan dan regulasi fungsi anabolik pada orang dewasa. IGF-1 diproduksi terutama oleh hati sebagai hormon endokrin (sistemik), IGF-1 juga diproduksi lokal secara autokrin dan parakrin. Faktor yang merangsang sekresi IGF-1 adalah growth hormone yang akan menurun bila dalam keadaan manutrisi. IGF-1 dapat menstimulasi pertumbuhan tubuh secara sistemik dan memiliki efek untuk menstimulasi pertumbuhan hampir semua sel dalam tubuh seperti: otot, tulang, tulang rawan, hati, ginjal dsb. IGF-1 merupakan regulatur utama masa otot rangka terutama pada proses pertumbuhan. IGF-1 juga bertanggung jawab pada proliferasi miogenik.



Gambar 2.1 Kaskade pensinyalan Ras-ERK, merepresentasikan pensinyalan intraseluler yang dipengaruhi oleh tyrosine kinase pada reseptor IGFR1. Pensinyalan tersebut terlibat pada saat proliferasi sel in vitro. Target fosforilasi ERKs meliputi faktor transkripsi dan penambahan protein kinase. ERK, extracellular signal-regulated kinase; MEK, mitogen-activated protein kinase (MAPK)/ERK kinase; Raaf, MAPK kinase; Ras protein, member of the Ras GTPase family; Shc. (Adams. 2002)

2.13 Pax 7 (Paired Box 7)

Pax 7 merupakan family member paired box transcription factor yang mengekspresikan cadangan sel satelit (Seale dkk., 2000). Saat sel satelit aktif, Pax7 dan MyoD (Torrado dkk., 2014; Zammit dkk., 2005; Zipora Yablonka-Reuveni, 2011), merupakan kunci faktor transkripsi untuk diferensiasi miogenik dan anggota dari myogenic regulatory factor (MRFs), terdiri dari



MyoD, Myf5, myogenin dan Mrf4 (Tajbakhsh, 2005). Setelah sel satelit aktif kemudian berproliferasi, lalu Pax7 downregulate dan berdiferensiasi. Namun pada proses proliferasi sel lainnya Pax7 tetap ada tetapi kehilangan MyoD dan kembali pada siklus sel dan memulai diferensiasi myogenic, kembali menuju kondisi quiescence (tidak aktif) (Zammit dkk., 2005). Pada penelitian yang menguji ketiadaan Pax 7 pada tikus dengan metode knockout menjelaskan terdapat banyak jumlah sel satelit saat lahir namun populasinya terbatas sehingga mengganggu siklus sel dan meningkatkan apoptosis (Buckingham dkk., 2003). Sehingga Pax 7 dibutuhkan untuk menjaga dan mempertahankan cadangan sel satelit. Penelitian lain menyebutkan bahwa Pax7 memiliki peranan memperbaharui diri sendiri dengan menekan MyoD dan menyebabkan sel keluar pada proses siklus sel (Olguin & Olwin, 2004). Otot rangka akan dipengaruhi oleh aktivitas fisik untuk memenuhi kebutuhan dan tekan lingkungan. Respon utama dalam aktivasi sel satelit adalah diatur oleh mpc (*myogenic precursor cell*) yang bertanggung jawab dalam postnatal pertumbuhan otot. Pax7 bertanggung jawab pada kondisi quiescence sedangkan NCAM bertanggung jawab dalam kondisi proliferasi dan maturasinya (Caldow dkk., 2015).

2.14. Pax7 sebagai aktivasi dan entry Siklus Sel regenerasi otot lurik

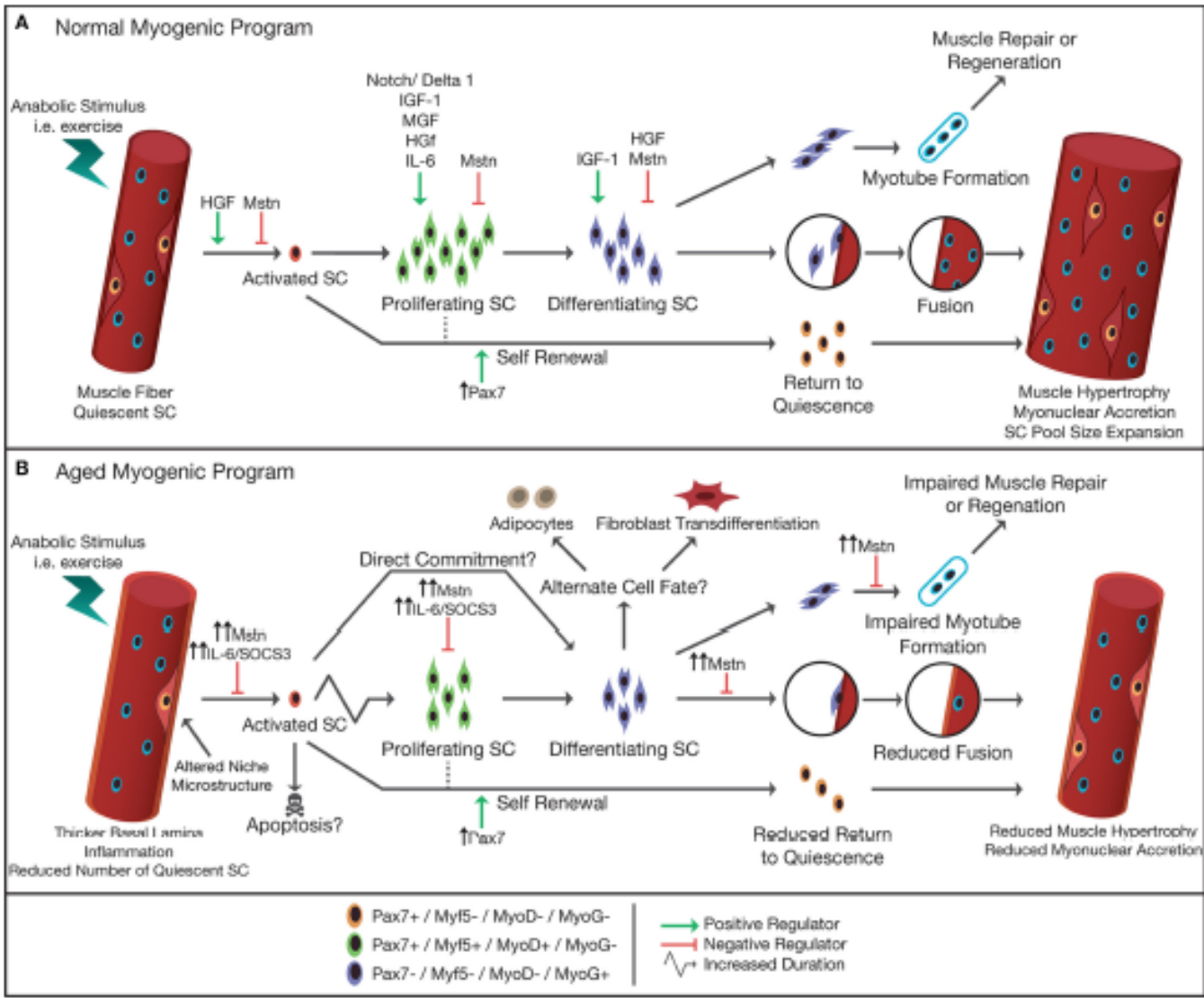
Regenerasi otot diawali dengan pembentukan serabut otot yang melalui serangkaian program yang dikenal sebagai myogenic program. Menurut Snijders, dkk (2015) regenerasi otot rangka diawali dengan aktifnya sel satelit dari kondisi diam menuju kondisi aktif menuju siklus sel. Kondisi aktifnya sel satelit ditandai dengan Pax7. Otot yang cedera atau setelah olahraga memiliki ATP intraseluler yang lebih besar dan aktivitas metabolisme yang tinggi dari pada sel satelit quiescence.



Kondisi waspada sel satelit mengekspresikan beberapa gen siklus sel yang sama dengan saat kondisi aktivasi walaupun tidak diberikan marker proliferasi (BrdU) atau masuk ke dalam siklus sel. Pada keadaan G alert sel satelit mampu melakukan pembelahannya lebih cepat daripada sel satelit pada fase G₀ (Rodgers, dkk. 2014). Pada fase pra-aktivasi tersebut lebih penting karena siklus sel pertama menghabiskan waktu yang lama untuk menyelesaikan siklus sel berikutnya, yang mengindikasikan bahwa keluar dari kondisi quiescence (diam) merupakan proses yang lambat (Bischoff, 1986b Siegel, dkk. 2009). Sel satelit pada fase G alert memiliki potensi regeneratif yang tinggi. Meskipun kaki bagian kontralateral tidak menjadi subyek cedera namun diketahui bahwa *hepatocyte growth factor* (HGF) pada lokasi cedera dapat memiliki pengaruh sistemik dan akan mengaktifkan pensinyalan mTOR pada sel satelit *quiescence* yang berada diselain lokasi cedera sehingga ikut masuk ke dalam fase G alert (Rodgers, dkk. 2014). Hipotesis ini juga terbukti pada penelitian sebelumnya bahwa HGF muncul pada ekstrak otot yang sudah dihancurkan dan suntikan HGF pada otot yang tidak cedera akan menyebabkan aktifnya sel satelit (Tatsumi, dkk. 1998). Hal ini mengindikasikan bahwa adanya mekanisme respon sistemik yang luas sebagai pendukung yang memperlengkapi sel satelit agar menjadi aktif pada lingkungan regenerasi. Namun masih belum diketahui mekanisme respon tersebut terhadap pengaruh latihan atau kemungkinan adanya perbedaan dengan kondisi patologi. Telah diketahui bahwa karakter sel satelit dan miogenik progenitor secara umum berproliferasi sesuai dengan pola koordinat dalam responnya dengan cedera. Puncak proliferasi mioblas berentang antara hari kedua hingga kelima setelah perlakuan induksi cedera oleh cardiotoxin (Rodgers, dkk. 2014). Otot yang rusak akan mengeluarkan berbagai macam *growth factor* yang akan mengaktifkan jalur pensinyalan yang melibatkan siklus sel entry dari sel satelit (Anderson, dkk. 2000). Sebagai contohnya *insulin-like growth factor 1* (IGF1) menunjukkan adanya inaktivasi dari faktor transkripsi FOXO1, sehingga menyebabkan downregulasi siklus sel inhibitor p27Kip1 dan mengakibatkan entry siklus sel (Chakravarthy, dkk. 2000; Machida, dkk. 2003). FGF2 juga terekspresi sangat tinggi pada otot



yang sedang beregenerasi dan dikenal untuk mengaktifkan berbagai jalur MAPK pada sel satelit (Zipora, dkk. 1999). Sebagai contohnya penelitian yang mengisolasi miofiber enunjukkan bahwa p38a/b MAPK (Mapk14/11) menjadi aktif dan dengan cepat bertranslokasi ke dalam nukleus pada sel satelit yang aktif setelah isolasi miofiber, dan karenanya inhibisi p38a/b MAPK akan merusak potensi sel satelit untuk masuk ke dalam siklus sel (Jones, dkk. 2005). Aktivasi jalur ERK 1/2 (MAPK3/1) oleh FGF2 menunjukkan bahwa hal tersebut penting untuk transisi dari fase G1 menuju S pada sel satelit (Jones, dkk. 2001). Selain itu JNK, atau jalur pensinyalan lain MAPK juga menstimulasi aktivasi cyclin D1 dan mendorong progres siklus sel (Perdiguero, dkk. 2007). Analisa *micorarray* mengkonfirmasi bahwa regulator siklus sel, termasuk cyclins A, B, D, E, F dan G diperkaya pada mioblas kultur dibandingkan dengan jaringan asli spesifik sel satelit (Fukada, dkk. 2007).



Gambar 2.2 Skema (A) merepresentasikan respon normal dan **(B) otot pada kondisi penuaan pada proses myogenik terhadap respon stimuli anabolik (Snijders, dkk. 2015).** Pada otot rangka dewasa, sel-sel satelit bercirikan dalam kondisi diam (quiescent) dan berada pada ceruk (niche) antara sarkolema dan basal lamina dari persambungan serat otot. Saat adanya stimulasi seperti olahraga, sel-sel satelit menjadi aktif dan mulai berproliferasi. Saat proses proliferasi, sel-sel satelit berdiferensiasi dan berfusi satu sama lain membentuk jaringan otot yang baru, berfusi ke dalam jaringan otot yang lama untuk menggabungkan nukleus ke dalam jaringan sehingga jaringan otot hipertrofi atau kembali dalam keadaan diam (quiescent) (self-renewal). Pergerakan sel satelit melalui program miogenik digerakan oleh regulasi naik dan turunnya paired box transcription factor Pax 7 dan myogenic regulatory factors seperti (Myf5, MyoD, MRF4 dan Myogenin). Selain itu terdapat beberapa faktor-faktor lain seperti hepatocyte growth factor (HGF), myostatin (Mstn), Notch/Delta1, interleukin-6 (IL-6), mechano growth factor (MGF) dan insulin like growth factor-1 (IGF-1). Faktor-faktor tersebut telah diidentifikasi memiliki pengaruh positif dan negatif pada perbedaan tahap program miogenik. Pada otot rangka yang mengalami penuaan jumlah sel-sel satelit berkurang dan struktur mikro dari ceruk (niche) telah berubah. Meningkatnya derajat inflamasi dan meningkatnya myostatin pada sirkulasi berdampak pada kerusakan atau terhambatnya proliferasi sel satelit karena adanya respon stimuus anabolik. Selain itu dihipotesiskan bahwa pada otot yang mengalami penuaan, sel satelit yang akan teraktivasi akan langsung berdiferensiasi sehingga melewati fase proliferasi. Penelitian menjelaskan bahwa sel satelit dalam kondisi penuaan cenderung berdiferensiasi melalui metode alternatif dengan perantara (adiposit atau fibroblast) atau langsung apoptosis, sehingga berkurangnya jumlah myonuclei yang terbentuk akan meregenerasi atau serat otot mengalami hipertrofi. Meningkatnya derajat sistemik myostatin akan mengurangi jumlah fusi pembentukan myonuclei, merusak perbaikan otot dan regenerasi dan rusaknya fusi myonuclei pada jaringan serat otot yang lama, serta membatasi pertumbuhan serat otot pada kondisi



penuaan.

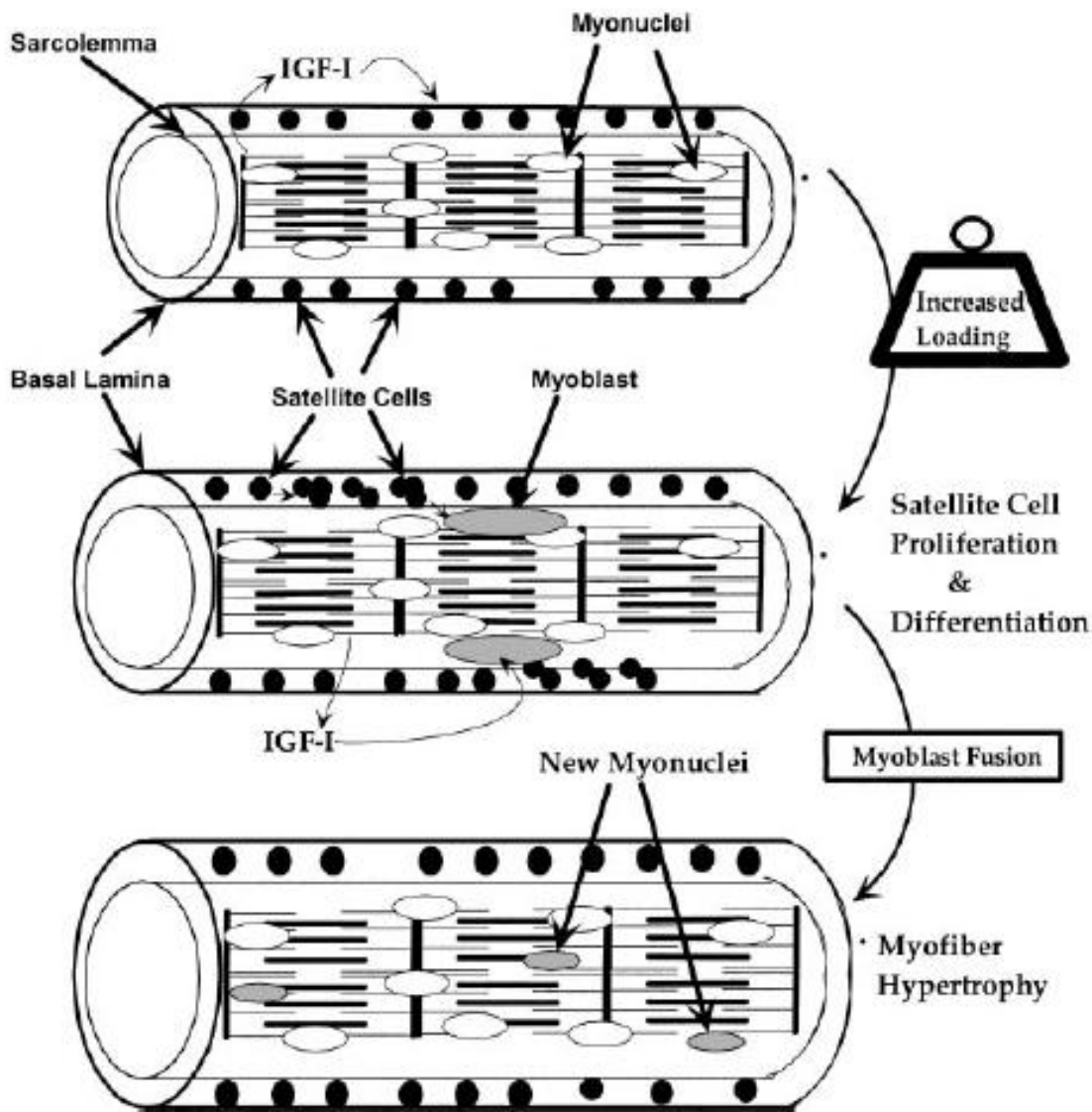
2.15 miGF 1 dan Pax7 pada fase regenerasi otot lurik

Regenerasi otot rangka secara umum membutuhkan sintesa protein dalam putaran kerjanya. Respon setelah olahraga menyebabkan penguraian protein otot yang dibutuhkan untuk hipertropi, dan p70^{s6k} bertanggung jawab untuk sintesa protein hipertropi otot (Egan, 2013). miGF-1 bertanggung jawab dalam otot rangka saat adanya stimulus mekanik seperti olahraga dan bekerja secara autokrin dan parakrin. miGF-1 menyebabkan hipertropi dan regenerasi serabut otot dan meningkatkan kadar faktor regulasi miogenik dan protein mRNA kontraktil (Armakolas, dkk. 2016). Saat olahraga secara intensif, kadar sirkulasi IGF1 diambil dari otot yang aktif, dan kerusakan serabut otot karena olahraga menyebabkan produksi IGF-1 dalam sirkulasi (Armakolas, dkk. 2016). Masih belum ada mekanisme yang jelas terkait ekspresi IGF-1 dengan fungsi autokrin dan parakrinnya. protein IGF 1 dapat terekspresi dari sel-sel otot dari sel itu sendiri atau autokrin atau protein tersebut berperan pada sel yang bersebelahan atau parakrin pada sel satelit atau bahkan masuk ke dalam sirkulasi seperti mekanisme endokrin (Armakolas, dkk. 2016). pada peran autokrin dan parakrin, IGF1 harus keluar dari serabut otot untuk mengikat reseptor IGF1 pada permukaan luar pada membran yang sama pada sel otot atau mengaktifkan jalur sinyal melalui reseptor yang berbeda, sebagai pendorong proliferasi mioblas atau MGF dalam sel satelit (Armakolas, dkk. 2016).

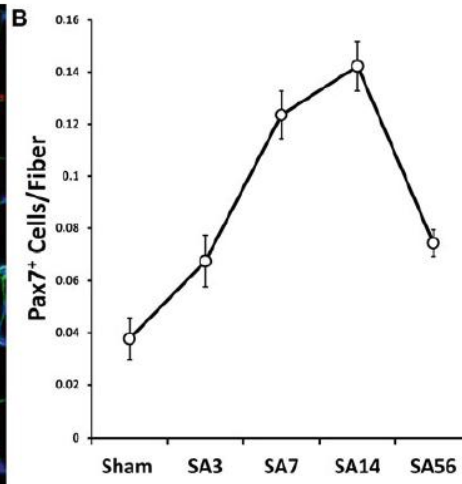
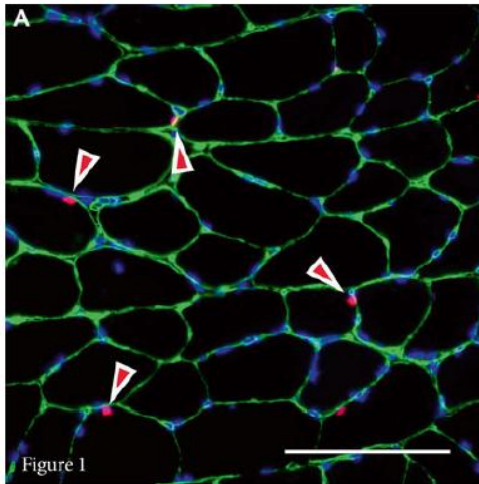
Pax7 berfungsi sebagai biogenesis namun juga berfungsi mencegah diferensiasi miogenik. Pax7 dibutuhkan untuk proliferasi sel dan terus ada pada fase embrio dan perkembangan janin dan berfungsi mendorong subpopulasi sel satelit pada usia dewasa di otot rangka (Olguin and Pisconti. 2012). Pax7 penting untuk pemeliharaan sumber sel satelit, tetapi setelah sel satelit kembali tidak aktif, maka Pax7 tidak berguna untuk perbaikan otot. Namun Pax7 sendiri bukan merupakan peran utama dalam regenerasi otot melalui sel satelit (Olguin and Pisconti. 2012). proses kerja sel satelit tidak berhenti hingga aktivasi namun,



dilanjutkan dengan proliferasi, diferensiasi dan terminasi. Saat aktivasi Pax7 aktif, namun Pax7 bersamaan dengan MyoD (Olguin and Pisconti. 2012). pada fase proliferasi pax7 mulai berkurang populasinya namun, MyoD semakin dominan (Olguin and Pisconti. 2012). Kerjasama antara MyoD dan Pax7 dapat mengindikasikan bahwa Pax7 akan menghambat jalur molekuler yang bertujuan untuk diferensiasi sel otot, dengan cara menekan aktifitas transkripsi MyoD (Olguin and Pisconti. 2012). Pax7 memiliki peran ganda dalam mengatur proses regenerasi otot antara mengaktifkan program miogenik atau mencegah diferensiasi terminal. Pax7 akan menahan miogenesis saat paired box atau domain transactivation tidak ada, yang keduanya memiliki peran penting dalam aktifitas transkripsi (Olguin and Pisconti. 2012). Pax7 akan mengaktifkan ekspresi transkrip Id2 dan Id3, dua jenis inhibitor protein dari helix loop helix (HLH) superfamily, yang secara langsung mengatur fungsi MyoD dan mengekspresikan prekursor otot. Pax7 dapat dipengaruhi oleh Myostatin, dengan cara meningkatkan kadar Pax7 melalui extracelluler signal regulated kinase (ERK), isoforms 1 and 2 dependent pathway dan Pax7 merupakan mediator myostatin dalam mengatur diferensiasi terminal (Olguin and Pisconti. 2012).



Gambar 2.3 IGF-1 dan myogenesis saat kompensasi hipertropi. Meningkatnya pembebanan menyebabkan sel satelit berproliferasi, berdiferensiasi dan fusi. IGF-1 memiliki peranan menstimulus proses tersebut pada otot rangka. Sehingga dipostulasikan bahwa IGF-1 loading sensitive mechanogrowth factor (MGF) diproduksi dan dikeluarkan oleh myofiber melalui adanya peningkatan dan pembebanan atau adanya regangan. Meningkatnya kadar IGF-1 akan merangsang proses miogenik yang dibutuhkan untuk terjadinya adaptasi (Adams, 2002).



Gambar 2.4 Sinergi ablasi menyebabkan pertumbuhan yang cepat pada cadangan sel satelit. (a) Sel-sel satelit otot rangka tikus dianalisa dengan imunohistokimia menggunakan antibodi faktor transkripsi Pax7. Panah putih dan merah mengindikasikan sel-sel Pax7. Serat otot dapat dilihat menggunakan antibodi laminin. Garis putih = 100 μ m. (b) Sel-sel satelit berproliferasi dalam waktu 7 hari dengan pembebanan, kemudian meningkat di hari ke 14, kemudian secara bertahap kembali ke kondisi awal pada pembebanan hari ke 56 (Kirby, dkk. 2016).

2.16 Diameter Otot Lurik

Sel otot atau serabut otot berbentuk silinder dengan diameter 10 μ m to 100 μ m hingga mencapai sentimeter (Wisdom, dkk. 2015). Jumlah sarkomer dalam seri dan paralel mempengaruhi panjang serabut otot dan luas penampangnya, yang mempengaruhi kemampuan sel dalam berkontraksi. Serabut otot lurik tertanam pada matrix ekstraseluler dalam rangkaian yang disebut fasikel (Wisdom, dkk. 2015). Jaringan konektif intramuskular yang mengandung banyak kolagen dapat mencapai 1–10% dari total berat otot, namun sangat bervariasi dapat memiliki panjang hingga sentimeter dan desimeter. Luas penampang serabut otot saja hampir sama dengan jumlah seri dan paralel pada sarkomer (Wisdom, dkk. 2015).

Bentuk otot tergabung dari susunan 3 dimensi yang mempengaruhi perilaku mekanik pada skala organ (Wisdom, dkk. 2015). Latihan memiliki pengaruh stimulus mekanik. Stress mekanik memicu gangguan pada bagian sarkolema. IGF-1 sebagai induk mediasi pertumbuhan untuk otot rangka. IGF-1 akan mengaktifkan sintesa protein melalui PI3K-PKB-TSC2-mTOR pathway



(Egan, 2013). Proliferasi (PAX7) dan diferensiasi sel satelit berhubungan dengan IGF-1. Pada checkpoint siklus sel, IGF-1 berperan dalam aktivasi pada cyclin-dependent kinase 2 (Cdk2). Cdk2 mengatur apakah sel akan memulai replikasi DNA atau tetap quiescent pada fase G1 siklus sel. Otot rangka akan dipengaruhi oleh aktivitas fisik untuk memenuhi kebutuhan dan tekanan lingkungan dan Pax 7 dibutuhkan untuk menjaga dan mempertahankan cadangan sel satelit. Pertumbuhan sel akan mengakibatkan diameter sel otot meningkat yang dalam hal ini diperantarai juga oleh mTOR. Jalur mTOR mengendalikan mTORC1 yang mengandung raptor untuk sensitifitas rapamycin yang digunakan untuk pensinyalan dengan p70s6k dan 4e-BP1 (Egan, 2013), sedangkan mTORC2 mengandung rictor yang tidak menghambat sensitifitas rapamycin dalam pensinyalan dengan Akt-FOXO. mTORC1 yang merupakan regulator sintesa protein saat terjadi stimulus latihan sehingga menyebabkan hipertropi otot lurik.

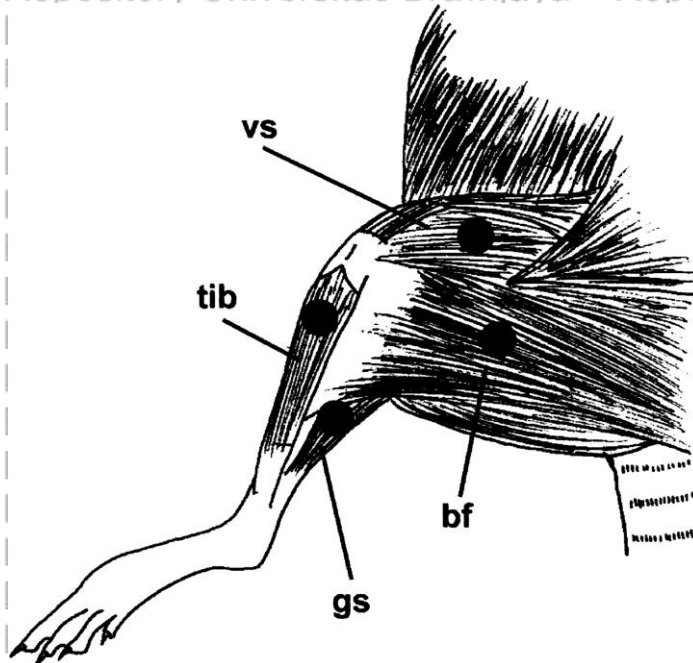
Ekskresi myosin heavy chain dalam otot rangka dapat berubah akibat tekanan mekanik. Pembentukan otot dipengaruhi oleh isoform myosin heavy chain jenis lambat pada model hewan coba untuk meregang, membawa beban dan latihan fisik eksentrik (Wisdom, dkk. 2015). Terjadi penambahan sarkomer saat respon pembebanan yang banyak mengekspresikan isoform myosin heavy chain pada jenis otot lambat (Wisdom, dkk. 2015).

Hipertropi otot akibat latihan fisik mengakibatkan peningkatan ukuran otot (diameter), serta kekuatan otot dengan konsekuensi bertambahnya kemampuan membawa beban lebih berat daripada sebelumnya. Adaptasi hipertropi otot dibutuhkan untuk performa atlet namun juga bermanfaat untuk meningkatkan kesehatan fungsi otot rangka juga dibutuhkan untuk menyeimbangkan kerugian degradasi otot akibat penyakit (Wisdom, dkk. 2015).



2.17 Tibialis Anterior

Jaringan otot Tibialis anterior pada kaki belakang tikus sering digunakan dalam berbagai studi histopatologi. Jaringan tibialis anterior sering digunakan karena kemudahannya dalam akses diseksinya, potongan melintang yang mudah diambil dan memiliki komposisi otot putih yang tinggi. Studi olahraga pada hewan coba tikus banyak menggunakan otot bagian belakang (Wackerhage, 2014) diantaranya tibialis anterior, extensor digitorum longus, gastrocnemius dan soleus. Untuk diseksi pada otot-otot tersebut memerlukan gunting halus dan pinset. Pertama kulit di atas gastrocnemius ditarik ke atas sampai robek dan kemudian otot kaki belakang tikus akan terlihat bagian tibialis dan ekstensor digitorum longus di bagian depan dan gastrocnemius dan soleus berada di bagian belakang. Otot tibialis anterior diambil dari tikus dan secepatnya diletakkan di paraformaldehid untuk difiksasi. Mencelupkannya pada paraformaldehid akan membuat otot tetap tahan dan menghindari pengkriputan otot.



Vs : Vastus
Tib : Tibialis
Gc : Gastrocnemius
Bf : Biceps femoris



Gambar 2.5 Gambar daerah hot kaki belakang bagian bawah pada tikus <http://ajpheart.physiology.org/content/280/3/H1324>

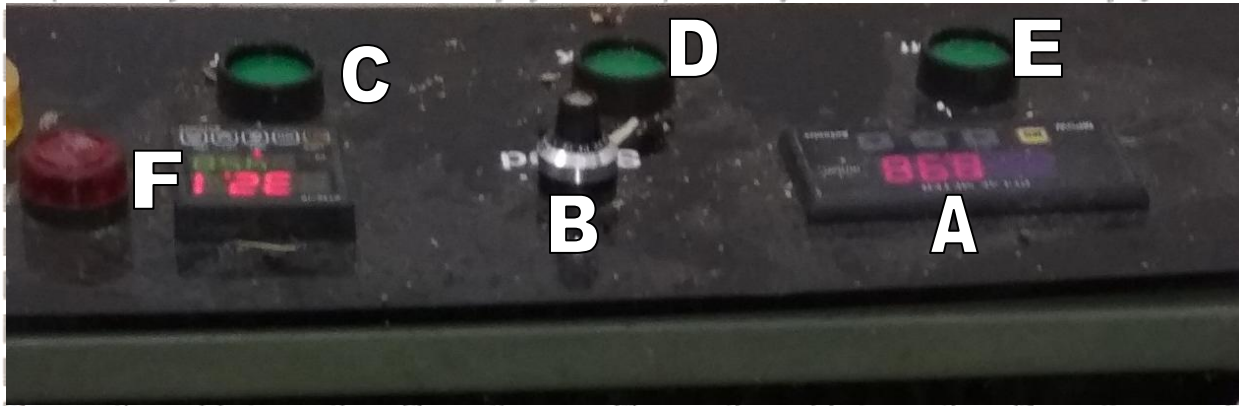
2.18 Alat Treadmill Pada Hewan Coba Tikus

Treadmill lari sering digunakan selama kurang lebih 4 dekade untuk mempelajari perilaku, fisiologi, biokimia, dan yang paling sering adalah respon molekuler akut maupun kronik akibat latihan (Kregel, dkk. 2006). Treadmill pada tikus sering digunakan sebagai alat untuk mempelajari jumlah kerja maksimal karena memiliki cara hitung yang mudah. Selain itu rentang metabolik seperti ombilan oksigen dan produksi karbon dioksida pada hewan dapat ditentukan dengan cara mengetahui jenis intensitas yang diberikan. Untuk menentukan intensitas latihan yang diberikan pada tikus, peneliti dapat mengendalikan jenis intensitas dan durasinya.



Gambar 2.6 Model Treadmill Tikus dengan 4 jalur.Kelebihan dari penggunaan running treadmill diantaranya, presisi dalam mengatur kecepatan dan durasi, sesuai untuk berbagai jenis intensitas olahraga dan mampu menyebabkan peningkatan kronik akibat latihan, cocok untuk perlakuan pada studi patologi karena kecepatan menentukan kapasitas tikus dan memiliki

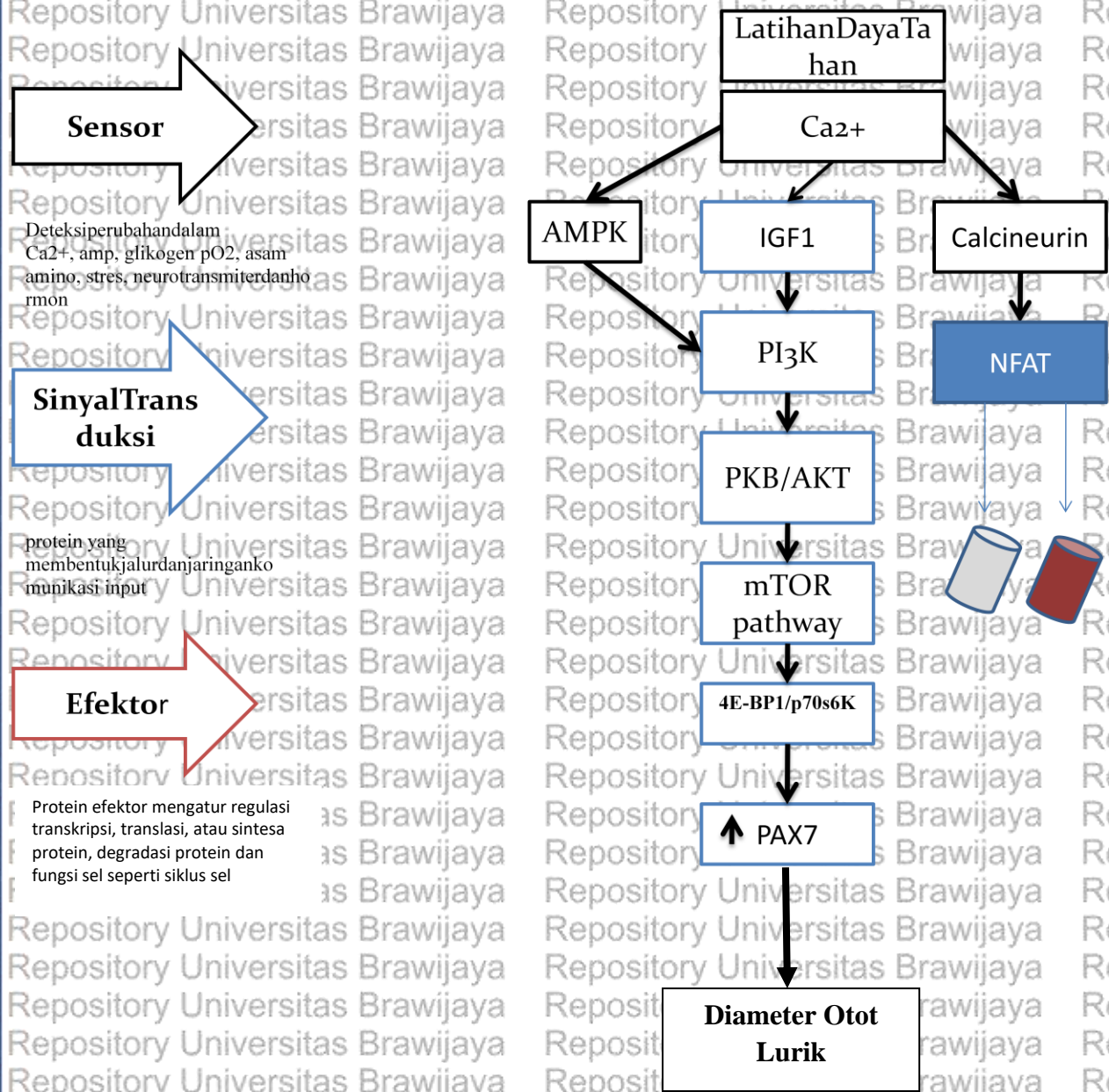
stimulus latihan yang ringan, dan sering digunakan pada penelitian behaviour, physiological, biochemical, dan *molecular response*(Kregel.2006)



Gambar 2.7. Pengaturan tombol pada treadmill tikus. A) Indikator kecepatan treadmill, B) Pengaturan tambah atau pengurangan kecepatan C) Tombol power mesin treadmill D) Pengaturan untuk menjalankan lintasan, E) Saklar penyengat listrik, dan F) Durasi yang ditentukan dan indikator alarm. Pemberian perlakuan treadmill sesuai dengan program latihan yang sudah dirancang, dilakukan dengan prosedur (lampiran 9).



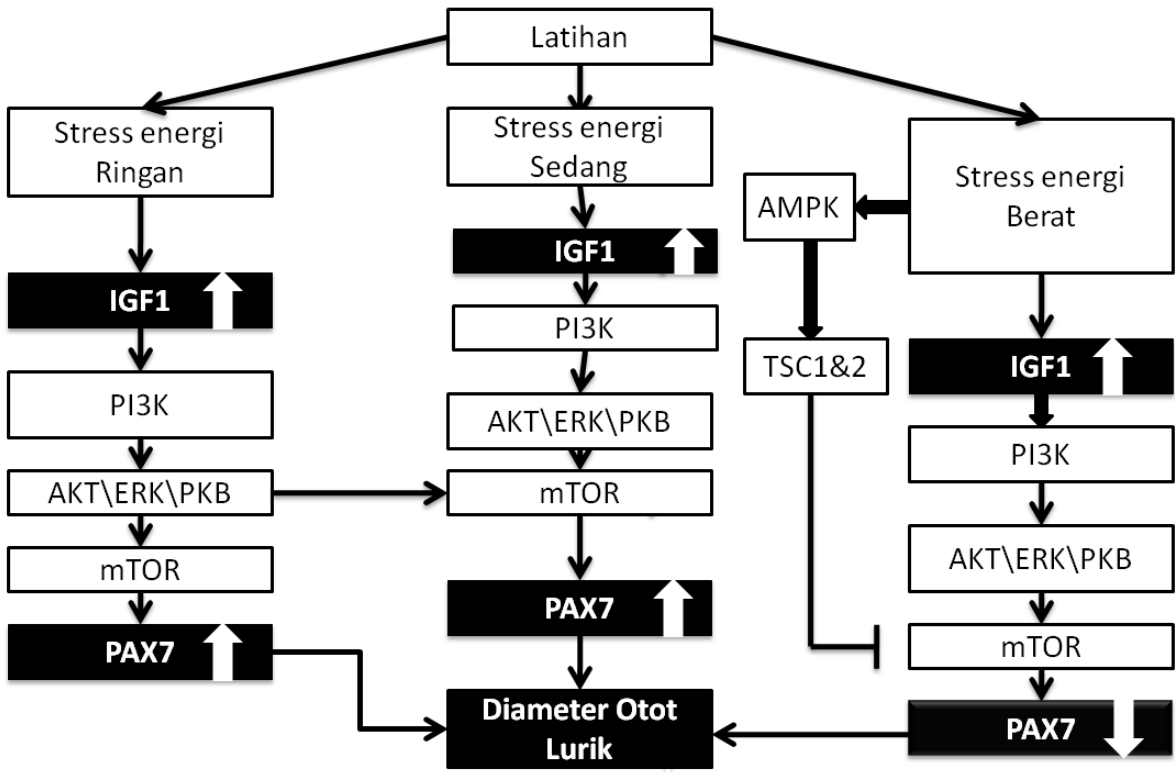
2.19 Kerangka Teori "Dinamika Stimulus Latihan terhadap Aktivasi Pax7 dan Diameter Otot Lurik"



BAB III

KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



█ : Variabel yang diteliti

→ Menginduksi



Latihan memiliki pengaruh stimulus mekanik pada otot dengan sensor *stretch* (meregang), *swelling* (bengkak), *high tension* (tegang) dan *damage* (cedera/rusak). Stress mekanik memicu gangguan pada bagian sarkolema, menghasilkan kerusakan pada jaringan otot saat latihan akibat degradasi protein kontraktil. Latihan akan menyebabkan regangan yang akan menstimulasi inflamasi sehingga mengeluarkan sel mast otot yang mengaktifkan TNF α dan IL 6. Aktifnya TNF α dan IL6 akan mengaktifkan sel satelit. IGF-1 sebagai induk mediasi pertumbuhan atau promotor dan Myostatin sebagai induk mediasi inhibitor pertumbuhan untuk otot rangka. Baik IGF-1 dan Myostatin mempunyai peran utama dalam regulasi transkripsi melalui faktor transkripsi downstream, sintesis protein dan pemecahan protein. IGF-1 akan mengaktifkan sintesa protein melalui PI3K-PKB-TSC2-mTOR pathway. Proliferasi (PAX7) dan diferensiasi sel satelit berhubungan dengan IGF-1. Pada checkpoint siklus sel, IGF-1 berperan dalam aktivasi pada cyclin-dependent kinase 2 (Cdk2). Cdk2 mengatur apakah sel akan memulai replikasi DNA atau tetap quiescent pada fase G1 siklus sel. Otot rangka akan dipengaruhi oleh aktivitas fisik untuk memenuhi kebutuhan dan tekanan lingkungan dan Pax 7 dibutuhkan untuk menjaga dan mempertahankan cadangan sel satelit.

Gangguan dan kerusakan pada protein sel otot akan ditanggapi dengan menghasilkan sitokin. Bila intensitas olahraga yang dilakukan terlalu berat maka TNF α yang akan dikeluarkan dan bila intensitas olahraga yang dilakukan sesuai dengan kemampuan fisik maka *Growth Factor* akan disekresikan. Serat otot rangka akan menginduksi ekspresi lokal dan mengeluarkan IL-6 karena adanya respon hipertropi.

Latihan treadmill dengan intensitas yang berbeda memiliki respon otot yang berbeda. Latihan dengan energi predominan aerob dapat memasok kebutuhan energi yang besar dalam jangka waktu yang lama. Intensitas rendah dan sedang dapat dikompensasi oleh tubuh, karena stimulus tekanan energi dapat ditolerir oleh sistem homeostasis, namun intensitas tinggi tidak mampu ditoleransi oleh tubuh. Pengaruh latihan intensitas berat terhadap otot sama dengan latihan dengan intensitas sedang, namun yang menjadi perbedaan keduanya adalah tingkat



kerusakan otot dan stress energi. Peningkatan stress energi fisik akan menyebabkan peningkatan AMPK sehingga akan menurunkan regulasi AKT untuk sel satelit sehingga aktivasi PAX7 akan menurun. Intensitas berat akan menyebabkan tekanan sistem energi yang menyebabkan menurunnya kadar nutrisi dalam sel. Dalam mekanisme sinyal faktor pertumbuhan, kompleks Raptor mTOR diatur dengan input kedua dari jalur pensinyalan dengan mendeteksi kadar nutrisi dalam medium. Absennya glukosa akan mengaktifkan LKB1 kinase sehingga akan memfosforilasi AMPK. Absennya glukosa dalam sel akan meningkatkan kadar AMP, yang merupakan koaktivator AMPK. Aktifnya AMPK akan mengatur TSC1 dan TSC2 dengan memfosforilasi protein TSC2 yang berkebalikan kerja dengan AKT-1 sehingga mematikan protein RHEB G dan menurunkan aktifitas TOR. Saat nutrisi dalam keadaan yang tinggi TOR akan aktif dan memfosforilasi protein 4EBp dan melepaskan eukaryotic initiation factor 4E (eIF4E), yang merupakan komponen penting dalam inisiasi translasi dan mempromosikan pertumbuhan sel. Pertumbuhan sel akan mengakibatkan diameter sel otot meningkat yang dalam hal ini diperantairai juga oleh mTOR. Jalur mTOR mengendalikan mTORC1 yang mengandung raptor untuk sensitifitas rapamycin yang digunakan untuk pensinyalan dengan p70^{S6k} dan 4e-BP1, sedangkan mTORC2 mengandung rictor yang tidak menghambat sensitifitas rapamycin dalam pensinyalan dengan Akt-FOXO. mTORC1 yang merupakan regulator sintesa protein saat terjadi stimulus latihan sehingga menyebabkan hipertropi otot lurik.



3.2 Hipotesis penelitian

Terdapat hubungan antara intensitas ringan dan sedang berdampak meningkatkan diameter otot lurik, IGF-1 dan Pax7, namun intensitas berat menurunkan diameter otot dan Pax7.

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan diameter otot lurik pada tikus *ratus norvegicus*
2. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi IGF-1 tikus wistar *ratus norvegicus*.
3. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi PAX7 pada tikus wistar *ratus norvegicus*.
4. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan diameter otot tikus *ratus norvegicus*
5. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan IGF-1 otot tikus *ratus norvegicus*
6. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan PAX7 otot tikus *ratus norvegicus*



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis / Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental laboratories* dengan rancangan *Posttest-Only Design*. Subyek yang memenuhi kriteria inklusi dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: kelompok perlakuan latihan treadmill intensitas ringan, latihan treadmill intensitas sedang, latihan treadmill intensitas berat dan kelompok kontrol dengan teknik *simplerandomsampling*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan selama 4 bulan, mulai dari bulan Februari hingga Mei 2017.

4.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biosains dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Sampel Penelitian

4.3.2.1 Kriteria inklusi

Rattus norvegicus wistar berjenis kelamin jantan, berumur 2 bulan, berat badan berkisar antara 170-180 gram per ekor. Hewan coba harus dalam keadaan sehat, yang ditandai dengan aktif bergerak dan bulu tidak mudah rontok.



4.3.2.2 Kriteria eksklusi

Sampel penelitian dieksklusi apabila selama pengamatan terlihat sakit dengan menunjukkan perubahan perilaku seperti tidak aktif, perubahan pola makan dan minum serta mempunyai cacat fisik.

4.4 Perhitungan Besar Sampel

Besar sampel merujuk penelitian Charan, & Kantharia.(2013) &Gholamnézhad, dkk (2014). Sehingga subyek penelitian yang diperlukan untuk masing-masing kelompok adalah 6 ulangan sehingga total subyek penelitian sebanyak 24 subyek penelitian.

4.4.1 Variabel Penelitian

4.4.1.1 Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah latihan *treadmill* kecepatan dengan intensitas ringan, latihan sedang dan latihan intensitas berat dengan *treadmill*.

4.4.1.2 Variabel terikat

1. Diameter Otot
2. Ekspresi IGF-1
3. Ekspresi Pax7

4.4.1.3 Variabel terkendali

Variabel terkendali tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar*, jaringan otot Tibialis Anterior dan cara pemberian perlakuan latihan *treadmill*.



4.5 Definisi operasional

4.5.1 Treadmill Intensitas Ringan

Latihan dengan *treadmill* intensitas ringan menggunakan kriteria ukur *maximalexercise test* (Rodrigues, dkk. 2007), dengan kecepatan 8-10 m/mnt

4.5.2 Treadmill Intensitas Sedang

Latihan dengan *treadmill* intensitas sedang menggunakan kriteria ukur *maximalexercise test* (Rodrigues, dkk. 2007), dengan kecepatan 14-16 m/mnt

4.5.3 Treadmill Intensitas Berat

Latihan dengan *treadmill* intensitas berat menggunakan kriteria ukur *maximalexercise test* (Rodrigues, dkk. 2007), dengan kecepatan 22-25 m/mnt

4.5.4 Diameter Otot Lurik

Diameter otot lurik adalah jaringan otot tibialis anterior tikus wistar diukur menggunakan software ImageJ (lampiran 8) dengan 2.04 μm (Clark, 2016) pada 20 lapang pandang, perbesaran 40x. Otot lurik tikus wistar masing-masing dihitung sebanyak 200 serabut otot merujuk pada model penghitungan Castoldi dkk (2015), dengan satuan micrometer.

4.5.2 Ekspresi IGF-1

IGF-1 adalah hormon yang memiliki struktur molekul yang sama dengan insulin yang berperan penting dalam regenerasi otot. Ekspresi IGF-1 diketahui dari otot tibialis anterior tikus wistar dengan imunohistokimia melalui blok paraffin dari spesimen biopsi dengan poliklonal antibodi Pax 7 (BIOSUSA) dan DAB (diamino benzidine) yang dilihat dari mikroskop cahaya dengan 20 lapang pandang, dan dihitung dengan *multipointcursor* dengan software ImageJ dan dihitung dengan satuan micrometer.



4.5.3 Ekspresi Pax 7

Pax 7 merupakan family member *paired box transcription factor* yang mengekspresikan sel satelit merupakan aktivasi proses miogenik. Ekspresi Pax 7 akan diketahui dari otot tibialis anterior tikus wistar diketahui dengan metode imunohistokimia dengan blok paraffin dari spesimen biopsi dengan poliklonal antibodi Pax 7 (BIOSUSA) dan DAB (diamino benzidine) kemudian dilihat dengan mikroskop cahaya dengan 20 lapang pandang, dan dihitung dengan *multipointcursor* dengan software ImageJ dan dihitung dengan satuan micrometer.

4.6 Prosedur

4.6.1. Prosedur Latihan Treadmill

Program latihan pada penelitian ini menggunakan treadmill tikus yang dibagi tiga jenis intensitas latihan yaitu intensitas ringan, sedang dan intensitas berat. Untuk treadmill intensitas ringan dengan kecepatan 8-10 m/mnt setara (45-62% VO_2 reserve); untuk treadmill intensitas sedang dengan kecepatan 14-16 m/mnt setara dengan (60-78% VO_2 reserve), untuk treadmill intensitas berat dengan kecepatan 22-25 m/mnt setara dengan (103-128% VO_2 reserve).

4.6.2. Prosedur pengoperasian alat treadmill

1. Alat Treadmill dihidupkan
2. Penutup treadmill dibuka dan bersihkan lintasan dari kotoran
3. Tikus dimasukkan ke dalam lintasan treadmill (arah lari berlawanan dengan roda lintasan)
4. Pelindung lintasan treadmill ditutup
5. tekan start untuk menghidupkan mesin treadmill
6. Atur kecepatan treadmill sesuai dengan program latihan yang sudah direncanakan
7. program latihan: intensitas ringan berentang dari 8-10 m/mnt, intensitas sedang 14-16 m/mnt dan intensitas berat 22-25 m/mnt (Lampiran 3).



4.6.3 Prosedur Terminasi, Pengambilan Organ

Tikus diistirahatkan selama 24 jam dari latihan terakhir setelah perlakuan selama 12 minggu. Tujuannya adalah agar jaringan yang diambil merupakan hasil dari adaptasi latihan dan menghindari efek latihan terakhir. Sehingga ekspresi Pax7 dan IGF-1 yang diambil merupakan hasil adaptasi dan bukan respon yang terjadi dari tubuh tikus atau faktor lain di luar rencana penelitian. Hewan coba diterminasi dengan anastesi Ketamin 40 mg/Kg berat badan melalui injeksi Intraperitoneal (Castoldi, dkk. 2017). Organ otot tibialis & digitorum longus mencit diletakkan di dalam tempat organ dan direndam dengan formalin 10%; selanjutnya dibuat sediaan histopatologi.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat pemeliharaan Binatang Coba

Kandang dari kotak plastik, tutup kandang dari anyaman kawat, botol air, rak tempat menaruh kandang.

4.7.2 Makanan Binatang Coba

Standar makanan disediakan oleh laboratorium Biosains Universitas Brawijaya.

4.7.3 Alat pengambilan sampel

Seperangkat alat bedah, spuit 5 ml, seperangkat tabung reaksi, kapas, hand glove, tempat organ

4.7.4 Alat Perlakuan Latihan

Treadmill, Laptop, Stopwatch dan Alat tulis



4.7.5 Bahan dan Pemeriksaan Histopatologi

Formalin 10%, Xylool, Parafin lunak, Parafin keras, Counter staining, Pewarna, Alkohol (30%, 50%, 70%, 80%, 96%, absolute), PBS dan Aquades

4.7.6 Prosedur pengukuran ekspresi Pax 7 dan IGF-1

a. Pembuatan Sediaan paraffin Blok

Jaringan dicuci dengan PBS 3-5 kali untuk membersihkan kontaminan, kemudian difiksasi dengan formalin 10%. Kemudian dilakukan dehidrasi dengan menggunakan alkohol bertingkat (30%, 50%, 70%, 80%, 96% dan absolute) masing-masing 60 menit. Dilakukan clearing 2 kali menggunakan xilol, masing-masing 60 menit. Dilakukan infiltrasi dengan paraffin lunak selama 60 menit pada suhu 48°C. Dilakukan block dalam paraffin keras pada cetakan, kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan penempelan pada holder dan dilakukan pemotongan setebal 4-6 µm dengan rotary microtome. Dilakukan mounting pada gelas obyek dengan gelatin 5%.

b. Proses deparafinisasi

Gelas obyek hasil paraffin block direndam 2 kali dalam xilol, masing-masing selama 5 menit dan dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol berseri (absolute, 96%, 80%, 70%, 50% dan 30%) masing-masing selama 5 menit. Kemudian dibilas dalam dH₂O selama 5 menit

c. Pengamatan Ekspresi IGF-1 pada jaringan Tibialis Anterior Rattus Norvegicus Wistar dengan immunohistokimia

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Bloking endogenous peroksida menggunakan H₂O₂ 3% selama 20 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Bloking unspezifik protein menggunakan FBS 5% yang mengandung 0.25% Triton X-100. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Inkubasi menggunakan



rat polyclonal anti IGF-1 (BIOUSA) selama 60 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Inkubasi menggunakan anti rabbit HRP conjugated selama 40 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Ditetesi dengan DAB (diamino benzidine) dan inkubasi selama 10 menit. Dicuci menggunakan BS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Dicuci menggunakan dH₂O selama 5 menit. Counterstaining menggunakan meyer hematoxilen yang diinkubasi selama 10 menit dan dicuci menggunakan tap water. Dibilas menggunakan dH₂O dan kering anginkan. Mounting menggunakan entelan dan tutup dengan cover glass. Diamati pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Jaringan otot yang mengekspresikan IGF-1 akan tampak berpendar coklat pada sitoplasmanya.

d. Pengamatan Ekspresi Pax 7 pada jaringan Tibialis Anterior Rattus Norvegicus Wistar dengan immunohistokimia

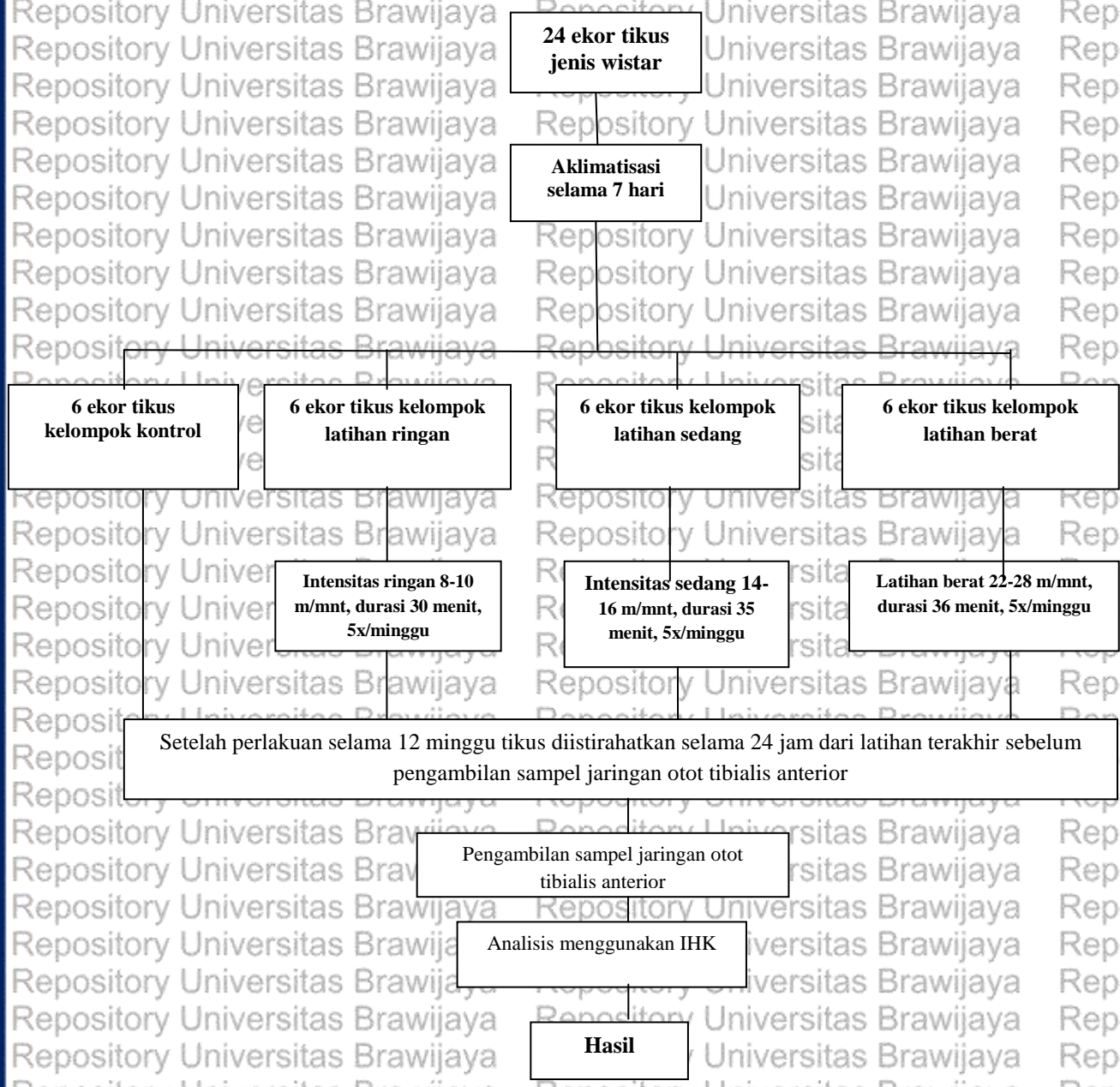
Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Bloking endogenous peroksida menggunakan H₂O₂ 3% selama 20 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Bloking unspezifis protein menggunakan FBS 5% yang mengandung 0.25% Triton X-100. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Inkubasi menggunakan rat polyclonal anti Pax 7 (BIOUSA) selama 60 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Inkubasi menggunakan anti rabbit HRP conjugated selama 40 menit. Dicuci menggunakan PBS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Ditetesi dengan DAB (diamino benzidine) dan inkubasi selama 10 menit. Dicuci menggunakan BS pH 7,4 satu kali selama 5 menit. Dicuci menggunakan dH₂O selama 5 menit. Counterstaining menggunakan meyer hematoxilen yang diinkubasi selama 10 menit dan dicuci menggunakan tap water. Dibilas menggunakan dH₂O dan kering anginkan. Mounting menggunakan entelan dan tutup dengan cover glass. Diamati pada mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x. Sel satelit yang mengekspresikan Pax 7 akan tampak berpendar coklat pada sitoplasmanya.



e. Metode Perhitungan Terhadap Hasil Pemulasan Histokimia

Penelitian ini menggunakan jaringan Tibialis Anterior tikus wistar. Terdapat 24 slide yang terdiri dari 6 slide x 4 kelompok pemeriksaan. Setiap sampel jaringan dibuat sediaan irisan dengan ketebalan 4 μm , kemudian dideteksi pemeriksaan imunohistokimia. Untuk keperluan perhitungan slide yang siap diamati, berkode slide ditutup nomor kodenya dan diberi nomor baru secara acak sehingga pemeriksa tidak mengetahui kelompok slide yang diperiksa. Pemeriksa terdiri dari 2 orang analis pataologi anatomi, dimana pemeriksaan dan perhitungan sampel dilakukan secara terpisah dan tanpa mengetahui deskripsi sampel. Pemeriksaan dan perhitungan jumlah populasi Pax 7 pada masing-masing slide pada bidang pandang dengan pembesaran 40x (4x10) sebanyak 20 lapang pandang. Hasil setiap perhitungan ditulis pada lembar kerja dan diambil nilai rata-rata per lapang pandang.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan aplikasi SPSS 16.0 dengan tahap sebagai berikut:

1. Data pertama kali diuji menggunakan uji statistik deskriptif
2. Sebelum diuji Anova, data terlebih dahulu diuji tingkat distribusi (sebaran/normalitas) menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan taraf signifikansi $\alpha=0,01$
3. Kemudian data yang telah normal, diuji homogenitas dengan taraf signifikansi $\alpha = 0,01$
4. Untuk mengetahui pengaruh latihan treadmill dengan intensitas ringan, sedang dan berat terhadap diameter otot, ekspresi IGF-1 dan Pax 7, maka dilakukan uji statistik anova
5. Hubungan antara perlakuan intensitas ringan, sedang dan berat dengan diameter otot lurik diuji menggunakan Korelasi Pearson. Pengujian semua data menggunakan program komputer melalui operasional aplikasi statistik packet for social science (SPSS) 16.

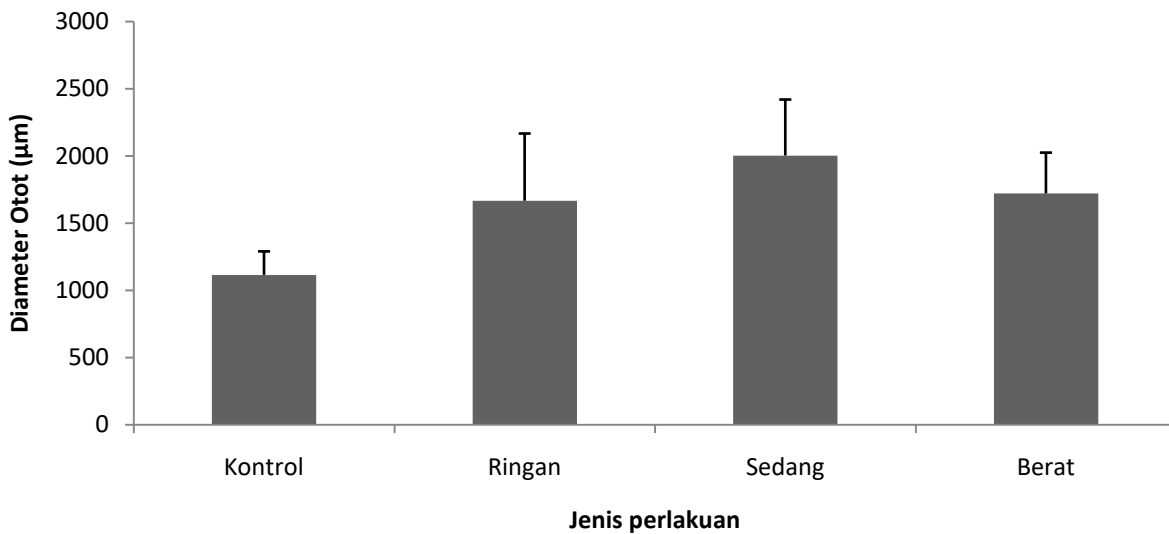


BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Latihan daya tahan treadmill terhadap diameter otot

Hasil pengukuran diameter sel otot lurik diambil dari masing-masing serabut otot tikus wistar yang didapatkan dari scan computer dan diamati menggunakan software OlyVIA Olympus. Untuk menghitung diameter otot lurik, dilakukan menggunakan bantuan software ImageJ dengan mengubah satuan pixel menjadi satuan micron (μm).



Gambar 5.1 pengaruh latihan daya tahan treadmill ringan, sedang dan berat terhadap diameter otot lurik tibialis anterior tikus wistar. Kontrol: tanpa latihan, Ringan : kecepatan treadmill 8-10 m/mnt, Sedang: kecepatan treadmill 14-16 m/mnt dan Berat: dengan kecepatan treadmill 22-25 m/mnt. Diameter otot dihitung masing-masing 200 serabut otot per tikus. Hasil perlakuan treadmill intensitas ringan menunjukkan peningkatan diameter otot dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan kecepatan sedang menunjukkan peningkatan diameter otot dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan intensitas berat menunjukkan peningkatan diameter otot dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan dengan intensitas berat hasil diameter otot menurun daripada pada kelompok intensitas sedang ($p < 0.05$).

Hasil pengukuran diameter otot lurik dianalisis secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk (Lampiran 6). Dari hasil analisis diperoleh nilai signifikansi yang lebih besar dari α (0.05) sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Untuk mengetahui homogenitas ragam data dilakukan uji Levene dan didapatkan nilai signifikansi sebesar



0.132 yang lebih besar dari α (0.05) (lampiran 6). Hasil uji homogenitas ragam data menunjukkan bahwa ragam data homogen. Pengujian statistic one way anova dapat dilakukan ketika persyaratan asumsi normalitas dan homogenitas data terpenuhi. Pengujian ini dilakukan menggunakan bantuan SPSS versi 16.0 (Lampiran 6). Hasil pengujian one way Anova menunjukkan nilai $p < 0.05$ yaitu sebesar 0.004, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat minimal dua kelompok yang berbeda secara bermakna.

Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey diperoleh perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan sedang dan berat (Lampiran 6). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan intensitas berat bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

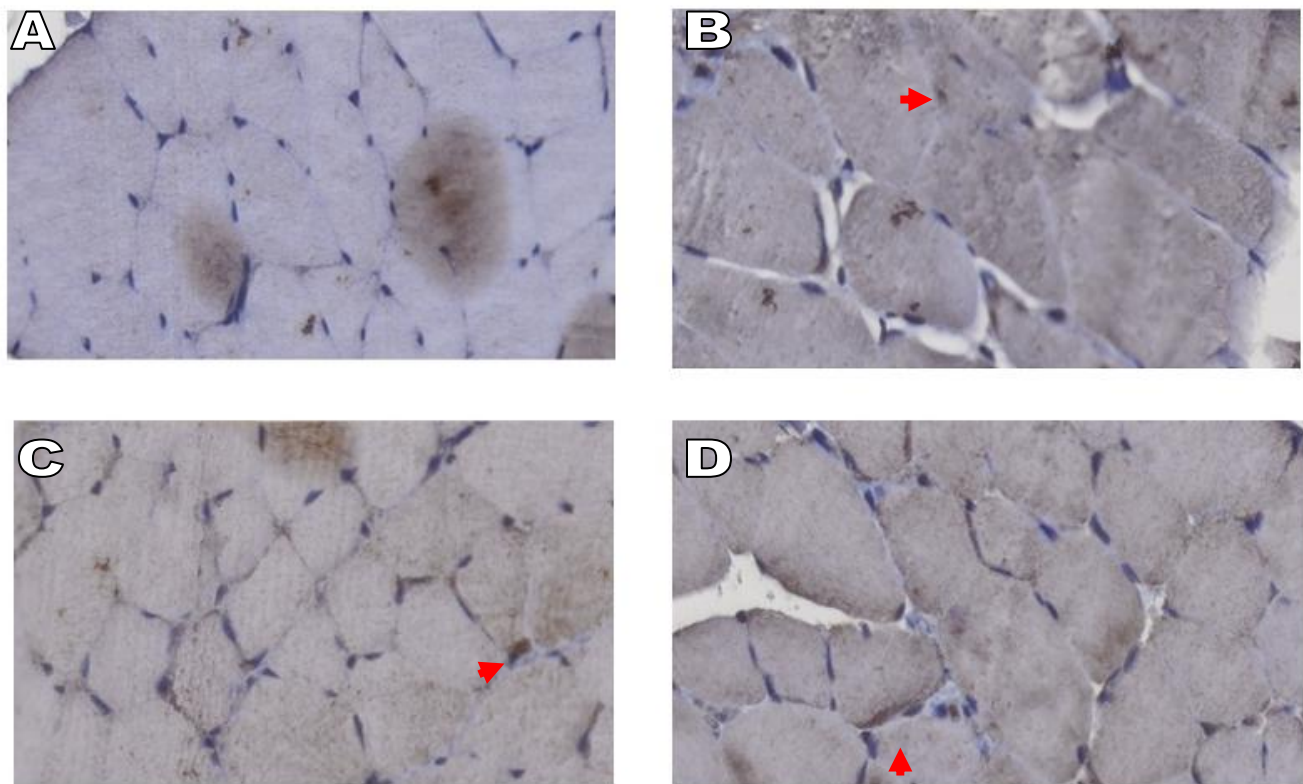
Perbedaan signifikan juga ditunjukkan oleh kelompok perlakuan intensitas sedang dengan perlakuan ringan dengan signifikansi ($p=0.415$), sedangkan antara kelompok intensitas sedang dengan kelompok kontrol terdapat perbedaan dengan signifikansi ($p=0.003$) namun kelompok latihan dengan intensitas berat justru menurun ($p=0.562$).

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan latihan daya tahan treadmill dengan intensitas ringan dan sedang mampu meningkatkan diameter otot lurik, namun dengan latihan intensitas berat diameter otot justru menurun. Sehingga dapat diketahui bahwa perlakuan latihan daya tahan treadmill ringan dan sedang mampu meningkatkan diameter pada otot lurik tibialis anterior tikus wistar.



5.2 Pengaruh latihan daya tahan treadmill ringan, sedang dan berat terhadap ekspresi IGF-1 otot lurik Tibialis anterior

Pengukuran ekspresi IGF-1 otot lurik tibialis anterior pada tikus wistar dilakukan dengan menggunakan metode imunohistokimia. Ekspresi IGF1 diukur berdasarkan densitas antibodi dari scan gambar histopatologi yang sudah dilabeli dengan Anti-IGF1 poliklonal. Terdapat 4 kelompok sampel dengan pengulangan sebanyak 6 kali pada masing-masing kelompok. Tampilan representatif hasil pengukuran ekspresi IGF1 otot lurik tibialis anterior dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.2 Tampilan representatif imunohistokimia IGF-1 tibialis anterior kiri tikus(perbesaran 40x). (A) kelompok tanpa latihan (B) perlakuan intensitas ringan (8-10 m/mnt), (C) perlakuan intensitas sedang (14-16 m/mnt) dan (D) perlakuan intensitas tinggi (22-25 m/mnt). Ekspresi anti-IGF-1 diukur menggunakan imunohistokimia. IGF-1 diukur dengan penghitungan 20 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya. Panah merah menunjukkan warna coklat (IGF-1) yang berada di sitoplasma. Ekspresi IGF-1 ditunjukkan dengan anak panah merah yang menunjukkan tanda coklat di daerah sitoplasma sel otot rangka. Pada kelompok kontrol (A) ekspresi IGF-1 tidak nampak hal ini ditunjukkan karena rendahnya densitas warna coklat disekitar sitoplasma. Pada kelompok intensitas ringan (B) ekspresi IGF-1 nampak dengan densitas warna coklat disekitar sitoplasma dan dekat dengan inti sel. Pada kelompok intensitas sedang (C) ekspresi IGF-1 nampak dengan densitas warna coklat di



daerah sitoplasma dan dekat dengan inti sel. Pada kelompok intensitas berat (D) ekspresi IGF-1 nampak dengan densitas warna coklat di daerah sitoplasma dan berdekatan dengan inti sel.

Tabel 5.1 Perbandingan presentase rerata penghitungan IGF-1 dari Tibialis Anterior 4 kelompok dengan menggunakan penghitungan manual.

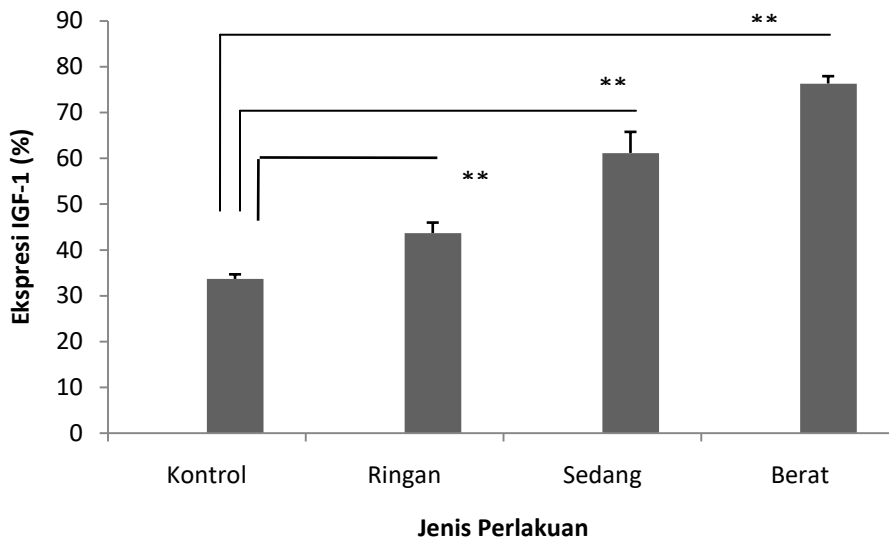
P/N	1	2	3	4	5	6	Rata-rata± SD	p*
Berat	76.0	77.0	75.0	78.0	74.0	78.0	76.33 ± 1.6	0.000
Sedang	56	57	66	65	58	65	61.17 ± 4.6	0.000
Ringan	42	45	41	45	42	47	43.67 ± 2.3	0.000
Kontrol	34.0	35.0	33.0	32.0	34.0	34.0	33.67 ± 1.0	

Keterangan: *) berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$); P: perlakuan, N: jumlah ulangan sampel.

Hasil pengukuran ekspresi IGF1 otot lurik dianalisis secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk (Lampiran 4). Dari hasil analisis diperoleh nilai signifikansi yang lebih besar dari α (0.05) sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Untuk mengetahui homogenitas ragam data dilakukan uji Levene dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 yang lebih besar dari α (0.05) (lampiran 4). Hasil uji homogenitas ragam data menunjukkan bahwa ragam data homogen. Pengujian statistic one way anova dapat dilakukan ketika persyaratan asumsi normalitas dan homogenitas data terpenuhi. Pengujian ini dilakukan menggunakan bantuan Spss versi 16.0 (Lampiran 4). Hasil pengujian one way Anova menunjukkan nilai $p < 0.05$ yaitu sebesar 0.000, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat minimal dua kelompok yang berbeda secara bermakna.



Perbedaan rerata ekspresi IGF1 pada keempat kelompok perlakuan tersebut disajikan pada histogram di bawah ini:



Gambar 5.3 Histogram presentase rerata peningkatan ekspresi IGF-1 jaringan tibialis anterior tikus. Kontrol: tanpa latihan, Ringan : kecepatan treadmill 8-10 m/mnt, Sedang: kecepatan treadmill 14-16 m/mnt dan Berat: kecepatan treadmill 22-25 m/mnt. Ekspresi Pax7 diukur menggunakan imunohistokimia. Pax7 diukur dengan penghitungan 20 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Kemudian dikuantifikasi menggunakan software ImageJ. Hasil perlakuan treadmill intensitas ringan menunjukkan peningkatan IGF-1 dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan kecepatan sedang menunjukkan peningkatan IGF-1 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan intensitas berat menunjukkan peningkatan IGF-1 dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan dengan intensitas berat hasil IGF-1 lebih tinggi daripada pada kelompok intensitas ringan dan sedang ($p < 0.05$).

Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey diperoleh perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan berat (Lampiran 4). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan treadmill intensitas berat bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

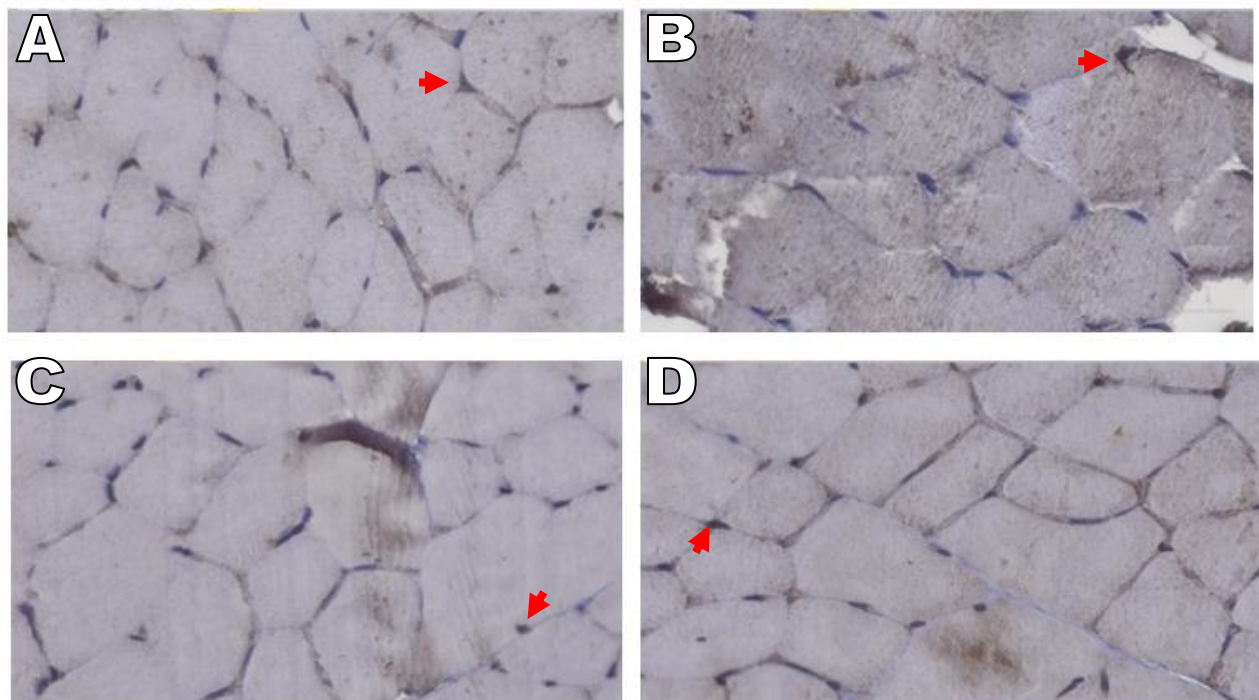
Perbedaan signifikan juga ditunjukkan oleh kelompok perlakuan intensitas sedang dengan kelompok kontrol dengan signifikansi ($p = 0.000$), sedangkan antara kelompok intensitas ringan dengan kelompok kontrol signifikansi ($p = 0.000$).

Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan latihan daya tahan treadmill mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 otot lurik. Oleh karena itu dapat diambil kesimpulan bahwa perlakuan latihan daya tahan treadmill mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 pada otot lurik tibialis anterior tikus wistar.



6.3 Pengaruh latihan daya tahan treadmill terhadap Pax7 otot lurik Tibialis anterior

Pengukuran ekspresi Pax7 otot lurik tibialis anterior pada tikus wistar dilakukan dengan menggunakan imunohistokimia. Ekspresi Pax7 diukur berdasarkan densitas antibodi dari scan gambar histopatologi yang sudah dilabeli dengan Anti-Pax7 poliklonal. Terdapat 4 kelompok sampel dengan pengulangan sebanyak 6 kali pada masing-masing kelompok. Tampilan representatif hasil pengukuran ekspresi Pax7 otot lurik tibialis anterior dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.4 Tampilan representatif imunohistokimia tibialis anterior kiri tikus (perbesaran 40x). Wistar menggunakan Anti-Pax7 poliklonal setelah diberi latihan treadmill selama 9 minggu (A) kelompok tanpa latihan, (B) perlakuan intensitas ringan (8-10 m/mnt), (C) perlakuan intensitas sedang (14-16 m/mnt) dan (D) perlakuan intensitas tinggi (22-25 m/mnt). Panah merah menunjukkan warna coklat (Pax7) yang berada berdekatan dengan inti sel. Ekspresi PAX7 ditunjukkan dengan anak panah merah yang menunjukkan tanda coklat di sarkolema sel otot rangka. Pada kelompok kontrol (A) ekspresi PAX7 nampak namun dengan densitas yang lebih rendah yang ditunjukkan didekat inti sel. Pada kelompok intensitas ringan (B) ekspresi PAX7 nampak dengan densitas warna coklat dekat dengan inti sel. Pada kelompok intensitas sedang (C) ekspresi PAX7 nampak dengan warna coklat di dekat inti sel. Pada kelompok intensitas berat (D) ekspresi PAX7 nampak dengan warna coklat di ujung sarkolema berdekatan dengan inti sel.



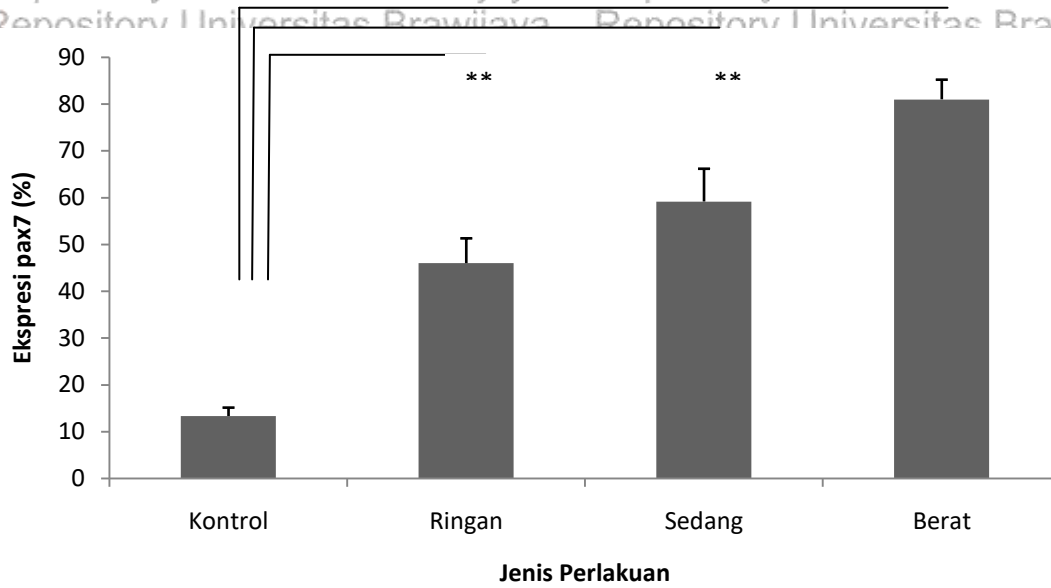
Pada gambar 5.4 terlihat gambar otot lurik tikus wistar yang diperiksa menggunakan imunohistokimia terlihat bahwa Pax7 ditunjukkan dengan panah merah pada masing-masing kelompok. Ekspresi Pax7 ditandai dengan pendaran coklat yang berada bersebelahan atau berada pada letak inti sel otot. Dari hasil gambar imunohistokimia diperoleh informasi bahwa peningkatan ekspresi Pax7 terjadi pada semua kelompok perlakuan latihan bahkan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa Pax7 tetap terekspresi pada sel otot lurik meski tanpa perlakuan. Tabel 5.2 menunjukkan hasil rata-rata ekspresi Pax7 pada sel otot luri tibialis anterior tikus wistar.

Tabel 5.2 Perbandingan presentase rerata PAX7 dari Tibialis Anterior 4 kelompok dengan menggunakan perhitungan manual

P/N	1	2	3	4	5	6	Rata2± SD	p*
Berat	85	76	81	79	78	87	81 ± 4.2	0.000
Sedang	56	65	55	49	62	68	59.17 ± 7	0.000
Ringan	46	51	48	43	37	51	46 ± 5.3	0.000
Kontrol	12	15	13	16	11	13	13.33 ± 1.8	

Keterangan: *) berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0.05$). P: perlakuan, N: jumlah ulangan sampel.

Hasil pengukuran ekspresi Pax7 otot lurik dianalisis secara statistik dengan uji normalitas Shapiro-Wilk (Lampiran 5). Dari hasil analisis diperoleh nilai signifikansi yang lebih besar dari α (0.05) sehingga dapat dikatakan bahwa data terdistribusi normal. Untuk mengetahui homogenitas ragam data dilakukan uji Levene dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000 yang lebih besar dari α (0.05) (lampiran 5). Hasil uji homogenitas ragam data menunjukkan bahwa ragam data homogen. Pengujian statistic one way anova dapat dilakukan ketika persyaratan asumsi normalitas dan homogenitas data terpenuhi. Pengujian ini dilakukan menggunakan bantuan SPSS versi 16.0 (Lampiran 5). Hasil pengujian one way Anova menunjukkan nilai $p < 0.05$ yaitu sebesar 0.000, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat minimal dua kelompok yang berbeda secara bermakna.



Gambar 5.5 Perlakuan latihan yang bervariasi meningkatkan ekspresi Pax7 jaringan tibialis anterior tikus. Kontrol: tanpa latihan, Ringan: kecepatan treadmill 8-10 m/mnt, Sedang: kecepatan treadmill 14-16 m/mnt dan Berat: kecepatan treadmill 22-25 m/mnt. Ekspresi Pax7 diukur menggunakan imunohistokimia. Pax7 diukur dengan penghitungan 20 lapang pandang menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Kemudian dikuantifikasi menggunakan software ImageJ. Hasil perlakuan treadmill intensitas ringan menunjukkan peningkatan PAX7 dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan kecepatan sedang menunjukkan peningkatan PAX7 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan treadmill dengan intensitas berat menunjukkan peningkatan PAX7 dibandingkan kelompok kontrol. Pada kelompok latihan dengan intensitas berat hasil PAX7 lebih tinggi daripada pada kelompok intensitas ringan dan sedang ($p < 0.05$).

Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey diperoleh perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan sedang dan berat (Lampiran 5). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan intensitas berat bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Perbedaan signifikan juga ditunjukkan oleh kelompok perlakuan intensitas sedang dengan kelompok kontrol dengan signifikansi ($p = 0.000$), sedangkan antara kelompok intensitas ringan dengan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan latihan daya tahan treadmill mampu meningkatkan ekspresi Pax7 otot lurik. Sehingga dapat diketahui perlakuan latihan daya tahan treadmill mampu meningkatkan ekspresi Pax7 pada otot lurik tibialis anterior tikus wistar.



BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus wistar Ratus norvegicus, dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu perlakuan intensitas berat (22-25 m/mnt), perlakuan sedang (14-16 m/mnt), perlakuan ringan (8-10 m/mnt) dan kelompok tanpa perlakuan (kontrol). penelitian ini dilakukan untuk mengetahui intensitas yang diberikan dapat berpengaruh pada perkembangan diameter otot, IGF1 dan pax7. Hipertropi otot dapat dipengaruhi oleh latihan daya tahan treadmill. Latihan treadmill bersifat regangan eksentrik. Regangan eksentrik dapat memperpanjang fasikle penampang sarkolema (Wisdom. 2015) Latihan dengan intensitas ringan mempunyai potensi meningkatkan daya tahan otot (Kim, 2018). Latihan dengan intensitas sedang bersifat adekuat sehingga secara bertahap mengubah proporsi jenis serabut otot (Gondret dkk, 2005). Sedangkan latihan dengan intensitas berat dapat berakibat fatal sehingga menghambat pemulihan dan mengganggu homeostasis (Sugiharto. 2012).

6.1 Pengaruh latihan daya tahan treadmill terhadap diameter otot

Perlakuan latihan treadmill terhadap diameter otot menunjukkan persentase peningkatan diameter otot secara signifikan ($p < 0.05$). Hasil kuantifikasi rata-rata diameter yang ditunjukkan oleh histogram pada gambar 5.1 menunjukkan peningkatan diameter otot dari intensitas ringan, sedang dan berat, akan tetapi persentase diameter intensitas sedang lebih tinggi daripada intensitas berat dan ringan. Muatan dalam latihan merupakan faktor utama penentu adaptasi otot. Meskipun dengan muatan yang sedang, bila diberikan waktu yang tepat maka adaptasi akan cepat terjadi. Namun bila muatan latihan terlalu berat maka tubuh tidak mampu mengkompensasi beban akibat stress energi berlebih sehingga adaptasi akan berlangsung lebih lama. Sugiharto (2012) menjelaskan bahwa adaptasi akan terhambat bila tubuh tidak mampu mengkompensasi beban latihan. Faktor yang menyebabkan terganggunya kompensasi tubuh diantaranya tingginya stress dan kurangnya istirahat. Keseimbangan luas



penampang diameter otot ditentukan oleh jumlah sintesa proteinnya atau pemecahan proteinnya. Penyebab mengecilnya diameter otot, atau atrofi disebabkan oleh menurunnya sintesa protein dibandingkan dengan jumlah pemecahan proteinnya. Ketidakseimbangan tersebut menyebabkan menurunnya masa protein otot dan area penampang otot pada serabut otot (Wisdom, 2015).

Latihan treadmill dengan intensitas ringan meningkatkan diameter otot (tabel 5.1). Muatan latihan ringan yang bertahap dan berkelanjutan lebih bermakna daripada muatan yang intens namun tidak teratur. Makna ringan berarti tubuh mampu mengkompensasi beban tersebut. Karena peningkatan fisik memerlukan beban yang merangsang bukannya menantang, sehingga dalam aplikasinya pemberian muatan latihan dalam olahraga rehabilitasi harus dimulai dari yang paling ringan kemudian ditambah hingga target latihan tercapai.

Latihan treadmill dengan intensitas sedang meningkatkan diameter otot (tabel 5.1). Muatan latihan dengan intensitas sedang bersifat adekuat. Spurway (2006), menjelaskan bahwa pola adaptasi otot dipengaruhi oleh jenis kontraksi dan sistem energi yang digunakan. Pada intensitas sedang, kontraksi tidak terlalu cepat dan berat, sehingga predominan energi yang digunakan adalah aerobik. Demikian bila program rehabilitasi olahraga treadmill mampu dilakukan dengan intensitas sedang, maka sudah mampu meningkatkan kapasitas otot yang dalam penelitian ini adalah hipertropi.

Latihan treadmill dengan intensitas berat menurunkan diameter otot (tabel 5.1). Muatan latihan yang terlalu berat maka tubuh tidak mampu mentolerir stress. Sugiharto (2012) menjelaskan stress berlebih akibat latihan akan berakibat terganggunya homeostasis tubuh seperti sindroma latihan, overtraining, kerusakan jaringan, baik tingkat molekul, sel maupun organ. Sehingga dalam aplikasinya perlu adanya penataan latihan agar intensitas latihan dapat dihadapi hingga latihan selesai. Dalam hal ini bila program rehabilitasi menggunakan treadmill,



perlu diperhatikan pengaturan intensitas didasarkan pada kecepatan atau durasi atau kemiringan lari treadmill yang dapat digunakan untuk mengkombinasikan atau menggunakan salah satu namun sesuai dengan kondisi individu yang akan dilatih. Berdasarkan analisis hubungan korelasi antara perlakuan latihan dengan diameter otot memiliki hubungan bermakna ($p < 0.01$) yaitu ($p = 0.010$). Pengaruh latihan treadmill dapat meningkatkan diameter otot meskipun dengan intensitas ringan, namun apabila latihan mencukupi frekuensi dan durasi maka terjadilah adaptasi. Hal ini sejalan dengan Bompa (2015) tubuh akan memasuki fase adaptasi dan siap menghadapi latihan berikutnya.

Faktor yang mempengaruhi hipertropi salah satunya adalah motor unit. Motor unit adalah salah satu saraf motoris di cornu anterior medulla spinalis dengan seluruh serabut otot. Makin lama latihan maka semakin besar serabut otot atau hipertropi. Profil motor unit sangat dipengaruhi oleh pola aktifitas. Motor unit akan teraktivasi setiap otot yang terlibat mengeluarkan daya lebih sering dari yang lain, otot yang jarang digunakan dominan serabut otot yang bersifat glikolitik (cepat). Sehingga aktifitas ringan dan sedang cenderung membentuk adaptasi serabut otot tipe I (lambat) namun bersifat oksidatif (daya tahan).

6.2 Dampak latihan daya tahan treadmill terhadap IGF 1

Latihan treadmill dengan intensitas ringan meningkatkan IGF-1 (gambar 5.3). presentase perbandingan antara intensitas ringan dengan kelompok kontrol menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$). Dengan latihan treadmill dengan intensitas ringan pun menunjukkan adanya regenerasi otot. Lee (2004) menjelaskan bahwa IGF-1 akan menstimulasi penyebaran sel satelit pada serabut otot yang sudah ada, (hipertropi) baik di tengah maupun di tepi. Latihan treadmill intensitas sedang dan berat meningkatkan IGF-1. Menurut Anastossius (2007) menjelaskan bahwa tingginya IGF-1 otot menunjukkan adanya regenerasi serabut otot dan hipertropi. Tingginya IGF-1 otot setelah beban berat menunjukkan adanya regenerasi yang



dibutuhkan setelah latihan daya tahan berupa treadmill. Terdapat korelasi sedang antara IGF1 dengan diameter otot. Pada penelitian Grubb (2013) dijelaskan bahwa terdapat ekspresi IGF1 otot setelah aktifitas latihan akut atau dengan jangka pendek. Baik serabut otot jenis I dan II bekerja bersamaan dengan IGF1 yang meningkat 72 jam paska latihan. Pada penelitian ini IGF1 meningkat secara signifikan pada intensitas sedang dan berat ($p < 0.05$) (gambar 5.2). Hal ini menunjukkan adanya aktifitas regenerasi otot lurik. Grubb menyebutkan proliferasi sel satelit terjadi karena adanya peranan IGF1 in vivo (2013). Pada perlakuan intensitas ringan ekspresi IGF1 sangat rendah dibanding kelompok yang lain, hal ini disebabkan karena volume dan intensitas latihan sangat mempengaruhi ekspresi IGF1. Hasil ini sama dengan penelitian Grub (2013) yang tidak menemukan adanya perubahan pada ekspresi IGF1 setelah latihan dengan intensitas dan volume yang ringan. Jenis regangan latihan yang dialami otot dalam pelatihan treadmill bersifat isometrik dan isokinetik sehingga menghasilkan hipertropi pada jenis serabut otot putih (Okita M, dkk. 2001). Treadmill akan menyebabkan latihan jenis isokinetik, meningkatkan aktifitas ATPase myofibril, serta aktifitas glikolisis dan enzim oksidatif pada otot lurik tikus (Okita M, dkk. 2001).

Latihan treadmill dengan intensitas sedang terhadap IGF-1 menunjukkan kenaikan yang signifikan $p < 0.05$. Pada intensitas sedang terdapat stimulus regangan yang dapat dikatakan seimbang yang mampu ditolerir oleh tubuh, dengan observasi lapangan bahwa tikus mampu melakukan lari hingga waktu latihan selesai. Parameter tinggi atau rendahnya kadar IGF-1 dapat disimpulkan dari *mechanical loading*. Hipertropi otot rangka adalah meningkatnya ukuran serabut otot tanpa peningkatan pada jumlahnya, tanpa ada peningkatan pada jumlah nukleus perserabut otot. Penelitian lainnya menyatakan bahwa bahwa serabut intrafaskular yang memanjang karena adanya respon hipertropi terjadi tanpa adanya peningkatan pada jumlah serabut otot (Paul & Rosenthal, 2002). Namun beda dengan intensitas berat yang memiliki



kecepatan tinggi dengan konsekuensi tikus dipaksa untuk terus berlari, dan dimungkinkan latihan memaksa otot untuk kerja dengan keras.

Kadar IGF 1 otot pada intensitas berat dengan kecepatan 28 mtr/mnt menunjukkan nilai signifikan dan paling tinggi di antara kelompok lainnya. Adanya tekanan yang tinggi yang dipertahankan dalam waktu tiga puluh menit merupakan jenis latihan berat dan berkepanjangan. Sehingga tekanan tersebut dapat dikatakan cenderung stresor. Nilai ekspresi IGF-1 pada kelompok intensitas berat menunjukkan kenaikan signifikan $p < 0.05$ (tabel 5.2), yang merupakan hasil tertinggi dari semua kelompok. Hasil ini serupa dengan Anastassios P., dkk. (2007) bahwa overekspresi IGF-1 lokal telah menunjukkan regenerasi miofibril dan hipertropi dan meningkatkan kadar faktor regulasi miogenik, dan protein mRNA kontraktil.

Terdapat peningkatan pada jumlah sel satelit per miofibril pada otot plantaris tikus setelah latihan daya tahan intensitas tinggi dalam durasi yang lama maupun pendek, tetapi tidak ada peningkatan pada latihan dengan intensitas rendah bahkan dengan durasi dengan hasil tidak ada kenaikan masa otot atau area serabut otot (Kurosaka, dkk. 2012). Penelitian tersebut ini menjelaskan bahwa intensitas selain durasi latihan berperan penting pertumbuhan cadangan sel satelit. Pelatihan daya tahan akan mengakibatkan otot dibentuk kembali untuk beradaptasi dengan karakteristik metabolik dan struktural anatomis karena adanya tekanan aerobik tanpa adanya hipertropi serabut otot (Pette, dkk. 2000 & Demirel, dkk. 1999).

Latihan dengan intensitas ringan ternyata tetap menunjukkan adanya peningkatan kadar IGF 1 otot (gambar 5.2). Bahkan dengan intensitas 8 hingga 10 mtr/mnt masih menunjukkan aktifitas agen pertumbuhan dalam otot. Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IGF-1 tetap terjadi meskipun dengan kapasitas yang rendah. Respon tersebut terjadi pada tikus pada rentang usia muda. Saat stimulus terlalu ringan maka ambang rangsang belum bisa mengaktifkan umpan balik negatif agar terjadi peningkatan respon komponen sirkulasi, dan



jaringan terhadap stimulus. Menurut Eliakim, (2010), latihan memiliki dampak yang kecil terhadap IGF-1. Dikatakan bahwa, adaptasi latihan terjadi karena adanya mekanisme katabolik, karena ada penurunan pada sirkulasi GHBP (*growth hormone binding protein*) yang selanjutnya akan diikuti oleh rendahnya reseptor di jaringan. Menurunnya reseptor di jaringan terhadap *growth hormone* akan mengaktifkan hepar untuk meningkatkan GHBP, sehingga dengan naiknya kapasitas binding reseptor IGF-1 maka akan terjadi adaptasi latihan. Namun pada kelompok kontrol alasannya masih belum diketahui. Adanya perubahan sirkulasi IGF-1 dan IGFBP1 dapat disimpulkan sebagai respon adaptif untuk mencegah hipoglikemi karena adanya mekanisme rangsangan sensitifitas insulin pada waktu latihan. Tikus yang diberi *treadmill* dengan intensitas rendah, menunjukkan adanya aktifitas IGF-1 di sarkolema meskipun sedikit, hal ini terjadi karena otot yang diberi stimulus latihan akan selalu meningkatkan masa dan kekuatannya, dengan mekanisme metabolik dan endokrin yg berbeda daripada intensitas sedang dan berat.

Kadar sirkulasi IGF-1 menurut Anastassios P, dkk. (2007) merupakan marker kerja GH di hepar namun bukan *second messenger* oleh GH. Regulasi produksi IGF-1 di jaringan disebabkan oleh jaringan itu sendiri melalui proses molekuler. Overekspresi IGF-1 lokal telah menunjukkan regenerasi miofiber dan hipertropi dan meningkatkan kadar faktor regulasi miogenik, dan protein mRNA kontraktil. Meningkatnya serum IGF-1 karena adanya faktor GH atau IGF-1 dari luar, tidak menstimulasi hipertropi otot karena tidak adanya muatan mekanis. Sehingga baik dari intensitas rendah sampai intensitas tinggi IGF-1 bekerja secara autokrin sebagai agen regenerasi miofiber dan meningkatkan laju regulasi miogenik. Saat stimulus terlalu berat, maka ambang rangsang telah melebihi batas kemampuan tubuh, sehingga bukannya umpan balik negatif menjadi agen peningkatan, namun bekerja menjadi agen pencegahan kondisi darurat. Terlalu beratnya tekanan pada sirkulasi dan jaringan akan menyebabkan sistem keseimbangan tubuh menurun dan lebih lama dalam pemulihannya.



Aspek yang menarik dalam konteks fungsi autokrin dan parakrin IGF-1 adalah terekspresinya protein IGF-1 oleh otot terjadi hanya dari sel yang mengeluarkan autokrin atau protein yang berada berdekatan dengan sel atau disebut parakrin, dari sel satelit otot, atau masuk ke dalam sirkulasi dan bertindak seperti endokrin. Dalam kerja autokrin/parakrin, IGF-1 keluar dari serat otot untuk berikatan dengan reseptor IGF-1 dari permukaan luar dari membran pada sel otot yang sama atau mengaktifkan jalur pensinyalan melalui reseptor yang berbeda, yang dikeluarkan oleh MGF dalam sel satelit atau proliferasi mioblas.

TNF alfa akan mencegah IGF 1 untuk tersekresi, akibatnya pertumbuhan otot akan terhambat. Hal ini serupa yang dipaparkan oleh Coffey (2007) meningkatnya kadar TNF alfa akan menyebabkan peningkatan pada protein degradasi ubiquitin dan menghambat insulin atau IGF dalam fungsinya untuk sintesa protein. Selain itu TNF alfa akan menurunkan proses anabolik dengan menghambat diferensiasi miogenik dan merubah aktifitas transkripsinya. Saat latihan dengan intensitas berat yang diteruskan dalam waktu yang berkepanjangan maka yang terjadi adalah munculnya TNF α sehingga membuat IGF-1 menurun. Namun pada penelitian kali ini, dalam dalam waktu 9 minggu setelah latihan kadar IGF-1 otot lebih banyak daripada kelompok ringan dan sedang. Adaptasi latihan akan meningkatkan kadar IGF-1 dan GH pada serum dan jaringan dan jumlah tertinggi cenderung pada subyek atlet (Healy.2003). Latihan tidak akan menginduksi aktifasi sel satelit dan penyebarannya namun latihan merupakan hal yang penting untuk kematangan serat dan maturasi perifer serabut otot. Sehingga saat IGF-1 naik terus maka kematangan miofibrer akan terhambat (Velloso. 2008). Penelitian (Lee, 2004), IGF-1 memiliki mekanisme yang berbeda saat diberikan latihan. IGF-1 akan menstimulasi penyebaran sel satelit pada serabut otot yang sudah ada, yang ditunjukkan dengan peningkatan jumlah serabut otot baik dari nukleus yang berada di tengah maupun di pinggir. Velloso (2008). menjelaskan peningkatan IGF-1 juga terjadi saat otot mengalami regangan sehingga menyebabkan hipertropi miofibrer dan saat perbaikan otot yang mengalami



cedera. Coleman (1995) melaporkan bahwa ekspresi IGF-1 dibawah kendali promoter sehingga menyebabkan hipertropi pada jaringan otot tanpa mempengaruhi kadar IGF-1 dalam sirkulasi atau serum atau ukuran tubuh. Sejumlah penelitian menjelaskan IGF-1 memiliki peran penting terhadap regulasi miogenik, yaitu regulasi respon hipertropi pada otot rangka mamalia yang dewasa. Gregory. (2002). menunjukkan adanya peningkatan peptida IGF-1 otot yang bersamaan dengan perubahan pada myogenin dan p21.

Karena dengan adanya binding protein IGF-1 pada sirkulasi dan jaringan akan mengaktifkan mekanisme ekspresi miogenin (Gregory. 2002). Pada latihan kelompok intensitas tinggi peningkatan IGF-1 lebih tinggi daripada kelompok yang lain. Hal ini dapat dikarenakan adanya imunoreaktivitas antara reseptor dan ligan IGF-1 pada jaringan otot yang aktif. Kondisi tersebut dijelaskan dalam (Gregory. 2002) bahwa adanya peningkatan ekspresi peptida IGF-1 menjelaskan bahwa pesan IGF-1 menandai adanya akumulasi IGF-1 dari luar otot atau adanya peningkatan efisiensi translasional pada pesan IGF-1.

Adanya komunikasi antara ligan dan reseptor peptida IGF-1 saat kondisi akut merupakan waktu translasi yang efektif yang muncul pada tahap awal saat kompensasi beban latihan (Gregory. 2002). IGF-1 terekspresi disemua kelompok latihan treadmill. Penelitian kali ini menemukan adanya kesamaan protein IGF-1 otot yang signifikan antara kelompok intensitas sedang dan berat yang menunjukkan aktifitas adaptasi dengan kadar yang berbeda. Hal ini sejalan yang dijelaskan oleh Adams (2002), kadar peptida IGF-1 naik pada otot yang mendapatkan beban lebih, dengan adanya penurunan pada myogenin, p21, dan cyclin D1. Hal ini dapat dikatakan terjadinya adaptasi otot sebagai kompensasi kenaikan IGF-1 dilokasi otot yang terbebani. Mekanisme yang berkaitan di antaranya turunya reseptor IGF-1 atau meningkatnya akumulasi binding protein IGF. Meningkatnya IGF-1 otot dapat bertindak sebagai agen pertumbuhan seperti HGF dan FGF untuk menginisiasi aktifitas miogenik yang ditandai dengan perubahan kadar faktor pertumbuhann, seperti proses anabolik non miogenik yang



diketahui berkaitan dengan ketersediaan dan keseimbangan IGF-1. Sehingga semua intensitas latihan pada *treadmill* dikatakan berpengaruh terhadap efektifitas agen anabolik IGF-1.

6.3. Dampak latihan daya tahan *treadmill* terhadap Pax7

Latihan *treadmill* dengan intensitas ringan meningkatkan pax7 (gambar 5.5). Hal ini menjelaskan adanya aktivasi sel satelit. Charifi (2003) menjelaskan bahwa dengan perlakuan latihan daya tahan ringan terdapat peningkatan cadangan sel satelit.

Latihan *treadmill* dengan intensitas sedang meningkatkan pax7. Pada intensitas sedang pax7 mengalami kenaikan yang signifikan daripada kelompok kontrol. Jenis rangsangan kontraksi yang sedang dan dipertahankan dalam waktu lebih dari 30 menit masuk ke dalam jenis olahraga aerobik. Menurut Liu (2009) fase aerob berperan dalam proses miogenesis sel satelit. Rodgers (2014) menjelaskan adanya pembelahan lebih cepat pada fase G daripada fase G0. Sehingga kondisi hipoksik karena latihan sangat mempengaruhi aktivasi sel satelit otot.

Pada latihan *treadmill* dengan intensitas berat menunjukkan presentase pax7 (gambar 5.5) tertinggi di antara kelompok yang lain. Riuzi (2012) menjelaskan sel satelit akan aktif saat ada stimulasi kemudian akan berproliferasi dan berdiferensiasi sebagai respon kebutuhan hipertropi dan restorasi. Dapat diartikan bahwa tingginya ekspresi pax7 pada intensitas berat menunjukkan tingginya proses yang mendorong dan memelihara hipertropi dalam sel otot. Lepper (2011) menjelaskan bahwa sel satelit sebenarnya tidak dibutuhkan pada awal respon hipertropi, namun penting untuk proses regenerasi. Menurut Wackerhage (2014) menjelaskan bahwa sel satelit lebih penting untuk menjaga kondisi hipertropi pada jangka panjang.

Kemampuan sel satelit untuk menjaga kondisi diam merupakan faktor utama untuk konservasi jangka panjang persediaan sel satelit (Bjornson, dkk, 2012; Mourikis, dkk. 2012). Saat



cedera sel-sel satelit dengan cepat re-entry siklus sel dengan maksud bahwa kondisi pasif umumnya selalu teregulasi dan menunjukkan kondisi siap yang penting untuk aktivasi sel satelit itu sendiri.

Otot yang rusak akan mengeluarkan berbagai macam growth factor yang akan mengaktifkan jalur pensinyalan yang melibatkan siklus sel entry dari sel satelit (Anderson, dkk. 2000). Sebagai contohnya insulin-like growth factor (IGF-1) menunjukkan adanya inaktivasi dari faktor transkripsi Foxo1, sehingga menyebabkan downregulasi siklus sel inhibitor p27Kip1 dan mengakibatkan entry siklus sel (Chakravarthy, dkk. 2000; Machida, dkk. 2004). Kecukupan oksigen juga mengatur homing sel satelit dan penelitian kultur mioblas pada kondisi hipoksik akan menyebabkan meningkatnya pensinyalan notch sehingga mendorong ekspresi pax7 yang tinggi (Liu, dkk. 2012). Sehingga mioblas yang dikultur pada kondisi hipoksik akan menyebabkan berkurangnya kemampuan potensi pembaharuan diri, sehingga meningkatkan efisien transplantasi (Liu, dkk. 2012).

Aktifasi sel satelit memiliki berbagai macam marker ekspresi, salah satunya PAX7 (Seale, 2000). Sel satelit dalam proses kerjanya memiliki beberapa proses, yaitu aktifasi, proliferasi, diferensiasi dan maturasi. Dalam hal ini pax7 dominan muncul pada saat diam, aktivasi, maupun proliferasi, namun jarang pada saat diferensiasi dan maturasi. Pax7 merupakan faktor transkripsi yang bekerja di dalam nucleus dengan mekanisme sinyal transduksi. Saat berolahraga otot mengalami tegangan, sehingga kadar Ca^{2+} , AMP dan ADP intraseluler meningkat, kemudian adrenalin dan noradrenalin meningkat pada sirkulasi dan glikogen juga meningkat dan oksigen yang ada di dalam sel menurun. Semua aktifitas tersebut dimulai dari protein sensor yang kemudian melanjutkan proses informasinya menuju sistem atau jaringan sinyal transduksi, yang menyerupai sistem saraf namun berada di dalam sel (Wackerhage. 2014).



Sel satelit bersifat diam dan membarui diri sendiri saat adanya stimuli, sehingga sel ini selalu membelah diri bila dibutuhkan untuk perbaikan otot. Penelitian (Charifiy, dkk & Verney, 2003) yang menjelaskan adanya peningkatan cadangan sel satelit setelah diberikan latihan daya tahan dengan intensitas rendah pada sepeda selama 40-45 menit dengan 4 menit intensitas rendah dan 1 menit intensitas berat, sedangkan lainnya melaporkan tidak ada perubahan menggunakan protokol latihan daya tahan dengan 40 menit latihan dengan 75% VO₂ peak (Snijders, dkk, 2011).

Pada kelompok dengan perlakuan treadmill intensitas sedang, prosentase Pax7 meningkat signifikan ($p < 0.05$) (tabel 5.3), yang menjelaskan bahwa terdapat peningkatan sel satelit meski dengan intensitas latihan treadmill yang sedang. Perbedaan ekspresi ini dapat dijelaskan karena adanya proses aktivasi namun juga sekaligus pembatasan aktivasi siklus sel satelit. Hasil tersebut mirip dengan penelitian dari Olguin, (2004), menjelaskan bahwa PAX7 merupakan faktor transkripsi penanda khusus untuk aktifitas sel satelit, dengan maksud lain bahwa PAX7 juga mengatur keberadaan sel satelit dalam sarkolema itu sendiri. Sehingga sel satelit juga mengatur pembaharuannya sendiri. Saat adanya stimulus latihan treadmill, otot yang mengalami tegangan mengaktifkan transkripsi Pax7 untuk mengatur pembaharuan mioblas, namun juga membarui simpanan sel satelit dilokasi yang sama.

Kelompok dengan perlakuan intensitas ringan mengalami kenaikan prosentase Pax7 (tabel 5.3). Dengan kata lain bahwa meski dengan latihan treadmill intensitas ringan, sel satelit tetap berekspresi. Pax7 merupakan marker terjadinya penambahan mioblas pada otot. Dalam hal ini berarti semua kelompok mengalami penambahan mioblas, namun dengan kadar yang berbeda beda.

Pada kelompok kontrol, hasil ekspresi sel satelit lebih besar daripada kelompok perlakuan intensitas tinggi. Hal ini sama dengan hipotesis peneliti bahwa sel satelit dengan



marker PAX7 tetap berekspresi pada kondisi diam atau tidak diberi perlakuan apapun. Namun tidak ada penambahan jumlah mioblas pada otot tersebut, sedangkan pada kelompok intensitas tinggi, moderat dan rendah, sel satelit melalui proses siklus proliferasi menuju diferensiasi dan maturasi mioblas serta pembaharuan diri untuk cadangannya sendiri.

Sehingga dalam aplikasinya latihan yang efektif untuk program rehabilitasi membutuhkan peningkatan intensitas yang bertahap, kemudian dipertahankan dalam frekuensi yang mencukupi dalam hal ini 4 hingga 5 kali setiap minggu. Pada tiap sesi latihan, durasi harus mampu merangsang kapasitas aerobik atau minimal 20 menit, hingga 35 menit yang dirancang dengan istirahat yang cukup dan putaran latihan yang berkelanjutan.

6.4 Keterbatasan penelitian

Pada penelitian ini diameter hanya dilihat dari marker Pax7 dan IGF-1 yang hanya bertindak sebagai aktifator proliferasi, sehingga kondisi diferensiasi, terminasi dan bahkan agen transkripsi untuk reskilus sel satelit otot belum diketahui. Penelitian ini tidak menguji jenis serabut otot merah atau putih pada diameter otot melalui marker *myosin heavy chain*, sehingga tidak diketahui populasi regenerasi dan sifat otot yang akan muncul melalui IGF-1 dan Pax7. Selain itu peneliti hanya menguji sel satelit pada jaringan otot tibialis anterior saja, sehingga sebaran sel satelit pada otot kaki bagian lain seperti regius digitorum longus dan regius soleus belum diketahui. Penelitian ini juga tidak memiliki kelompok dengan jenis interval latihan yang berbeda, sehingga hasil penelitian tidak dibandingkan dengan kelompok pada variasi intensitas dan jenis latihan daya tahannya. Terlepas dari keterbatasan keterbatasan tersebut memberikan gagasan untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut.



BAB VII

Kesimpulan dan saran

7.1 Kesimpulan

1. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan diameter otot lurik pada tikus *rattus norvegicus*.
2. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi IGF-1 tikus wistar *rattus norvegicus*.
3. Perlakuan *treadmill* ringan, sedang dan berat dapat meningkatkan ekspresi PAX7 pada tikus wistar *rattus norvegicus*.
4. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan dengan peningkatan diameter otot tikus wistar *rattus norvegicus*.
5. Tidak Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* berat dengan peningkatan diameter otot tikus wistar *rattus norvegicus*.
6. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan IGF-1 otot tikus wistar *rattus norvegicus*.
7. Ada hubungan peningkatan intensitas latihan *treadmill* ringan, sedang dan berat dengan peningkatan PAX7 otot tikus wistar *rattus norvegicus*.

7.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya yang menguji faktor aktivasi pax7 dan myosin heavy chain dari jenis otot lambat dan cepat dengan aktifitas olahraga.
2. Perlu dilakukan kajian jumlah sebaran sel satelit pada perkenaan otot yang lain seperti regius vastus, regius biceps femoris, regius gastrocnemius.
3. Perlu dilakukan perbandingan latihan dayatahan lain seperti fartlek, interval, dan pliometrik.



DAFTAR PUSTAKA

- Adams G.R. 1998. Role of Insulin-Like Growth Factor-I in the Regulation of Skeletal Muscle Adaptation to Increased Loading. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 26:31-60.
- Adams R.G. 2002. Exercise Effects on Muscle Insulin Signaling and Action Invited Review: Autocrine/paracrine IGF-I and skeletal muscle adaptation. *J Appl Physiol* 93: 1159–1167.
- Almeida, C.F., Fernandes S.A., Ribeiro J.A.F., Keith O, and Vainzof, M. (2016). Muscle satellite cells: Exploring the basic biology to rule them. *Stem Cells International*.
- Allen, R.E., Dodson M.V., Luiten L.S. Regulation of skeletal muscle satellite cell proliferation by bovine pituitary fibroblast growth factor. *Exp Cell Res* 152: 154–160, 1984 6714317
- Anastassios P, Maria M, Antonis H And Michael K.(2007). The Role of the Insulin-like Growth Factor 1 (mIGF-1) in Skeletal Muscle Physiology. *in vivo* 21: 45-54.
- Anderson. J.E. 2000. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells. *Mol Biol Cell* 11: 1859–1874, 200010793157
- Armakolas N, Armakolas A, Antonopoulos, Dimakakos A, Stathaki M, Koutsilieris M. 2016. The role of the IGF-1 Ec in myoskeletal system and osteosarcoma pathophysiology. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 108 (2016) 137-145.
- Bentzinger C, Wang Y.X, Dumont.N.A and Rudnicki.M.A. 2013. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. *EMBO reports* vol 14 no 12.
- Beauchamp J.R, Heslop L .D.S, Yu S, Tajbakhsh R.G, Kelly A, Wernig M.E, Buckingham T.A, Partridge P.S, Zammit. 2000. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J Cell Biol* 151: 1221–1234, 200011121437
- Bischoff. R. 1990 Interaction between satellite cells and skeletal muscle fibers. *Development* 109: 943–952, 19902226207
- Bischoff. R.A. 1986. satellite cell mitogen from crushed adult muscle. *Dev Biol* 115: 140–147, 19863699242
- Bjornson C.R.R., Tom H. Cheung, Ling Liu, P. V., & Tripathi, Katherine M. Steeper, and T. A. R. (2012). NIH Public Access. *Stem Cells*, 30(2), 232–242.
- Buckingham, M., Bajard, L., Chang, T., Daubas, P., Hadchouel, J., Meilhac, S., Relaix, F. 2003. The formation of skeletal muscle: From somite to limb. *Journal of Anatomy*, 202(1), 59–68. <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2003.00139.x>
- Bompa, T.O. & Haff G.G. 1994. *Periodization, Theory and Methodology of Training*, Fourth Edition. Colorado: Human Kinetics Publisher.
- Bompa T & Buzzichelli C. 2015. *Periodization Training for Sports*. Human Kinetics.
- Booth.F.W, Roberts.C.K, and Laye.M.J. 2012. Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Compr Physiol*. April; (22): 1143-1211. doi: 10.1002/cphy.c110025
- Brack. A.S, Conboy.M, Conboy.M.J, Shen J, Rando T.A. 2008. A temporal switch from notch to Wnt signaling in muscle stem cells is necessary for normal adult myogenesis. *Cell Stem*



Cell 2: 50–59, 200818371421

Brooks, G.A. 1987. Amino Acid and Protein Metabolism in Exercise. *Medicine Science and Sport Exercise*. 19 (5): 150-156.

Butterfield T.A. 2010. Eccentric Exercise In Vivo: Strain-Induced Muscle Damage and Adaptation in a Stable System. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. American College of Sports Medicine

Caldow, M. K., Thomas, E. E., Dale, M. J., Tomkinson, G. R., Buckley, J. D., Cameron-Smith, D., & Caldow, M. 2015. Early myogenic responses to acute exercise before and after resistance training in young men. *Physiol Rep*, 3(9).

Castoldi R.C, Aleixo p.H, pereira A.C.J, Ferreira S.R, Garcia T.A, Ozaki G.A.O, Koike T.E, Junior D.A.C.p, Seraphim p.M, Belangero W.D, Filho J.C.S.C. 2017. Effects of Concurrent Training on Muscle Fibers of Wistar Rats Submitted to Standard and Hypercaloric Diets. *Int. J. Morphol.*,

Calabrese, E.J., Baldwin, L.A., 2001. U-shaped dose–responses in biology, toxicology, and public health. *Annu. Rev. Public Health* 22,15–33.

Cerletti M, Jang YC, Finley LW, Haigis MC, Wagers AJ. Short-term calorie restriction enhances skeletal muscle stem cell function. *Cell Stem Cell*. 2012 May 4;10(5):515-9. doi: 10.1016/j.stem.2012.04.002. DOI: 10.1016/j.stem.2012.04.002

Chakravarthy. M.V, Davis B.S, Booth F.W. 2000. IGF-I restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle. *J Appl Physiol* 89: 1365–1379, 200011007571

Charan J & Kantharia N.D. 2013. How to calculate sample size in animal studies?. *J Pharmacol Pharmacother*. 2013 Oct-Dec; 4(4): 303–306

Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L., Denis, C. (2003) Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve* 28, 87-92

Chen G, Lin J.M. 2006. Slack Control of muscle regeneration in the *Xenopus* tadpole tail by Pax7. *Development* 133: 2303–2313, 200616687446

Chen C.T, Lin S.H, Chen J.S and Hsu Y.J. 2013. Muscle Wasting in Hemodialysis Patients: New Therapeutic Strategies for Resolving an Old Problem. *The Scientific World Journal*, Article ID 643954

Cheung T.H, Quach N.L, Charville G.W, Liu L, Park A, Edalati B, Yoo P, Hoang T.A, Rando. 2012. Maintenance of muscle stem-cell quiescence by microRNA-489. *Nature* 482: 524–528, 201222358842

Chimin, P, Araujo, G.G., Gobatto, F.B.M.C.A., and Gobatto, C.A. 2009. Critical Load During Continuous and Discontinuous Training in Swimming Wistar Rats. *Motricidade*, 5 (4): 45-58.

Crist C.G, Montarras D, Buckingham M. 2012. Muscle Satellite Cells Are Primed for Myogenesis but Maintain Quiescence with Sequestration of Myf5 mRNA Targeted by microRNA-31 in mRNP Granules. *Cell Stem Cell* Volume 11, Issue 1, 6 July 2012, Pages 118-126



- Chung, E & Diffe G.M. 2012. Moderate Intensity, but Not High Intensity , Treadmill Exercise Training Alters Power Output Properties in Myocardium From Age Rats. Balke Biodynamics Laboratory, Department of Kinesiology, University of Wisconsin. 67(11): 1178-1187.
- Clark J. 2016. Using ImageJ to measure cell number and cross-sectional area in a confocal micrograph images. Youtube Video Tutorial.
- Clarkson PM, Nosaka K, Braun B. 1992. Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* May;24(5):512-20.
- Coffey V.G and Hawley J.A. The Molecular Bases of Training Adaptation. *Sports Med* 2007; 37 (9): 737-763.
- Coleman M.E, DeMayo F, Yin K.C, Lee H.M, Geske R, Montgomery C and Schwartz R.J. 1995. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J Biol Chem* 270: 12109-12116.
- Contarteze, R.V.L., Manchado F.B., Gobatto, C.A., and Mello, M.A.R. 2007. Biomarkers of Stress in Rats Exercised in Swimming at Intensities Equal and Superior to The Maximal Estable Lactate Phase. *De Medicina do Esporte.* 13 (3): 150-154.
- Conboy, I.M, Rando TA. 2002. The regulation of Notch signaling controls satellite cell activation and cell fate determination in postnatal myogenesis. *Dev Cell* 3: 397–409, 200212361602
- Corbin, C.B., Welk, G.J., Corbin, W.R., Welk, K.A., Sidman, C.L. 2009. *Concepts of Fitness and Wellness. A Comprehensive Lifestyle Approach. Eight Edition.* New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Cornelison, D.D. Wold B.J. 1997. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Dev Biol* 191: 270–283, 19979398440
- Cornelison D.D.W. Filla m.S, Stanley H.M, Rapraeger A.C and Olwin B.B. 2001. Syndecan-3 and Syndecan-4 Specifically Mark Skeletal Muscle Satellite Cells and Are Implicated in Satellite Cell Maintenance and Muscle Regeneration. *Developmental Biology* 239, 79–94.
- Demirel, H.A., Powers, S. K., Naito, H., Hughes, M., Coombes, J. S. 1999. Exercise-induced alterations in skeletal muscle myosin heavy chain phenotype: dose-response relationship. *J Appl. Physiol* 86, 1002-1008
- Dumont N.A, Wang Y.X, and Rudnicki M.A. 2015. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development.* May 1; 142(9): 1572–1581. doi: 10.1242/dev.114223
- Egan B & Zierath J.R. 2013. Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation. *Cell Metabolism.* Volume 17, Issue 2, 5 February, Pages 162-184.



Eliakim A & Nemet D. Exercise training, physical fitness and the growth hormone-insulin-like growth factor-1 axis and cytokine balance. 2010. *Med Sport Sci*. 2010;55:128-40. doi: 10.1159/000321977. Epub Oct 14.

Eston G.R., Rowlands.A.V., Coulton D., McKinney J., Gleeson P.N. 2007. EFFECT OF FLEXIBILITY TRAINING ON SYMPTOMS OF EXERCISE-INDUCED MUSCLE DAMAGE: A PRELIMINARY STUDY. *J Exerc Sci Fit* • Vol 5 • No 1

Fatouros, I., Chatzinikolaou, A., Paltoglou, G., Petridou, A., Avloniti, A., Jamurtas, A., Goussetis, E., Mitrakou, A., Mougios, V., Lazaropoulou, C., Margeli, A., Papassoutiriou, I., and Mastorakos, G. 2010. Acute Resistance Exercise Results in Catecholaminergic Rather than Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis Stimulation During Exercise in Young Men. *Informa healthcare*, 3 (-): 1-8.

Fletcher, G.F., Balady, G.J., Amsterdam, E.A., Chaitman, B., Eckel, R., Fleg, J., Froelicher, V.F., Leon, A.S., Piña, I.L., Rodney, R., Denise, A., Morton, S., Williams, M.A., dan Bazzarre, T. 2001. Exercise Standards for Testing and Training: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Journal of The American Heart Association*, 104 (-): 1694-1740. 32

Fukada S, Uezumi M, Ikemoto S, Masuda M, Segawa N, Tanimura H, Yamamoto Y, Miyago E, Suzuki S, Takeda. 2007. Molecular signature of quiescent satellite cells in adult skeletal muscle. *Stem Cells* 25: 2448–2459, 200717600112

Gagliano, M., Corona, D., Giuffrida, G., Giaquinta, A., Tallarita, T., Zerbo, D., Sorbello, M., Paratore, A., Virgilio, C., Cappellani, A., Veroux, P., and Veroux, M. 2009. Low-Intensity Body Building Exercise Induced Rhabdomyolysis: A Case Report. *Cases Journal*, 2 (7): 1-2.

Guo B.S, Cheung K.K, Yeung S.S, Zhang B.T, Yeung E.W (2012) Electrical Stimulation Influences Satellite Cell Proliferation and Apoptosis in Unloading-Induced Muscle Atrophy in Mice. *PLOS ONE* 7(1): e30348. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030348>.

Gopinath, S.D., Webb, A. E., Brunet, A., & Rando, T. A. (2014). FOXO3 promotes quiescence in adult muscle stem cells during the process of self-renewal. *Stem Cell Reports*, 2(4), 414–426.

Gholamnezhad Z, Boskabady M.H, Hosseini M, Sankian M, Rad A.K. 2014. Evaluation of immune response after moderate and overtraining exercise in wistar rat. *Iran J Basic Med Sci*; 17:1-8

Gnocchi VF, RB White Y, Ono JA, Ellis PS, Zammit Further characterisation of the molecular signature of quiescent and activated mouse muscle satellite cells. *PLoS One* 4: e5205, 200919370151

Gondret F, Combes S, LEFAUCHEUR L, LEBRET B. (2005). Effects of exercise during growth and alternative rearing systems on muscle fibers and collagen properties. *Reprod. Nutr. Dev.* 45 (2005) 69–86

Gregory R.A. 2002. Exercise Effects on Muscle Insulin Signaling and Action. Invited Review: Autocrine/paracrine IGF-I and skeletal muscle adaptation. *J Appl Physiol* 93: 1159–1167,



Gregory R. A, Haddad F, And Baldwin K.M. Time course of changes in markers of myogenesis in overloaded rat skeletal muscles.

Gregory R.A. Autocrine and/or paracrine insulin-like growth factor-I activity in skeletal muscle. Clin Orthop Relat Res S188–196, 200212394468

Grubb A, Joanisse S, Moore D.R, Bellamy L.M, Mitchell C.J, Phillips S.M, and Parise G. 2013. IGF-1 colocalizes with muscle satellite cells following acute exercise in humans. Appl. Physiol. Nutr. Metab. 39: 514–518 (2014) dx.doi.org/10.1139/apnm-2013-0430

Halevy, O, Y Piestun M.Z Allouh B.W, Rosser Y, Rinkevich R, Resheff R.M, Wlekinski-Lee Z, Yablonka-R. 2004. Pattern of Pax7 expression during myogenesis in the posthatch chicken establishes a model for satellite cell differentiation and renewal. Dev Dyn 231: 489–502, 200415390217

Hammond CL, Hinitz Y, Osborn D.P, Minchin J.E, Tettamanti G, Hughes S.M. 2007. Signals and myogenic regulatory factors restrict pax3 and pax7 expression to dermomyotome-like tissue in zebrafish. Dev Biol 302: 504–521, 200717094960

Hamdi M.M, El-Hawary G.R, El-Hefnawy N.G and Salman M.I. 2013. Histopathological and electron microscopic study for different grades of inferior oblique muscle overaction. Clin Ophthalmol. 2013; 7: 917–921.

Harsono. 1996. Coaching Dan Aspek-aspek Psikologis Dalam Coaching. (hlm. 17-194). Departemen pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Proyek Pengembangan Lembaga Pendidikan Tenaga Kependidikan Jakarta.

Healy M.L, Gibney J, Russell J.D.L, Pentecost C, Croos P, Soñksen P.H. 2003. High dose growth hormone exerts an anabolic effect at rest and during exercise in endurance-trained athletes. J Clin Endocrinol Metab 88: 5221–5226

Irintchev A, Zeschneig M, Starzinski-Powitz A, Wernig A. 1994. Expression pattern of M-cadherin in normal, denervated, and regenerating mouse muscles. Dev Dyn 199: 326–337, 19948075434

Jennische E, Skottner A, Hansson HA. 1987. Satellite cells express the trophic factor IGF-I in regenerating skeletal muscle. Acta Physiol Scand Jan; 129(1):9-15

Jenniskens, G.J. Veerkamp J.H, van Kuppevelt T.H. 2006. Heparan sulfates in skeletal muscle development and physiology. J Cell Physiol 206: 283–294, 200615991249

Jones J.I, Clemmons D.R. 1995. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. Endocr Rev 16: 3–34, 7758431

Jones NC, Fedorov YV, Rosenthal RS, Olwin BB. 2001. ERK1/2 is required for myoblast proliferation but is dispensable for muscle gene expression and cell fusion. J Cell Physiol. Jan; 186(1):104-15.



- Jones NC, Tyner KJ, Nibarger L, Stanley HM, Cornelison DD, Fedorov YV, Olwin BB. 2005. The p38alpha/beta MAPK functions as a molecular switch to activate the quiescent satellite cell. *J Cell Biol.* 2005 Apr 11;169(1):105-16. DOI: 10.1083/jcb.200408066
- Kim H.J, Lee H.J, SO B, SON J.S, YOON D, SONG W. 2015. Effect of Aerobic Training and Resistance Training on Circulating Irisin Level and Their Association With Change of Body Composition in Overweight/Obese Adults: a Pilot Study. *Physiol. Res.* 65: 271-279.
- Kim J.C, Kang Y.S, Noh E.B, Seo B.W, Seo B.W, Seo D.Y, park G.D, and Kim S.H.2018 Concurrent treatment with ursolic acid and low-intensity treadmill exercise improves muscle atrophy and related outcomes in rats. *Korean J Physiol Pharmacol*;22(4):427-436
- Kirby TJ, Patel RM, McClintock TS, Versteegden EED, Peterson CA and McCarthy JJ. 2016. Myonuclear transcription is responsive to mechanical load and DNA content but uncoupled from cell size during hypertrophy. *Mol Biol Cell.* Mar 1; 27(5): 788–798. doi: 10.1091/mbc.E15-08-0585
- Konopka A.R and Harber p.M. 2014. Skeletal Muscle Hypertrophy After Aerobic Exercise Training. *Exerc. Sport Sci. Rev.*, Vol. 42, No. 2, pp. 53Y61.
- Kregel KC, Allen DL, Booth FW, Fleshner MR, Henrikson EJ, Musch TI, O'Leary DS, Parks CM, Poole DC, Ra'anana AW, Sheriff DD, Sturek MS, Toth LA.2006. Resource book for the design of animal exercise protocols. American Physiological Society; Exercise Protocols Using Rats and Mice.
- Kruger K. Mooren FC. 2014. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev.*;20:117-34.
- Kuang. S, Kuroda K.F, Grand L, Rudnicki M.A.2007. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell* 129: 999–1010, 200717540178
- Kurosaka, M., Naito, H., Ogura, Y., Machida, S., Katamoto, S. 2012. Satellite cell pool enhancement in rat plantaris muscle by endurance training depends on intensity rather than duration. *Acta Physiol (Oxf)* 205, 159-166
- Lee S, Barton ER, Sweeney HL, Farrar RP. 2004. Viral expression of insulin-like growth factor-I enhances muscle hypertrophy in resistance-trained rats. *J Appl Physiol.* 2004 Jun;96(6):2343.
- Lee SY, Tung HH, Liu CY, Chen LK. 2018. Physical Activity and Sarcopenia in the Geriatric Population: A Systematic Review. *J Am Med Dir Assoc.* 2018 May;19(5):378-383. doi: 10.1016/j.jamda.2018.02.003. Epub 2018 Mar 24.
- Lepper C, patridge T.A, and Fan C.M. 2011. An absolute requirement for Pax7-positive satellite cells in acute injury-induced skeletal muscle regeneration. *Development.* 2011 Sep 1; 138(17): 3639–3646



Liu, Y, GaoL, Zuba

SurmaEK, PengX, KuciaM, RatajczakM.Z, WangW, EnzmannV, KaplanH.J, DeanD.C. 2009. Identification of small Sca-1(+), Lin(-), and CD45(-) multipotential cells in the neonatal murineretina. *Exp Hematol* 37: 1096–1107, 200919539690

Liu, H, FergussonM.M, CastilhoR.M, LiuJ

CaoL, ChenJ, MalideD, Rovirall, SchimelD, KuoC.J, GutkindJ.S, HwangP.M, FinkelT. 2007. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science* 317: 803–806, 17690294.

Lin K.F. & Liu C.M 2007. Estimation of $\dot{V}O_{2max}$: a comparative analysis of post-exercise heart rate and physical fitness index from 3-minute step test. *Journal of exercise science and fitness (JESF)* 5(2):118-123

Liu W, Klose A, Forman S, paris ND, Lapierre LW, Cortez L.M, Tan A, Flaherty M, Miura p, Dirksen R.T, Chakkalakal J.V. 2017. Loss of adult skeletal muscle stem cellsdrives age-related neuromuscular junction degeneration. *Developmental Biology and Stem Cells*.

Liu M, Lapsley J.E.S, Jayaraman A, Ye F, Conover C, Walter G.A, Bose P, Thompson F.J, Borst S.E and Vandeborne K. 2010. Impact of treadmill locomotor training on skeletal muscle IGF1 and myogenic regulatory factors in spinal cord injured rats. *Eur J Appl Physiol*.

Lisio M.D, Jensen T, Sukiennik R.A, Huntsman H.D and Boppart M.D. 2014. Substrate and strain alter the muscle-derived mesenchymal stem cell secretome to promote myogenesis. *Stem Cell Research & Therapy* 20145:74 <https://doi.org/10.1186/scrt463>

Ma M.Z, Chu B.F, Zhang Y, Weng M.Z, Gong W & Quan Z.W. (2015). Long non-coding RNA CCAT1 promotes gallbladder cancer development via negative modulation of miRNA-218-5p. *Cell Death & Disease* volume 6, page e1583

Mauro, A. 1961. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 9, 493–495.

Maggauda L, Mauro D.D., Trimarchi F and Anastasi G. 2004. Effects of Physical Exercise on Skeletal Muscle Fiber:Ultrastructural and Molecular Aspects. *Basic Appl Myol* 14(1): 17-21.

McMahon C.D, Chai.R, Radley Crabb H.G, Watson T, Matthews K.G, Sheard p.W, Soffe Z, Grounds M.D, Shavlakadze T. 2014. Lifelong exercise and locally produced insulin-like growth factor-1 (IGF-1) have a modest influence on reducing age-related muscle wasting in mice. *Scand J Med Sci Sports* : 24: e423–e435

MeechR .M GomezC, WoolleyM, BarroJA HulinEC, WalcottJ, DelgadoHP, Makarenkova.2010.Thehomeobox transcription factor Barx2 regulates plasticity of young primary myofibers. *PLoS One* 5:e11612, 201020657655

Megeney, L. A., Kablar, B., Garrett, K., Anderson, J. E., & Rudnicki, M. A. (1996). MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes and Development*, 10(10), 1173–1183.



- McKay, BR, M De LisioAP, JohnstonCE, O'ReillySM, PhillipsMA, TarnopolskyG Parise. 2009. Association of interleukin-6 signalling with the muscle stem cell response following muscle-lengthening contractions in humans. *PLoS One* 4: e6027, 200919554087
- McLoon, L.K, WirtschatterJ.2003. Activated satellite cells in extraocular muscles of normal adult monkeys and humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 44: 1927–1932, 200312714625
- McMahon C.D, Chai R.H.G, Crabb H.G.R, Watson T, Matthews K.G, Sheard p.W, Soffe Z, Grounds M.D, Shavlakadze T. 2014. Lifelong exercise and locally produced insulin-like growth factor-1 (IGF-1) have a modest influence on reducing age-related muscle wasting in mice. *Scand J Med Sci Sports* 2014; 24: e423–e435
- Melo, S.F.S. 2009. Different Levels of Hsp72 in Female Rat Myocardium in Response to Voluntary Exercise and Forced Exercise. *Arq Bras Cardiol*, 2009; 93 (5): 423-429.
- Machida S and Booth F.W.2004. Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 337–340
- Mueller.P.J. 2007. Activity-Dependent Plasticity in Central Homeostatic Systems: Exercise Training and Sympathetic Nervous System Activity: Evidence for Physical Activity Dependent Neural Plasticity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. Dalton Cardiovascular Research Center and Department of Biomedical Sciences, University of Missouri-Columbia, Columbia, Missouri, USA, 34: 377-384.
- Murphy. M.M,JA LawsonSJ MathewDA HutchesonG Kardon. Satellite cells, connective tissue fibroblasts and their interactions are crucial for muscle regeneration. *Development* 138: 3625–3637, 201121828091
- Mourikis P, R SambasivanD, CastelP, RocheteauV, BizzarroS, Tajbakhsh.2012. A critical requirement for notch signaling in maintenance of the quiescent skeletal muscle stem cell state. *Stem Cells* 30: 243–252, 201222069237
- MourkiotiF, RosenthalN.2005. IGF-1, inflammation and stem cells: interactions during muscle regeneration. *Trends Immunol* 26: 535–542, 200516109502
- Morrison, S.J J Kimble.2006. Asymmetric and symmetric stem-cell divisions in development and cancer. *Nature* 441: 1068–1074, 200616810241
- Moylan.S., Eyre. H, Maes. M, Bauneb. B, Jacka. F, Berk.M. 2013. Exercising the worry away: how inflammation, oxidative and nitrogen stress mediates the beneficial effect of physical activity on anxiety disorder symptoms and behaviours. *Neurosci Biobehav May*;37(4):573-84.
- Myers J, Gujja P, Neelagaru S, Hsu B and Burkhoff D. 2009. Quantification of the Impaired Cardiac Output Response to Exercise in Heart Failure: Application of a Non-Invasive Device. *J Sports Sci Med*. Sep; 8(3): 344–351.
- Nasser A, Sheikhzadeh H, Elham K. 2014. Cerebellum and Reelin under chronic treadmill exercise conditions in male rats. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(1): 170-175.
- Nederveen, J. P., Joannis, S., Olguin S, Bell K.E, Baker S.K, Phillips, S.M., & Parise, G. (2015). The effect of exercise mode on the acute response of satellite cells in old men. *Acta Physiologica*, 215(4), 177–190.
- Okita M, Yoshimura T, Nakano J, Watabe M, Nagai T, Kato K, and Eguchi K. 2001. Effects of



Treadmill Exercise on Muscle Fibers in Mice with Steroid Myopathy. *J Jpn Phys Ther Assoc* 4: 25–27.

Olguin H.C and Pisconti A. 2012. Marking the tempo for myogenesis: Pax7 and the regulation of muscle stem cell fate decisions. *J Cell Mol Med.* 2012 May; 16(5): 1013–1025.

Olguin, H. C., & Olwin, B. B. (2004). Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: A potential mechanism for self-renewal. *Developmental Biology*, 275(2), 375–388.

Owens, Krystyna, "The effectiveness of high intensity interval training in improving VO2 max for performance gains as compared to standard endurance training in athletes" (2013). PT Critically Appraised Topics. Paper 37.

Pajcini, KV, SY Corbel, Sage JH, Pomerantz HM, Blau. Transient inactivation of Rb and ARF yields regenerative cells from postmitotic mammalian muscle. *Cell Stem Cell* 7: 198–213, 2010.20682446

Patrino, M, F Caliaro T, Martinello F, Mascarello. 2008. Expression of the paired box domain Pax7 protein in myogenic cells isolated from the porcine semitendinosus muscle after birth. *Tissue Cell* 40: 1–6, 2008.17977569

Paul AC and Rosenthal N. 2002. Different modes of hypertrophy in skeletal muscle fibers. *The Journal of Cell Biology*, Volume 156, Number 4, February 18, 2002 751–760

Pette, D., Staron, R. S. 2000. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc. Res. Tech.* 50, 500–509

Perdiguero E, Bonilla VR, Gresh L, Hui L, Ballestar E, Victor pS, Raja BB, Jordi M, Comas AB, Esteller M, Caelles C, Serrano AL, Wagner EF, and Canoves pM. 2007. Genetic analysis of p38 MAP kinases in myogenesis: fundamental role of p38 α in abrogating myoblast proliferation. *EMBO J.* Mar 7; 26(5): 1245–1256

Philippos, M., Sambasivan, R., Castel, D., Rocheteau, P., Bizzarro, V., & Tajbakhsh, S. (2012). A critical requirement for notch signaling in maintenance of the quiescent skeletal muscle stem cell state. *Stem Cells*, 30(2), 243–252. <https://doi.org/10.1002/stem.775>

Powers, S.K., and Jackson, M.J. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms and Impact on Muscle Force Production. *NIH-PA Author Manuscript*, 88(4): 1243–1276.

Queiroz AC, Sousa JC, Cavalli AA, Silva ND Jr, Costa LA, Tobaldini E, Montano N, Silva GV, Ortega K, Mion D Jr, Tinucci T, Forjaz CL. 2014. Post-resistance exercise hemodynamic and autonomic responses: Comparison between normotensive and hypertensive men. *Scand J Med Sci Sports.*

Radak Z., Chung H. Y., Koltai E., Taylor A.W. dan Goto S. 2007. Review Exercise, Oxidative Stress and Hormesis. *Ageing Research Reviews*. (Online), 1-9, (www.elsevier.com/locate/arr), diakses tanggal 22 Januari 2014.

Rahimi, A., dan Tayebi, S.M. 2013. The Effect of a Single Session of Moderate and Heavy Intensity Weight-lifting Exercise on Plasma Testosterone and Cortisol in Elite Male



Weight-lifters. *Annals of Applied Sport Science*. (Online). 1 (1): 1-5, (http://www.aassjournal.com), diakses tanggal 8 Januari 2014.

Ratajczak, M.Z. M Majka M Kucia J, Drukala Z, Pietrkowski S, Peiper A, Janowska-Wieczorek. 2003. Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle-derived fibroblasts associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles. *Stem Cells* 21: 363–371, 20031274333.

Rodrigues B, Figueroa D.M, Mostarda C.T, Heeren M.V, Irigoyen M.C and Angelis K.D. 2007. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.*; 6: 38.

Rodgers JT, King KY, Brett JO, Cromie MJ, Charville GW, Maguire KK, Brunson C, Mastey N, Liu L, Tsai CR, Goodell MA, Rando TA. 2014. mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G0 to G(A) (Alert). *Nature*. Jun 19;510(7505):393-6. doi: 10.1038/nature13255. Epub 2014 May 25

Robert J.M. 1999. Evolving Ideas about Cyclins. *Cell*. Volume 98, Issue 2, p129–132, 23 July. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81007-7](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81007-7)

Riuzzi F, Sorci G, Sagheddu R and Donato R. 2012. HMGB1–RAGE regulates muscle satellite cell homeostasis through p38-MAPK- and myogen independent repression of Pax7 transcription. *Journal of Cell Science* 125.

Ryall J.G, Dell'Orso S, Derfoul A, Juan A, Zare H, Feng X, Clermont D, Koulis M, Cruz G.G., Fulco M, and Sartorelli. 2015. The NAD⁺-Dependent SIRT1 Deacetylase Translates a Metabolic Switch into Regulatory Epigenetics in Skeletal Muscle Stem Cells. *Cell Stem Cell*. 2015 February 5; 16(2): 171–183. doi:10.1016/j.stem.2014.12.004

Sacco. A, R Doyonnas P, Kraft S, Vitorovich H.M, Blau. 2008. Self-renewal and expansion of single transplanted muscle stem cells. *Nature* 456: 502–506, 200818806774

Sahebozamani, M., Mohammadi, H., & Ghahraman tabrizi, K. (2015). The effect of repeated bouts of eccentric exercise on some of Biochemical markers of delayed onset muscle soreness. *International Journal of Applied Exercise Physiology*, 4(1), 34-39. Retrieved from <http://www.ijaep.com/index.php/IJAE/article/view/30>.

Sarifin, 2011. Dampak Faali Dari Program Pelatihan (Exercise Program) pada Orang Dewasa. Program Studi Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Makassar. *Jurnal ILARA*, 2 (2): 8-14.

Seale, P., Sabourin, L. A., Girgis-Gabardo, A., Mansouri, A., Gruss, P., & Rudnicki, M. A. 2000. Pax7 Is Required for the Specification of Myogenic Satellite Cells skeletal muscle are mitotically quiescent and are activated in response to diverse stimuli, including stretching, exercise, injury, and electrical stimulation (Schultz. *Cell*, 102, 777–786.

Seene, T. and Kaasik, P. (2015) Age-Associated Changes in Skeletal Muscle Regeneration: Effect of Exercise. *Advances in Aging Research*, 4, 230-241. doi: 10.4236/aar.2015.46025.

Shea. KL, W Xiang VS LaPorta JD Licht C Keller MA Basson AS Brack Sprouty1 regulates reversible quiescence of a self-renewing adult muscle stem cell pool during regeneration. *Cell Stem Cell* 6:117–129, 201020144785



- Shefer, G., Rauner, G., Yablonka-Reuveni, Z., & Benayahu, D. (2010). Reduced satellite cell numbers and myogenic capacity in aging can be alleviated by endurance exercise. *PLoS ONE*, 5(10).
- Sophie J, Jenna B.G, Leeann M.B, Bryon R.M, Mark A.T, Martin. JG, and Gianni P. (2014). Evidence for the Contribution Of Muscle Stem Cells To Nonhypertrophic Skeletal Muscle Remodeling In Humans. *The FASEB Journal • Research Communication* doi: 10.1096/fj.13-229799
- Spurway N & Wackherhage H. 2006. *Genetics and Molecular Biology of Muscle Adaptation*. Elsevier
- Siegel. AL, K Atchison K.E, Fisher G.E, Davis D.D, Cornelison. 2009. 3D timelapse analysis of muscle satellite cell motility. *Stem Cells* 27: 2527–2538, 200919609936
- Silva L.A.E, Pires F.O, Bertuzzi R, Cavalcante M.D.S, Oliveira R.S.F, Kiss M.A, and Bishop D. 2012. Effects of a low- or a high-carbohydrate diet on performance, energy system contribution, and metabolic responses during supramaximal exercise. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 38: 928–934 (2013) dx.doi.org/10.1139/apnm-2012-0467.
- Stewart R.D., Duhamel.A.T., Foley.K.P., Ouyang.J., Smith.I.C., and Green.H.J. 2007. Protection of muscle membrane excitability during prolonged cycle exercise with glucose supplementation. *J Appl Physiol* 103: 331–339.
- Sugiharto. 2000. Pembentukan Radikal Bebas Oksigen Dalam Aktivitas Fisik. *Lab. Jurnal Ilmu Keolahragaan dan Pendidikan Jasmani.* 10 (1): 22-
- Sugiharto. 2012. Fisioneurohormonal pada stressor Olahraga. *Jurnal Sains Psikologi.* 2(2):54-66.
- Sugiharto. 2014. *Fisiologi Olahraga. Teori Dan Aplikasi Pembinaan Olahraga*. Penerbit Universitas Negeri Malang.
- Supranto. J. 2007. *Teknik Sampling untuk Survei & Eksperimen*. Rineka Cipta
- Snijders, T., Verdijk, L. B., Hansen, D., Dendale, P., van Loon, L. J. (2011). Continuous endurance-type exercise training does not modulate satellite cell content in obese type 2 diabetes patients. *Muscle Nerve* 43, 393-401
- Snijders T, Nederveen JP, McKay BR, Joannis S, Verdijk LB, Van Loon LJ, Parise G. 2015. Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Front Physiol.* 2015 Oct 21;6:283. doi: 10.3389/fphys.2015.00283. eCollection 2015.
- Smith, L.L. 2003. Overtraining, Excessive Exercise, and Altered Immunity Is This a T Helper-1 Versus T Helper-2 Lymphocyte Response?. *SportsMed*, 33 (5): 347-364.
- Tabata, Nishimura K, Kouzaki M, Hirai Y, Ogita F, Miyachi M, Yamamoto K. 1996. Effects of moderate-intensity endurance and high-intensity intermittent training on anaerobic capacity and VO₂max. *Med Sci Sports Exerc.* Oct;28(10):1327-30.
- Tajbakhsh, S. (2005). Skeletal muscle stem and progenitor cells: Reconciling genetics and lineage. *Experimental Cell Research*, 306(2), 364–372.



- Tamaki.T, A AkatsukaS YoshimuraRR RoyVR Edgerton. 2002 New fiber formation in the interstitial spacesof rat skeletal muscle during postnatal growth. *J Histochem Cytochem* 50: 1097-1111,200212133913
- Tatsumi, R. JE AndersonCJ, NevoretO, HalevyRE, Allen.1998. HGF/SF is present in normal adult skeletal muscle and is capable of activating satellite cells. *Dev Biol* 194: 114-128, 19989473336
- Thiebaud.R.S. 2012. Exercise-Induced Muscle Damage: Is it detrimental or beneficial?. *Journal of Trainology*;1:36-44
- Thomas, D.P., and Marshall, K.I. 1988. Effect of Repeated Exhaustive Exercise on Myocardial Subcellular Membrane Structures.*J. Sport Med*, 9 (-): 257-260.
- Torrado, M., Franco, D., Hernández-Torres, F., Crespo-Leiro, M. G., Iglesias-Gil, C., Castro-Beiras, A., & Mikhailov, A. T. (2014). Pitx2c is reactivated in the failing myocardium and stimulates Myf5 expression in cultured cardiomyocytes. *PLoS ONE*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090561>
- Townley-Tilson, W., Callis, T. E., and Wang, D. Z. (2010). MicroRNAs 1,133, and 206: critical factors of skeletal and cardiac muscle development,function, and disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 42, 1252-1255.doi: 10.1016/j.biocel.2009.03.002
- Verney, J., Kadi, F., Charifi, N., Feasson, L., Saafi, M. A., Castells, J., Piehl-Aulin, K., Denis, C. (2008) Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle Nerve* 38, 1147-1154
- Velloso, CP. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-1. *British Journal of Pharmacology* (2008) 154, 557-568
- Volonte, D, Y LiuF Galbiati The modulation of caveolin-1 expression controls satellite cell activationduring muscle repair. *FASEB J* 19: 237-239, 200515545301
- Wackerhage H. 2014. *Molecular Exercise Physiology An introduction* Routledge 2 Park Square, Milton Park, Abingdon, Oxon OX14 4RN
- Wehrman. TS, G von DegenfeldPO KrutzikGP NolanHM Blau Luminescent imaging of betagalactosidaseactivity in living subjects using sequential reporter-enzyme luminescence. *Nat Methods*3: 295-301, 200616554835
- Wen. Y, P BIW LiuA AsakuraC KellerS Kuang Constitutive notch activation upregulates pax7 andpromotes the self-renewal of skeletal muscle satellite cells. *Mol Cell Biol* 32: 2300-2311,201222493066
- Williamson, D. L., Raue, U., Slivka, D. R., & Trappe, S. (2010). Resistance exercise, skeletal muscle FOXO3A, and 85-year-old women. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 65 A(4), 335-343.
- Wisløff U, Helgerud J, Johan KO, Ellingsen O: Intensity-controlled treadmill running in rats: VO2 max andcardiac hypertrophy. *Am J Physiol (Heart Circ Physiol)* 2001, 280:1301-1310.



Wisdom K.M, Delp S.L, and Kuhl E. 2015. Use it or lose it: multiscale skeletal muscle adaptation to mechanical stimuli. *Biomech Model Mechanobio*. 14:195–215.

Wystub K, Besser J, Bachmann A, Boetger T, Braun T. 2013. miR-1/133a clusters cooperatively specify the cardiomyogenic lineage by adjustment of myocardin levels during embryonic heart development. *plos genet* 2013,9:e1003793.

Xie X, Tsai S.Y, Tsai M.J. 2016. COUP-TFII regulates satellite cell function and muscular dystrophy. *J Clin Invest*. 2016;126(10):3929-3941. <https://doi.org/10.1172/JCI87414>.

Zammit, P. S., Relaix, F., Nagata, Y., Ruiz, A. P., Collins, C. A., Partridge, T. A., & Beauchamp, J. R. (2005). Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells, 4, 1824–1832. <https://doi.org/10.1242/jcs.02908>

Zipora YR. (2011). The Skeletal Muscle Satellite Cell. *J Histochem Cytochem*.

Zipora YR, Seger R, Rivera AJ. 1999. Fibroblast Growth Factor promotes Recruitment of Skeletal Muscle Satellite Cells in Young and Old Rats. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. <https://doi.org/10.1177/002215549904700104>

Zhao, J., Ye, T., Jincheng, X., Dongsen, L., Wang, X., and Zhao, B. 2011. Endurance Exercise is a Leptin Signaling Mimetic in Hypothalamus of Wistar Rats. *Lipids in Health and Disease*, 10 (225): 1-7.