

PENGARUH FREKUENSI STRES FISIK PADA KADAR ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AST) DAN STRUKTUR HISTOLOGIS JANTUNG TIKUS BETINA DENGAN DIET ATHEROGENIK

Alfath Zulfa Fadhillah*, Sasi Purwanti*, Rahma Triliana*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

E mail: alfathzf@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Atherogenic diet can cause hyperlipidemia, leading to elevated serum *Aspartate Aminotransferase* (AST) levels and changes of the heart structures. Excessive physical stress can disrupt body's metabolism. However, some studies suggest physical stress were beneficial during hyperlipidemia. This study aims to determine the role of various frequency of physical stress on AST levels and histological structure of the heart during atherogenic diet induced hyperlipidemia.

Methods: Female wistar rats were divided into 6 groups, (KN, KPP, KP, KSK, KDH, and KSH, n=5, in each groups). KN were fed with standard diet for 10 weeks, KPP and KP were fed with atherogenic diet for 6 and 10 weeks respectively. KSK, KDH, and KSH were fed with atherogenic for 10 weeks with treatment of physical stress twice a week, once every two days, and daily, respectively for 4 weeks. Physical stress were conducted by forced swimming for 5 minutes. AST levels were measured using spectrophotometric method, whereas the heart structure were assessed using H&E staining and imaged using trinocular microscope. Images were measured using Fuji Image software and results were analyzed using SPSS and p is set as 0.05.

Results: Atherogenic diet and various frequencies of physical stress has no effect on serum levels of AST. Atherogenic diet increase left ventricular thickness (KN: 42.05 ± 10.8 vs. KP: 45.82 ± 8.53) and decrease number of left cardiomyocytes (KN: 18.11 ± 3.18 vs. KP: 11.62 ± 4.51). Various frequencies of physical stress significantly increase thickness of the right and left ventricles, as well as changing the number of cardiomyocytes.

Conclusion: Atherogenic diet or physical stress has no effect on serum AST levels. Atherogenic diet increase thickness of the heart ventricles while various frequencies of physical stress affect. While the various frequencies of physical stress effect of ventricular thickness and the number of the heart muscle cells on both side.

Keywords: *Hyperlipidemia, frequency of physical stress, AST levels, heart, cardiomyocytes, ventricular thickness*

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia adalah gangguan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi kadar kolesterol dengan atau tanpa peningkatan kadar trigliserida dalam darah¹. Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2008, penderita dengan kadar kolesterol darah yang tinggi pada pria dewasa adalah 37% dan wanita dewasa 40% secara global dan prevalensinya meningkat di tahun 2010. Menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2013, prevalensi hiperlipidemia di Indonesia tertinggi ada di perkotaan (12,5%), sedangkan di pedesaan hanya sekitar 10,3% dan pada wanita lebih tinggi yakni 39,6% daripada pria (30%)². Penderita hiperlipidemia beresiko mengalami aterosklerosis dan penyakit jantung koroner yang dapat mengakibatkan kematian sehingga perlu ditangani dengan baik³.

Salah satu penyebab hiperlipidemia adalah diet tinggi lemak atau diet atherogenik⁴. Menurut Srivastava et.al (2000), pemberian diet atherogenik selama 6 minggu dengan kolesterol, asam lemak dan minyak babi dapat meningkatkan kadar kolesterol dan asam lemak menyebabkan hiperlipidemia, pembentukan sel busa, dan aterosklerosis serta

penyempitan pembuluh⁴. Apabila hal tersebut terjadi pada arteri koronaria akan menyebabkan hipoksia miokardium sehingga terjadi kerusakan sel otot jantung⁵. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Lomanorek et.al tahun 2016, miokardium yang mengalami cedera akan melepaskan enzim *Aspartate Aminotransferase* (AST) ke dalam sirkulasi⁶. Kadar AST berguna dalam penegakan diagnosis infark miokard akut karena enzim ini mudah meningkat dalam darah apabila jantung terus-menerus mengalami hipoksia dan berlanjut pada nekrosis miokardium⁷. Selain itu, kerusakan miokardium menyebabkan pembentukan fibrosis sehingga pompa jantung menurun yang akan dikompensasi dengan hipertrofi jantung dan perubahan struktur histologis jantung⁵.

Beratnya beban jantung atau kerusakan miokardium dapat terjadi akibat stres fisik⁸. Stres fisik merupakan aktivitas fisik berlebihan yang dapat menyebabkan terganggunya metabolisme tubuh⁹. Salah satu jenis stres fisik adalah olahraga berat yang dapat mengaktifasi sistem saraf simpatis sehingga terjadi peningkatan detak jantung, lipolisis, dan mobilisasi asam lemak¹⁰. Hal tersebut akan memicu terjadinya hiperlipidemia dan aterosklerosis seperti pada penelitian dengan hewan coba *New Zealand*

White Rabbit yang diinduksi hiperlipidemia dan diberi stres fisik terdapat peningkatan kadar total kolesterol serum pada kelinci hiperlipidemia dibandingkan kelinci dengan stres fisik saja¹¹.

Namun, beberapa penelitian lain justru membuktikan bahwa pemberian stres fisik dapat memperbaiki jaringan pada tikus model infark miokard akut dan stroke¹². Tikus dengan hiperlipidemia yang diberi stres fisik menunjukkan penurunan berat badan dan tekanan darah, perbaikan resistensi insulin, serta struktur jantung yang normal¹³. Namun, penelitian-penelitian diatas tidak menjelaskan peran perbedaan frekuensi stres fisik pada kondisi hiperlipidemia sehingga perlu dilakukan penelitian.

Frekuensi stres fisik dapat berperan pada derajat stres fisik karena respon yang terjadi pada metabolisme tubuh akan berbeda-beda¹⁴. Penelitian tentang pengaruh stres fisik terhadap jantung saat hiperlipidemia masih sedikit. Pengaruh frekuensi stres fisik diduga dapat memperbaiki dan menyeimbangkan atau sebaliknya masih belum diteliti. Angka hiperlipidemia yang meningkat pada wanita menyebabkan wanita memiliki resiko yang tinggi terkena penyakit jantung koroner. Oleh karena itu, penelitian untuk mengetahui perbedaan frekuensi stres fisik terhadap perubahan kadar AST dan struktur histologis jantung perlu dilakukan.

M E T O D E

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *control group post test only* secara *in vivo* menggunakan tikus wistar betina yang diberi diet atherogenik untuk mengetahui pengaruh frekuensi stres fisik terhadap kadar AST serum dan struktur histologis jantung

Penelitian ini dilakukan di *Animal House* dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Patologi Klinik dan Patologi Anatomi Universitas Brawijaya. Penelitian dimulai dari bulan Januari 2018 sampai dengan Mei 2018.

Penelitian ini telah mendapat surat laik etik dari Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan nomor 851-KEP-UB dan disetujui pada tanggal 2 Januari 2018.

H e w a n C o b a

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar betina. Pemilihan hewan coba sesuai dengan kriteria inklusi, yaitu: sehat, berusia 11 minggu, betina, dan berat badan 100-200 gram. Jumlah tikus yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 30 ekor. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yakni Kelompok Pra Perlakuan (KPP) diberi diet atherogenik selama 6 minggu (n=5), Kontrol Negatif (KN) diberi diet standar (n=5), Kontrol Positif (KP) diberi diet atherogenik tanpa stres fisik (n=5), Kelompok Senin Kamis (KSK) diberi diet atherogenik

dan stres fisik tiap senin dan kamis (n=5), Kelompok Dua Hari (KDH) diberi diet atherogenik dan stres fisik dua hari sekali (n=5), Kelompok Setiap Hari (KSH) diberi diet atherogenik dan stres fisik setiap hari (n=5).

P e m b e r i a n D i e t

Komposisi diet standar yakni konsentrat pakan ayam (PARS) 20g/ekor tepung terigu Cakra Kembar 10g/ekor, dan air secukupnya. Diet standar diberikan pada kelompok KN.

Komposisi diet atherogenik terdiri dari komposisi diet standar ditambah dengan kolesterol 0.2g/ekor, asam kolat 0.02g/ekor, dan minyak babi 1ml/ekor¹⁵. Diet atherogenik diberikan pada KPP, KP, KSK, KDH, dan KSH.

P e r l a k u a n S t r e s F i s i k

Tikus yang sudah berusia 11 minggu dipisahkan dalam *single cages* dan mulai diberikan stres fisik berupa berenang pada sore hari (pukul 16.00-19.00) selama 5 menit. Air yang digunakan untuk berenang adalah air hangat dengan suhu sekitar 30°C-32°C. Setelah berenang selama 5 menit, tikus dikeringkan badannya dengan handuk dan *hairdryer* dengan jarak 20 cm. Perlakuan stres fisik dilakukan selama 4 minggu.

P e m b e d a h a n H e w a n C o b a

Tikus dianestesi dengan meletakkannya dalam wadah berisi kapas dan kloroform. Dalam waktu 2 menit tikus sudah tidak sadar dan langsung dilakukan pemotongan pada toraks serta diambil darah secara intrakardial. Selanjutnya dilakukan *cervical dislocation* agar tikus benar-benar mati. Setelah itu, tikus dibedah dan diambil organ-organ yang diperlukan.

P e n g a m b i l a n S a m p e l D a r a h

Pembusuan tikus dilakukan dengan kloroform. Setelah tikus tidak sadar, langsung dilakukan pengambilan darah intrakardial sebanyak 5 cc dengan membuka bagian toraks, kemudian darah dimasukkan ke dalam vacutainer tanpa EDTA kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Setelah itu serum diambil menggunakan mikropipet sebanyak 700 µl lalu dimasukkan kedalam eppendorf untuk dilakukan pemeriksaan kadar AST.

P e n g a m b i l a n J a r i n g a n J a n t u n g

Ketika tikus dibedah, jaringan jantung diambil dan dipotong menjadi 2 bagian dengan potongan longitudinal, dimana satu bagian dimasukkan ke dalam formalin 10% dan dikirim ke Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya untuk pembuatan preparat histologi jantung. Satu bagian lain digunakan oleh anggota lain untuk pemeriksaan marker.

Pemeriksaan Kadar AST

Pemeriksaan kadar AST dilakukan dengan metode spektrofotometri kinetik yang dimodifikasi tanpa *pyridoxal phosphate*. Pemeriksaan kadar AST dimulai dengan mencampurkan reagen 1 dan 2 atau disebut dengan *working reagent* dengan perbandingan 4:1 untuk dibuat monoreagen kemudian reagen distabilkan pada suhu 2-8 °C. Setelah itu, *working reagent* diambil sebanyak 1000 µl dan ditambahkan serum sebanyak 100 µl kemudian dimasukkan kedalam kuvet menggunakan pipet. Campuran reagen dan serum harus dihomogenkan sebelum dimasukkan kedalam spektrofotometer. Spektrofotometer yang digunakan adalah merk *ABX Pentra AST CP C200* yang diatur panjang gelombangnya sebesar 340 nm dengan faktor sesuai alat tersebut. Hasil akan keluar dalam beberapa menit dengan penghitungan berdasarkan rumus kadar AST ($Kadar\ SGOT\ (U/L) = \Delta A / \text{min} \times \text{faktor}$). Pembacaan hasil dilakukan pada menit ke 1, 2, dan 3 kemudian dirata-rata dan dicatat hasilnya¹⁶.

Pemeriksaan Struktur Histologis Jantung

Jaringan jantung yang diambil selanjutnya dibuat preparat dan dilakukan pewarnaan menggunakan *Haematoxylin Eosin* (HE). Preparat yang sudah siap diperiksa menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 40x dan 400x. Pada perbesaran 40x dilakukan pengukuran tebal ventrikel. Pada perbesaran 400x dilakukan perhitungan jumlah sel otot jantung dalam 10 lapang pandang. Pengukuran tebal ventrikel dan perhitungan jumlah sel otot jantung dianalisa menggunakan *Fuji Image*.

Tebal ventrikel diukur dari epikardium hingga endokardium sebanyak 10 kali menggunakan skala 50µm kemudian dihitung rata-ratanya dengan satuan µm. Sedangkan perhitungan jumlah sel otot jantung

dilakukan dengan menghitung luas permukaan terlebih dahulu, selanjutnya mencari luas *Tissue Volume* dengan cara luas permukaan dikurangi luas *Non-Tissue Volume*. Kemudian menghitung nukleus sel otot jantung yang berbentuk lonjong atau oval dan berwarna biru yang terdiri dari 2 jenis yakni sel berinti gelap dan terang. Jumlah sel otot jantung dihitung dengan cara jumlah sel berinti gelap dan terang dibagi dengan luas *Tissue Volume* ($\text{sel}/\mu\text{m}^2$)¹⁷.

Teknik Analisa Data

Analisa statistik menggunakan *software SPSS* versi 16. Pertama dilakukan uji normalitas dan homogenitas ($p > 0.05$). Setelah itu data di uji menggunakan *Independent Sample T-Test* untuk kelompok kontrol (KN, KPP, KP) dan *One Way ANOVA* untuk kelompok perlakuan (KP, KSK, KDH, dan KSH) dengan nilai signifikansi $p < 0.05$. Apabila uji *One Way ANOVA* signifikan, maka dilanjutkan dengan uji *Post Hoc LSD*. Apabila data tidak normal pada kelompok perlakuan maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis* ($p < 0.05$), sedangkan jika data tidak homogen dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tamhane*. Uji korelasi menggunakan *Pearson Correlation* ($p < 0.05$).

HASIL DAN ANALISA DATA

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) betina berusia 5 minggu sebanyak 30 ekor. Tikus dibagi menjadi dua kelompok yakni kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Data karakteristik sampel kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2.

Tabel 1 Karakteristik Sampel Kelompok Pra Perlakuan (KPP)

Kelompok Pra Perlakuan (n=5)	
Perlakuan	Diet Atherogenik
Usia Awal (minggu)	5
Lama Perlakuan (minggu)	6
Usia Akhir (minggu)	11
BB (gram)	
BB Awal	33.60 ± 7.37
BB M1	49.40 ± 9.81
BB M2	66.60 ± 13.85
BB M3	86.40 ± 18.56
BB M4	103.80 ± 17.84
BB M5	119.80 ± 18.55
BB M6	128 ± 21.85
BB Akhir	130 ± 22.38
Δ BB Pra Perlakuan	80 ± 16.96

Keterangan :

Data dalam rerata $\pm$ standar deviasi (SD). BB : berat badan, M 1-6 : minggu 1-6, Δ BB Pra Perlakuan : selisih BB Akhir dikurangi BB M 1

Tabel 2 Karakteristik Sampel Kelompok Pasca Perlakuan

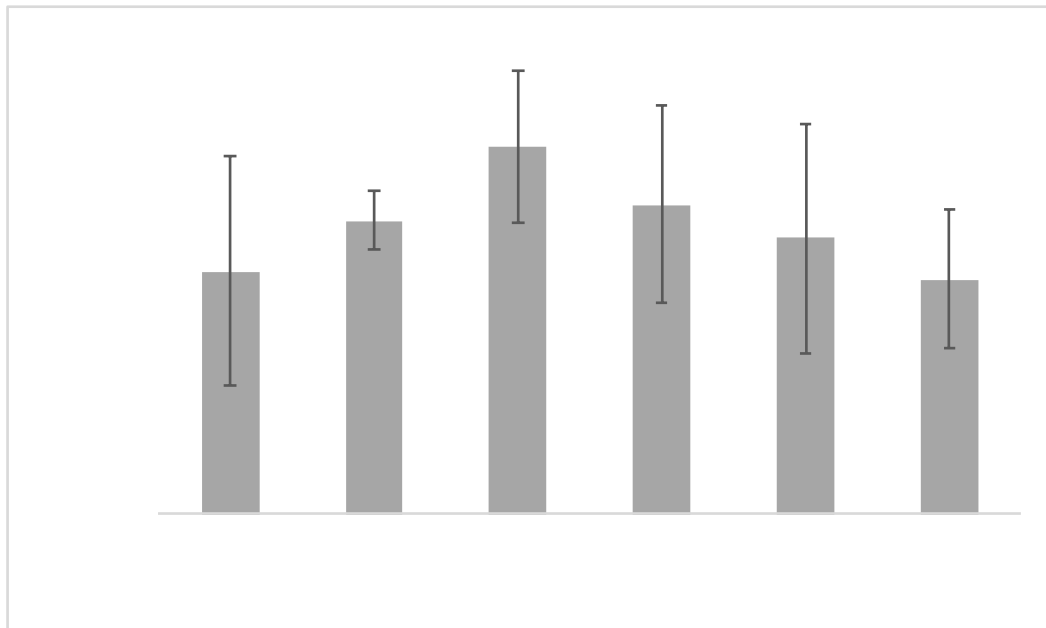
	KN (5)	KP (5)	KSK (5)	KDH (5)	KSH (5)
BB Awal (g)	150.80 $\pm$ 20.34	118 $\pm$ 19.46 ^a	149.80 $\pm$ 8.81	182.80 $\pm$ 5.81 ^{b,c,d}	138.80 $\pm$ 19.10
BBPM 1 (g)	157.40 $\pm$ 13.79	122.80 $\pm$ 21.56 ^a	153.60 $\pm$ 7.09 ^b	186.80 $\pm$ 12.03 ^{b,c,d}	145.80 $\pm$ 16.36 ^b
BBPM 2 (g)	162.80 $\pm$ 14.48	129.80 $\pm$ 20.78 ^a	156.21 $\pm$ 7.89 ^b	196 $\pm$ 18 ^{b,c,d}	152.60 $\pm$ 12.97 ^b
BBPM 3 (g)	168.40 $\pm$ 10.60	138.20 $\pm$ 21.74 ^a	154 $\pm$ 7.87	202.40 $\pm$ 16.95 ^{b,c,d}	167.40 $\pm$ 18.04 ^b
BB Akhir (g)	166 $\pm$ 9.14	144.60 $\pm$ 17.74 ^a	156.20 $\pm$ 7.95	198.60 $\pm$ 23 ^{b,c,d}	172.40 $\pm$ 19.48 ^b
Δ BB (g)	8.60 $\pm$ 9.34	21.80 $\pm$ 8.70	2.60 $\pm$ 9.94	11.80 $\pm$ 11.26	26.60 $\pm$ 30.29
AMM 1 (g)	-	22.50 $\pm$ 0.71	33.37 $\pm$ 13.72	35.36 $\pm$ 20.02	27.69 $\pm$ 10.11
AMM 2 (g)	24.84 $\pm$ 4.76	22.02 $\pm$ 3.84	27.83 $\pm$ 12.67	30.69 $\pm$ 6.96	26.23 $\pm$ 9
AMM 3 (g)	26.29 $\pm$ 3.35	21.91 $\pm$ 0.70 ^a	17.74 $\pm$ 1.94 ^b	30.17 $\pm$ 8.26	27.94 $\pm$ 9.92
AMM 4 (g)	24 $\pm$ 3.71	21.29 $\pm$ 2.61	20.37 $\pm$ 4.50	28.20 $\pm$ 10.01	29.06 $\pm$ 10.88
Rata-rata AM /hari (g)	25.01 $\pm$ 3.68	21.69 $\pm$ 1.06	24.32 $\pm$ 6.84	31.12 $\pm$ 11.09	27.73 $\pm$ 9

Keterangan :

Data dalam rerata $\pm$ standar deviasi (SD). Uji statistik menggunakan *Independent Sample T-Test*, *One Way ANOVA*, *Kruskal-Wallis*, *Post Hoc LSD* dan *Tamhane*. BBPM 1-3: Berat Badan Perlakuan Minggu 1-3, Δ BB : selisih BB Akhirdengan BBPM 1, ATH : Atherogenik, AMM 1-4 : Aupan Makan Minggu 1-4, KN : Kontrol Negatif, KP : Kontrol Positif, KSK : Kelompok Senin Kamis, KDH : Kelompok Dua Hari, KSH : Kelompok Setiap Hari. (a) $p < 0.05$ dengan KN, (b) $p < 0.05$ dengan KP, (c) $p < 0.05$ dengan KSK, (d) $p < 0.05$ dengan KSH.

Kadar AST Serum

Hasil rata-rata kadar AST serum pada kelompok pra perlakuan, kontrol, dan perlakuan terdapat pada gambar 1 berikut ini.

**Gambar 1 Rata-rata Kadar AST Serum**

Keterangan: Rata-rata kadar AST serum tikus pada KN (81.40 $\pm$ 38.60), KPP (98.60 $\pm$ 9.56), KP (123.2 $\pm$ 25.34), KSK (104 $\pm$ 33.19), KDH (92.4 $\pm$ 38.75), dan KSH (78.6 $\pm$ 23.22). Data diuji menggunakan *Independent Sample T-Test* untuk perbandingan KP dengan KN dan KPP. Sedangkan uji *One Way ANOVA* untuk perbandingan KP dengan kelompok perlakuan (KSK, KDH, dan KSH).

Uji statistik *Independent Sample T-Test* menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar AST serum antara kelompok KP dengan KN, maupun KP dengan KPP. Namun, dapat dilihat pada gambar 1 bahwa rata-rata kadar AST serum pada KP lebih tinggi dibandingkan dengan KN dan KPP.

Uji normalitas pada kadar AST serum kelompok KP dan perlakuan menunjukkan data terdistribusi tidak normal sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Hasilnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KP dengan kelompok perlakuan. Namun, dapat dilihat pada gambar 1 bahwa kadar AST serum tertinggi adalah kelompok KP diikuti dengan KSK, KDH, dan KSH.

Struktur Histologis Jantung

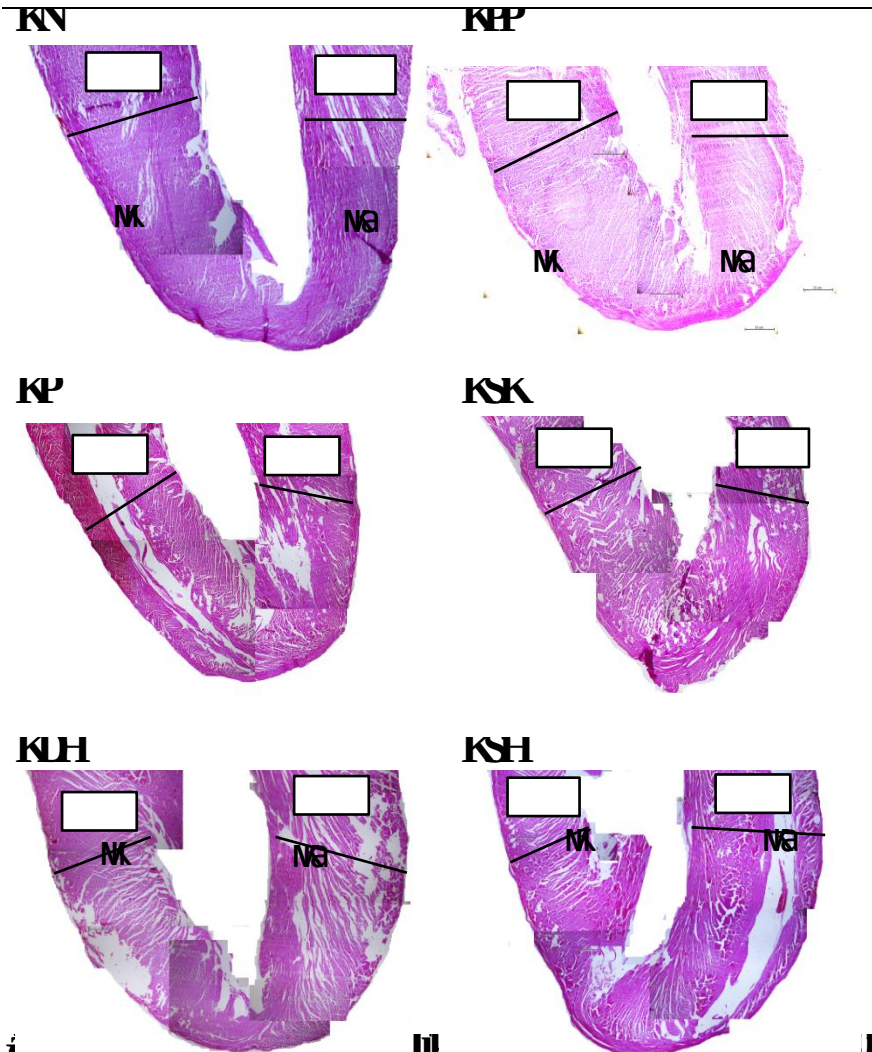
Gambaran struktur histologis jantung yang diamati adalah tebal ventrikel kanan (TVKa) dan tebal ventrikel kiri (TVKi) (Gambar 2), serta jumlah sel otot jantung (Σ SOJ) (Gambar 3), sedangkan rata-rata struktur histologis jantung dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Berdasarkan uji statistik *Independent Sample T-Test* didapatkan tebal ventrikel kanan kelompok KP berbeda signifikan dengan KN ($p=0,002$). Tebal ventrikel kanan kelompok KP juga berbeda

signifikan dengan KPP ($p=0,041$). Selain itu, didapatkan perbedaan yang signifikan pada jumlah sel otot jantung kiri antara KP dan KN ($p=0,03$). Namun, tebal ventrikel kiri dan jumlah sel otot jantung kanan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara KP dan KN ($p>0,05$).

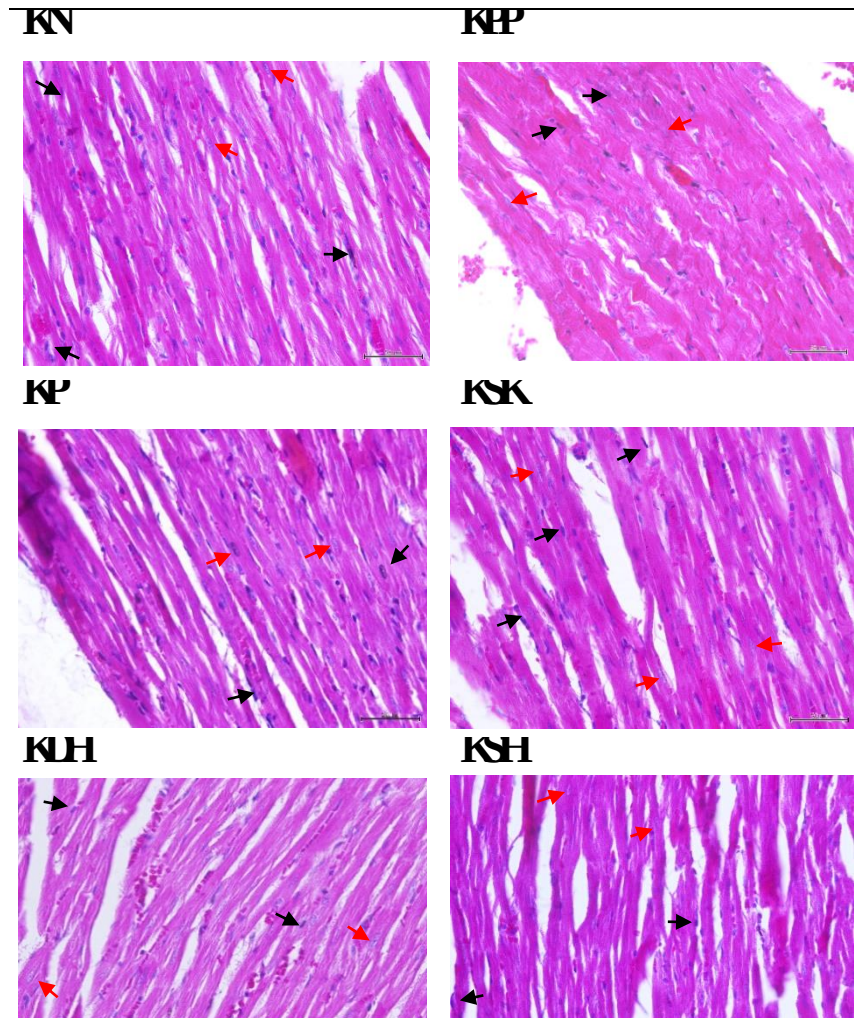
Berdasarkan uji normalitas, data TVKi dan jumlah sel otot jantung kanan dan kiri terdistribusi normal sedangkan TVKa tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis*, dimana hasilnya berbeda signifikan ($p<0,05$). Karena signifikan, maka dari itu dilanjutkan dengan *Post Hoc Tamhane*. Hasil *Post Hoc Tamhane* didapatkan perbedaan yang signifikan pada tebal ventrikel kanan antara KDH dan KSH dengan KP, serta KSH dengan KSK. Data jumlah sel otot jantung kanan didapatkan tidak homogen sehingga dilanjutkan uji *Post Hoc Tamhane* dan hasilnya tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan TVKi dan jumlah sel otot jantung kiri diuji statistik dengan *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD*. Hasil uji statistik untuk perbandingan jumlah sel otot jantung kiri menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara KDH dan KSH dengan KP, serta KDH dan KSH dengan KSK. Pada TVKi didapatkan hasil yang berbeda signifikan antara KSH dengan KP.

Pembesaran 40x



G
Keterangan: Tebal ventrikel kanan dan kiri diukur pada pembesaran 40x. Ketebalan ventrikel diukur dari epikardium hingga endokardium TVK. Tebal Ventrikel Kanan, TVK: Tebal Ventrikel Kiri.

Pembesaran 400x



Canbar 3 Sel Otot Jantung lius Vistar Helma pada Pembesaran 400x
Keterangan: Jumlah sel otot jantung pada pembesaran 400x → Sel bening gelap → Sel bening terang. Sel otot jantung berbentuk lonjong dengan bintik-bintik di dalam.

Tabel 3 Rerata Tebal Ventrikel dan Jumlah Sel Otot Jantung Kelompok Pra Perlakuan dan Kontrol

No	Kelompok	N	TVKa	$\sum SOJka$ ($\times 10^{-4}$ sel/ μm^2)	TVKi	$\sum SOJki$ ($\times 10^{-4}$ sel/ μm^2)
1	KN	5	42.16 $\pm$ 5.8	17.05 $\pm$ 1.96	42.05 $\pm$ 10.8	18.11 $\pm$ 3.18
2	KPP	5	42.23 $\pm$ 10.9	12.44 $\pm$ 1.53	54 $\pm$ 6	11.39 $\pm$ 1.32
3	KP	5	30.1 $\pm$ 1.9 ^{a,b}	14.01 $\pm$ 6.35	45.82 $\pm$ 8.53	11.62 $\pm$ 4.51 ^a

Keterangan :

Tabel 3 menunjukkan rata-rata struktur histologis jantung tikus kelompok KN, KPP, dan KP. Data diuji statistik menggunakan *Independent Sample T-Test* untuk membandingkan KP dengan KN dan KP dengan KPP. TVKa: Tebal Ventrikel Kanan, TVKi: Tebal Ventrikel Kiri, $\sum SOJka$: Jumlah Sel Otot Jantung Kanan, $\sum SOJki$: Jumlah Sel Otot Jantung Kiri. a) $p < 0.05$ dengan KN, b) $p < 0.05$ dengan KPP.

Tabel 4 Rerata Tebal Ventrikel dan Jumlah Sel Otot Jantung Kelompok Perlakuan

No	Kelompok	N	TVKa	$\sum SOJka$ ($\times 10^{-4}$ sel/ μm^2)	TVKi	$\sum SOJki$ ($\times 10^{-4}$ sel/ μm^2)
1	KP	5	30.1 $\pm$ 1.9	14.01 $\pm$ 6.35	45.82 $\pm$ 8.53	11.62 $\pm$ 4.51
2	KSK	5	33.4 $\pm$ 3.7	15.8 $\pm$ 4.34	51 $\pm$ 7.5	13.50 $\pm$ 2.41
3	KDH	5	57.4 $\pm$ 7.4 ^a	8.87 $\pm$ 1.21	57.4 $\pm$ 8.5	7.45 $\pm$ 1.62 ^{a,b}
4	KSH	5	45.9 $\pm$ 5.6 ^{a,b}	7.22 $\pm$ 0.57	61 $\pm$ 10.4 ^a	6.0 $\pm$ 1.0 ^{a,b}

Keterangan :

Tabel 4 menunjukkan rata-rata struktur histologis jantung tikus kelompok KP dan perlakuan. TV: Tebal Ventrikel, $\sum SOJ$: Jumlah Sel Otot Jantung. a) $p < 0.05$ dengan KP, b) $p < 0.05$ dengan KSK.

Tabel 5 Uji Korelasi Kadar AST Serum dengan Tebal Ventrikel dan Jumlah Sel Otot Jantung

		TVKa	$\sum SOJka$	TVKi	$\sum SOJki$
AST	Pearson	-0.612	0.622	-0.649	0.552
	Correlation				
	Sig. (2-tailed)	0.005	0.004	0.002	0.012
	N	19	19	20	20

Keterangan :

TV: Tebal Ventrikel, $\sum SOJ$: Jumlah Sel Otot Jantung.

Uji korelasi *Pearson* menunjukkan adanya hubungan negatif yang signifikan ($p < 0.05$) antara kadar AST dengan tebal ventrikel kanan dan kiri, namun hubungan tersebut termasuk dalam korelasi kuat. Sedangkan kadar AST dengan jumlah sel otot jantung kanan dan kiri memiliki hubungan positif yang signifikan ($p < 0.05$) dan berhubungan kuat.

PEMBAHASAN

Karakteristik Populasi

Penelitian ini menggunakan tikus putih jenis wistar karena tikus ini mudah diperoleh dalam jumlah banyak dan mudah dalam pemeliharaannya¹⁸. Hewan coba ini hampir memiliki 90% kesamaan genetik dengan manusia sehingga seringkali digunakan dalam penelitian¹⁸. Menurut Marques *et.al* (2006) dan Naaijken *et.al* (2014) mengatakan bahwa tikus wistar sering dipakai pada penelitian mengenai kelainan metabolik dan penyakit kardiovaskular^{19,20}. Pemilihan tikus betina berdasarkan dugaan adanya peran dari hormon estrogen dimana penelitian Knowlton & Lee (2012) menyatakan bahwa estrogen

memiliki efek pada *remodeling* jantung dan cedera sel dengan mencegah terjadinya apoptosis dan nekrosis sel-sel jantung dan endotel serta hipertrofi jantung²¹.

Usia tikus pada penelitian ini adalah 5 minggu dimana rata-rata berat badan pada usia ini sekitar 40-45 gram. Tikus diberi diet atherogenik selama 6 minggu untuk induksi hiperlipidemia dan diberi perlakuan stres fisik selama 4 minggu tetap dengan pemberian diet atherogenik. Hal ini mengacu pada penelitian Triliana (2013) bahwa pemberian diet atherogenik selama 6 minggu dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah serta penelitian Murwani (2006) yang menyatakan bahwa diet atherogenik selama 8 minggu mengakibatkan terbentuknya sel busa dan plak aterosklerosis^{15,4}. Pemilihan usia tikus berdasarkan Sengupta (2013), menggambarkan usia remaja hingga dewasa muda pada manusia²².

Tikus diberi perlakuan berupa berenang selama 5 menit dalam air yang bersuhu $\pm 32^{\circ}C$ mengacu pada penelitian Sakr HF (2013) dan Liu *et.al* (2017) yang menyatakan bahwa perlakuan berenang pada tikus didalam akuarium dengan kedalaman 40 cm, suhu air dipertahankan $30-32^{\circ}C$ dan berenang selama 5 menit^{13,23}. Sebelumnya, peneliti telah mencoba

perlakuan berenang pada tikus jantan selama 10 menit tetapi saat berenang tikus tampak kelelahan dan lebih banyak tenggelam sehingga dipilih waktu 5 menit untuk menghindari kematian pada tikus.

Tikus ditimbang setiap satu minggu sekali untuk mengetahui perubahan berat badan. Berat badan tiap minggunya pada kelompok pasca perlakuan cenderung mengalami peningkatan kecuali KN dan KDH. Selisih berat badan akhir dengan awal tidak didapatkan hasil yang signifikan, tetapi nilainya dari tertinggi ke terendah adalah KSH, KP, KDH, KN, dan KSK. Hal ini sesuai dengan teori Camacho (2017) bahwa konsumsi diet tinggi lemak sangat berhubungan dengan bertambahnya berat badan dan indeks massa tubuh²⁴. Kelompok Senin Kamis sempat mengalami penurunan berat badan pada minggu ke 3, namun kembali meningkat pada minggu terakhir. Kelompok Dua Hari memiliki rata-rata berat badan akhir tertinggi yakni 198,6 g. Hal ini disebabkan karena tingginya pakan yang dikonsumsi, terlihat dari rata-rata asupan makan per hari pada KDH lebih tinggi daripada kelompok lain.

Asupan makan tikus ditimbang setiap hari untuk mengetahui berapa jumlah pakan yang dikonsumsi dalam satu hari dengan menghitung total berat basah pakan dikurangi dengan sisa pakan. Rata-rata asupan makan per hari tidak ada yang berbeda signifikan tetapi rata-rata tertinggi ada pada kelompok KDH diikuti KSH, KN, KSK, dan KP. Perbedaan yang signifikan hanya terdapat pada asupan makan minggu ke 3 kelompok KSK. Selain itu, KSH memiliki rata-rata asupan makan paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lain kecuali KDH. Hal ini dapat disebabkan karena peningkatan kebutuhan energi pada KSH yang diberi perlakuan setiap hari sehingga pakan yang dikonsumsi juga tinggi. Faktor yang dapat berpengaruh pada peningkatan dan penurunan nafsu makan diduga terjadi perubahan pada sensitivitas hormon leptin dan ghrelin seperti penelitian Sakr HF (2013) yang mengatakan bahwa tikus yang diberi diet atherogenik dan stres fisik selama 4 minggu mengalami penurunan nafsu makan karena peningkatan hormon leptin dan penekanan hormon ghrelin pada saat latihan¹³. Penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan anggota lain bahwa terdapat perbedaan yang signifikan terhadap hormon leptin pada kelompok perlakuan (*Unpublished data*).

Pengaruh Diet Atherogenik terhadap Kadar AST Serum Tikus Wistar Betina

Analisa statistik antara diet atherogenik dengan kadar AST serum kelompok KP dengan KN didapatkan hasil tidak ada perbedaan yang signifikan. Begitu juga antara KP dengan KPP tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa antara KN yang diberi diet standar dengan KP dan KPP yang diberi diet atherogenik tidak ada perbedaan. Namun, apabila dilihat dari rata-rata kadar AST, hal ini sejalan dengan penelitian Subramani *et.al* (2017) bahwa pemberian diet tinggi lemak yang terdiri dari tepung pakan standar 90g, 2g kolesterol,

8g minyak kacang, dan 0,1g kalsium (BYCALVIT-500) akan menyebabkan peningkatan pada kadar AST serum²⁵. Pada penelitian Subramani *et.al* (2017) ini kadar AST pada kelompok yang diberi diet atherogenik lebih tinggi daripada kelompok yang diberi diet standar (162.44 ± 9.14 vs. 118.50 ± 31.15). Penelitian tersebut sama halnya dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar AST pada kelompok KP dibandingkan dengan KN. Meng *et.al* (2014) juga menyatakan bahwa pemberian diet atherogenik dapat meningkatkan kadar AST serum²⁶.

Penelitian ini menggunakan komposisi diet atherogenik yang mengacu pada Triliana (2013) yang terdiri dari 20g konsentrat pakan ayam, 10g tepung terigu, 0,2g kolesterol, 0,02g asam kolat dan 1 ml minyak babi¹⁵. Hasil antara KP dengan KN dan KPP yang tidak berbeda signifikan diduga karena pengaruh komposisi diet atherogenik sehingga berpengaruh terhadap hasil kadar AST serum.

Pada penelitian ini, rata-rata kadar AST tertinggi adalah KP dan diikuti KPP, KN. Penelitian kelompok juga menunjukkan kadar kolesterol tertinggi terdapat pada KP diikuti KPP dan KN (*Unpublished data*). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara kadar AST serum dengan kolesterol. Peningkatan AST serum pada penelitian Subramani *et.al* (2017) dan Meng *et.al* (2014) disebabkan karena diet tinggi lemak yang dapat menyebabkan hiperkolesterolemia menginduksi terjadinya stres oksidatif, dimana produksi oxLDL meningkat sehingga menyebabkan kerusakan jaringan terutama pada jantung^{25,26}. Kerusakan jaringan ini mengakibatkan kadar AST dikeluarkan menuju sirkulasi sehingga apabila kerusakan terjadi secara terus-menerus maka kadar AST akan meningkat dalam darah.

Berdasarkan Charles River Laboratory, kadar normal AST tikus betina usia 8-16 minggu adalah $65-203$ U/L²⁷. Dalam penelitian ini rata-rata kadar AST serum KP, KPP, dan KN secara berurutan adalah 123.20 ± 25.34 , 98.6 ± 9.56 , dan 81.4 ± 38.6 . Pada penelitian ini didapatkan kadar AST serum KP, KPP dan KN masih dalam batas normal. Hal ini diduga karena belum terdapat kerusakan jaringan atau kerusakan yang minimal pada jaringan jantung sehingga kadar AST serum masih berada pada kadar normal. Pengukuran kadar AST dalam penelitian ini sebagai salah satu *marker* jantung yang digunakan untuk menegakkan diagnosa infark miokard, namun pemeriksaan kadar AST memerlukan pemeriksaan *marker* jantung lain untuk menentukan adanya kerusakan sel otot jantung.

Pengaruh Diet Atherogenik terhadap Tebal Ventrikel dan Jumlah Sel Otot Jantung Tikus Wistar Betina

Struktur histologis jantung tikus wistar betina yang dievaluasi adalah ketebalan ventrikel kanan dan kiri serta jumlah sel otot jantung kanan dan kiri. Analisa statistik antara diet atherogenik dengan struktur histologis jantung pada kelompok KP dengan

KN didapatkan tebal ventrikel kanan dan jumlah sel otot jantung kiri berbeda signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara diet standar dengan diet atherogenik terhadap tebal ventrikel kanan dan jumlah sel otot jantung kiri. Hal ini sesuai dengan penelitian Talati & Hemnes (2015), yang menyatakan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan ventrikel kanan mengalami hipertrofi remodeling fase adaptif. Namun, apabila tekanan yang terjadi berlebihan dan berkelanjutan maka akan terjadi disfungsi kontraktile, penipisan dinding, dan pelebaran pada ventrikel kanan²⁸. Jumlah sel otot jantung kiri kelompok KP terdapat penurunan yang signifikan terhadap KN. Hal tersebut sejalan dengan penelitian Hsu *et.al* (2016) yang menyatakan bahwa diet tinggi lemak dapat mengakibatkan cedera jantung dengan induksi apoptosis sehingga jumlah sel jantung akan berkurang²⁹. Selain itu, Crege *et.al* (2016) juga melaporkan bahwa tikus yang diinduksi diet tinggi lemak berpotensi mengalami penurunan yang progresif pada sel otot jantung akibat apoptosis dan lesi pada miokardium.

Pada tebal ventrikel kiri tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara KN dengan KP. Namun, ketebalan ventrikel kiri pada KP cenderung meningkat. Hal ini dapat disebabkan karena peningkatan beban kerja jantung pada kondisi hiperlipidemia. Penelitian Crege *et.al* (2016) menyatakan bahwa tikus dengan hiperlipidemia dan hiperkolesterolemia dapat mengalami peningkatan ketebalan ventrikel kiri karena bertam bahnya tekanan darah sehingga jantung melakukan kompensasi dengan hipertrofi.

Tebal ventrikel kanan kelompok KP juga berbeda signifikan dengan KPP. Hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan lama pemberian diet atherogenik, pada KPP diet atherogenik diberikan selama 6 minggu, sedangkan pada KP diberikan selama 10 minggu. Peneliti menduga bahwa pemberian diet selama 6 minggu belum dapat menyebabkan perubahan pada tebal ventrikel kanan karena jantung masih dapat melakukan adaptasi terhadap perlakuan.

Hasil analisa statistik pada tebal ventrikel kiri dan jumlah sel otot jantung kanan didapatkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Hal ini berbeda dengan penelitian Camacho (2017) yang melaporkan bahwa pemberian diet tinggi lemak menyebabkan peningkatan viskositas darah membuat darah lebih kental sehingga ventrikel kiri harus melakukan kompensasi berupa hipertrofi untuk dapat mendistribusikan darah ke semua jaringan²⁵. Wang *et.al* (2015) juga menyatakan bahwa diet tinggi lemak dapat menyebabkan hipertrofi miokardium yang ditandai dengan pembesaran ukuran sel otot jantung³⁰. Perbedaan hasil penelitian ini diduga karena adanya perbedaan kadar kolesterol dan hormon estrogen yang mengacu pada penelitian Knowlton & Lee (2012) yang menyatakan bahwa estrogen dapat memiliki efek kardiovaskular *protective* yang secara tidak langsung meningkatkan ekspresi gen antioksidan sehingga tidak terjadi peningkatan radikal bebas yang sifatnya merusak²¹.

Selain itu, pada sel otot jantung terdapat reseptor estrogen sehingga hal ini memungkinkan terjadinya perbaikan pada sel otot jantung²¹. Selain itu, bias dalam perhitungan dan kualitas preparat juga menjadi factor pada penelitian ini.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik terhadap Kadar AST Serum Tikus Wistar Betina

Hasil analisa statistik antara frekuensi stres fisik dan kadar AST serum kelompok KP dengan kelompok perlakuan (KSK, KDH, dan KSH) tidak didapatkan perbedaan yang signifikan. Kadar serum tertinggi ada pada kelompok KP yang berarti bahwa pemberian frekuensi stres fisik tidak berpengaruh pada kadar AST serum. Hal ini sejalan dengan penelitian Gao *et.al* (2013) bahwa pemberian stres fisik selama 2 minggu pada tikus tidak berpengaruh pada kadar AST³¹. Berenang paksa merupakan salah satu penyebab stres pada tikus³². Penelitian ini berbeda dengan penelitian Fallahi & Hosseini (2017) yang menyatakan bahwa pemberian stres fisik berupa renang paksa selama 4 minggu dengan durasi 15 menit per hari dapat meningkatkan kadar AST serum³³. Peneliti menduga hal ini terjadi karena perbedaan pemberian stres fisik, pada penelitian Fallahi & Hosseini (2017) stres fisik yang diberikan berupa berenang paksa dalam air yang bersuhu 15°C sehingga dapat berpengaruh terhadap kadar AST serum. Selain itu Sudheer *et.al* (2015) melaporkan bahwa stres fisik berupa berenang dengan air bersuhu 20°C selama 20 menit pada tikus dapat meningkatkan kadar AST³⁴. Pada penelitian ini, durasi perlakuan stres fisik hanya 5 menit sehingga belum dapat memberikan efek pada kadar AST.

Faktor yang dapat berpengaruh pada kadar AST serum yang tidak signifikan adalah hasil negatif atau positif palsu, dimana kadar AST juga dapat meningkat pada penyakit hepar dan otot. Selain itu, kondisi serum yang mengalami hemolisis atau lipaemia dapat mempengaruhi pemeriksaan kadar AST serum.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik terhadap Tebal Ventrikel dan Jumlah Sel Otot Jantung Tikus Wistar Betina

Analisa statistik antara frekuensi stres fisik dengan struktur histologis jantung yang terdiri dari tebal ventrikel kanan dan kiri dan jumlah sel otot jantung kanan dan kiri, pada tebal ventrikel kanan didapatkan hasil yang berbeda signifikan antara KDH dan KSH dengan KP serta KSH dengan KSK. Pada tebal ventrikel kiri juga terdapat perbedaan signifikan antara KSH dengan KP. Hal ini menunjukkan bahwa peran frekuensi stres fisik dan diet atherogenik berpengaruh pada tebal ventrikel kanan dan kiri. Hal tersebut dapat terjadi karena peningkatan ekspresi gen CD36. Transporter ini berperan dalam berbagai penyakit metabolik jantung yang melibatkan perubahan dalam metabolisme lipid sehingga dapat menyebabkan hipertrofi ventrikel dengan mekanisme peningkatan ekspresi gen CD36²⁹. Selain itu, stres

fisik dapat mengakibatkan pengeluaran dari hormon kortisol, dimana hormon ini dalam metabolisme lipid berperan pada lipolisis sehingga kadar asam lemak bebas dalam darah akan meningkat karena proses pemecahan trigliserida dalam jaringan adiposa¹⁰. Kondisi ini diperberat oleh diet atherogenik yang juga dapat meningkatkan kadar asam lemak sehingga terjadi kondisi hiperlipidemia.

Energi utama yang digunakan jantung adalah asam lemak (*fatty acid*). Ketika ekspresi gen CD36 meningkat maka uptake asam lemak ke dalam sel otot jantung juga meningkat²⁹. Selain itu berdasarkan penelitian Sakr HF (2013), pemberian stres berupa renang dengan diet tinggi lemak dapat menyebabkan hipertrofi pada jantung¹³. Hipertrofi dapat disebabkan karena peningkatan beban jantung yang lebih berat pada saat kondisi hiperlipidemia sehingga jantung akan melakukan *remodeling* jantung fase adaptif untuk mempertahankan fungsinya.

Rata-rata tebal ventrikel kanan kelompok pasca perlakuan dari tinggi ke rendah adalah KDH, KSH, KSK, dan KP. Sedangkan rata-rata tebal ventrikel kiri dari tinggi ke rendah adalah KSH, KDH, KSK, dan KP. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian stres fisik dengan diet atherogenik dapat menyebabkan perubahan pada tebal ventrikel. Medeiros *et.al* (2004) melaporkan bahwa tikus yang terlatih berenang berkaitan erat dengan volume *overload* sehingga menyebabkan hipertrofi jantung dengan pertumbuhan miosit yang dominan memanjang atau longitudinal³⁵. Oleh karena itu, penelitian ini menunjukkan terdapat pengaruh stres fisik dua hari sekali dan setiap hari terhadap tebal ventrikel kanan dan kiri.

Jumlah sel otot jantung kanan tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan jumlah sel otot jantung kiri pada KDH dan KSH dengan KP serta KDH dan KSH dengan KSK didapatkan hasil yang berbeda signifikan. Hal ini berarti bahwa terdapat perbedaan nilai yang bermakna pada KDH dan KSH sehingga berbeda signifikan. Apabila dilihat dari rata-rata jumlah sel otot jantung kiri kelompok perlakuan dari tertinggi ke terendah adalah KSK, KP, KDH dan KSH. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel otot jantung kiri pada frekuensi stres fisik setiap hari dan dua hari sekali dibandingkan dengan kelompok KP dan KSK. Penurunan jumlah sel otot jantung dapat disebabkan karena hipoksia yang mengakibatkan nekrosis dari sel otot jantung sehingga terjadi penurunan jumlah sel otot jantung. Namun, hasil ini berbeda dengan kadar AST yang tinggi pada KP. Semakin meningkat kadar AST berbanding lurus dengan penurunan jumlah sel otot jantung. Hal tersebut dapat terjadi diduga karena bias dalam penghitungan sel otot jantung, kualitas dan pewarnaan preparat. Kualitas dan pewarnaan preparat yang tidak bagus dapat mempengaruhi penghitungan jumlah sel otot jantung. Pada penelitian ini, banyak terdapat preparat yang kualitas dan pewarnaannya tidak bagus seperti potongan jantung yang tidak utuh hanya menunjukkan ventrikel dan atrium pada satu sisi. Selain itu, pewarnaan yang gagal terlihat ketika

preparat dilihat dibawah mikroskop, pewarnaan lebih gelap dan tidak jelas pada semua perbesaran.

Korelasi antara Kadar AST Serum dengan Struktur Histologis Jantung Tikus Wistar Betina dengan Diet Atherogenik

Kadar AST serum memiliki korelasi negatif kuat yang signifikan dengan tebal ventrikel kanan dan kiri. Sedangkan antara kadar AST serum dengan jumlah sel otot jantung kanan dan kiri berkorelasi positif kuat yang signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa kadar AST berhubungan kuat dengan jumlah sel otot jantung kanan maupun kiri. Namun tidak berhubungan dengan tebal ventrikel kanan maupun kiri. Hal ini berbeda dengan penelitian Fouad & Yehia (2014) yang melaporkan bahwa kadar AST serum berhubungan dengan terjadinya hipertrofi ventrikel kiri dan hipertrofi sel otot jantung³⁶. Aterosklerosis dapat menyebabkan pompa jantung menurun sehingga jantung akan mengalami kompensasi berupa hipertrofi, ketika terjadi hipertrofi secara bersamaan sel otot jantung juga mengalami pelebaran untuk menambah kinerja dari beban jantung yang semakin meningkat³⁷. Sebagian sel otot jantung akan mengalami hipoksia karena ketidakseimbangan antara suplai dan konsumsi oksigen yang akan menyebabkan kerusakan sel otot jantung dan pengeluaran enzim sitoplasma salah satunya AST ke pembuluh darah. Kadar AST dapat meningkat apabila hipoksia dan kerusakan yang terjadi berkelanjutan³⁷.

Penelitian ini juga berbeda dengan Colosimo *et.al* (2008) yang melaporkan bahwa hipertrofi ventrikel kiri dapat menyebabkan hipertensi dan penyakit jantung koroner³⁸. Selain itu, Nur *et.al* (2015) menyatakan bahwa kejadian hipertrofi ventrikel kiri dapat diakibatkan oleh peningkatan beban kerja jantung yang ditandai dengan penebalan pada dinding ventrikel kiri dan penambahan massa ventrikel kiri³⁹. Hal ini menunjukkan bahwa ventrikel kiri berperan penting dalam kejadian penyakit kardiovaskular seperti penyakit jantung koroner yang dapat disebabkan karena aterosklerosis.

KESIMPULAN

1. Diet atherogenik tidak mempengaruhi kadar AST serum pada tikus wistar betina.
2. Diet atherogenik tidak mempengaruhi jumlah sel otot jantung kanan namun berpengaruh pada tebal ventrikel kanan dan kiri, serta jumlah sel otot jantung kiri pada tikus wistar betina.
3. Berbagai frekuensi stres fisik tidak mempengaruhi kadar AST serum pada tikus wistar betina.
4. Berbagai frekuensi stres fisik tidak mempengaruhi jumlah sel otot jantung kanan namun berpengaruh pada tebal ventrikel kanan dan kiri, serta dan jumlah sel otot jantung kiri pada tikus wistar betina.

5. Terdapat korelasi kuat yang signifikan antara kadar AST serum dengan jumlah sel otot jantung pada tikus wistar betina.

SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan memberikan diet atherogenik lebih lama sehingga memungkinkan untuk sampai terjadi aterosklerosis.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan menambah waktu stres fisik lebih dari 5 menit dengan air bersuhu dingin agar efek stres fisik lebih bermakna.
3. Melakukan penelitian lanjutan dengan memberikan stres fisik berupa berenang dalam tabung silinder yang berisi satu tikus.
4. Melakukan penelitian lanjutan dengan memeriksa *marker* jantung lain seperti *cardiac troponin* untuk mengetahui lebih pasti terjadinya kerusakan sel otot jantung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) karena telah membantu pendanaan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nelson, R. H. Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Primary Care: Clinics in Office Practice*. 2013. 40(1), 195-211.
2. WHO. Raised Cholesterol: Global Health Observatory (GHO) data. World Health Organization. 2008.
3. Rahayu, Dwi. Hubungan Asupan Karbohidrat dan Lemak dengan Kadar Profil Lipid pada Pasien Jantung Koroner Rawat Jalan di RSUD dr. Moewardi Surakarta. Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2015.
4. Murwani, S., Ali, M., dan Muliarta, K. Diet Atherogenik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006. 22(1), 6 – 9.
5. Firdausi, Farah And Sobirin, M. Ali. Pengaruh Metformin Terhadap Fibrosis Interstisial Jantung Dan Kesintasan pada Mencit Pasca-Infark Miokardium yang Diinduksi Dengan Isoproterenol. Undergraduate Thesis. Faculty Of Medicine Diponegoro University. 2014.
6. Lomanorek, V *et.al*. Gambaran Kadar Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (AST) pada Perokok Aktif pada Usia >40 tahun. *Jurnal e-Biomedik*. 2016. 4(1). Np.
7. Prabodh, V *et.al*. Importance of Cardiac Marker Enzymes (Aspartate Transaminase and troponin I) in Acute Myocardial Infarction: A Case-Control Study from South India. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 2012. 1(2), 118-120.
8. Nascimento, T.B, *et al*. Chronic Stress Improves the Myocardial Function without Altering L-type Ca²⁺ Channel Activity in Rats. *Arq Bras Cardiology*. 2012. 99(4), 907-914.
9. Mueller M J., and Maluf K S. Tissue Adaptation to Physical Stress: A Proposed “Physical Stress Theory” to Guide Physical Therapist Practice, Education, and Research. *American Physical Therapy Association*. 2002. 82(4), 383-403.
10. Sherwood, L. *Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem Ed. 6*. Jakarta: EGC. 2011.
11. Yu ZM *et.al*. Chronic Stress Model in New Zealand White Rabbit with Hyperlipidemia. *Europe PMC*. 2017. 97(7), 529-534.
12. DeMoura, LP *et.al*. Moderate Physical Activity from Childhood Contributes to Metabolic Health and Reduces Hepatic Fat Accumulation in Adult Rats. *Lipid in Health and Disease*. 2013. 12(29), 1-7.
13. Sakr, HF. Modulation of Metabolic and Cardiac Dysfunction by Swimming in Overweight Rats on A High Cholesterol and Fructose Diet: Possible Role of Adiponectin. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2013. 64(2), 231-240.
14. Praag H *et.al*. Exercise, Energy Intake, Glucose Homeostasis, and the Brain. *The Journal of Neuroscience*. 2014. 34(46), 15139-15149.
15. Trilliana, R. Peran Gender dan Interval Puasa pada Profil Lipid Tikus Wistar dengan Diet Atherogenik. *Jurnal Kesehatan Islam*. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang. 2018. 7(1), 57-62.
16. Horiba. Intended Use: Diagnostic Reagent for Quantitative *in vitro* Determination of Aspartate Aminotransferase (AST) in serum or plasma by colorimetry. www.horiba.com. 2011.
17. Austin *et.al*. A Stereological Method for Estimating the Total Number of Ventricular Myocyte Nuclei in Fetal and Postnatal Hearts. *Journal of Anatomy*. 1995. 187:641-647.
18. National Institute of Health. Scientist Compare Rat Genome with Human. *National Human Genome Research Institute*. www.genome.gov/11511308/204. 2004.
19. Marques, C *et.al*. High-Fat Diet-Induced Obesity Rat Model: A Comparison Between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte*. 2016. 5(1):11-21.
20. Naaijken BA *et.al*. Wistar Rats from Different Suppliers Have Different Response in An Acute Myocardial Infarction Model. *Research in Veterinary Science*. 2014. 96(2):377-379.
21. Knowlton, AA and Lee, AR. Estrogen and the Cardiovascular System. *HHS Public Access: Pharmacology Therapy*. 2012. 135(1):54-70.
22. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *International Journal of Preventive Medicine*. 2013. 4(6): 624-30.
23. Liu *et.al*. Chronic Co-Species Housing Mice and Rats Increased the Competitiveness of Male Mice. *Chemical Senses Oxford*. 2017. 42:247-257.

24. Camacho, A.L. 2017. Review Article: Influence on Adiposity and Atherogenic Lipaemia of Fatty Meals and Snacks in Daily Life. *Journal of Lipids*, 2017, 1-6.
25. Subramani C *et.al.* Anti-atherosclerotic Activity of Root Bark of *Premna integrifolia* Linn. in High Fat Diet Induced Atherosclerosis Model Rats. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2017. 7:123-128.
26. Meng C *et.al.* Original Article: Cardioprotective Effect of Resveratrol on Atherogenic Diet-Fed Rats. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2014. 7(11):7899-7906.
27. Giknis, M and Clifford, C. *Clinical Laboratory Parameters for Crl:WI(Han)*. Charles River, www.criver.com. 2008.
28. Talati, M and Hemnes, A. Fatty Acid Metabolism in Pulmonary Arterial Hypertension: Role in Right Ventricular Dysfunction and Hypertrophy. *Pulmonology Circulation Journal*. 2015. 5(2):269-278.
29. Hsu HC *et.al.* High-Fat Diet Induces Cardiomyocyte Apoptosis Via The Inhibition of Autophagy. *European Journal of Nutrition*. 2016. 55(7):2245-2254.
30. Wang Z *et.al.* Chronic High Fat Diet Induces Cardiac Hypertrophy and Fibrosis in Mice. *HHS Public Access: Journal of Metabolism*. 2015. 64(8):917-925.
31. Gao X *et.al.* Acute Stress Show Great Influences on Liver Function and The Expression of Hepatic Genes Associated With Lipid Metabolism in Rats. *Lipids in Health and Disease*. 2013. 12(118):1-6.
32. Bogdanova OV *et.al.* Factors Influencing Behavior in The Forced Swim Test. *HHS Public Access: Physiology Behavior*. 2013. 118: 227-239.
33. Fallahi M and Hosseini. Effects of Walnut Leaf Hydro-Alcoholic Extract by Forced Swimming Stress on Serum Levels of Glucose, Insulin, and Liver Parameters in Adult Male Rat's Diabetic. *Journal of Babol University of Medical Science*. 2017. 19(5):47-52
34. Sudheer A *et.al.* Evaluation of Adaptogenic Activity of Methanolic Extract of Leaves of *Tamarindus indica*. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. 5(6):2415-2424.
35. Medeiros A *et.al.* Swimming Training Increases Cardiac Vagal Activity and Induces Cardiac Hypertrophy in Rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2004. 37(12):1909-1917.
36. Fouad YM and Yehia R. Hepato-Cardiac Disorders. *World Journal of Hepatology*. 2014. 6(1):41-54.
37. Prabodh, V., Prakash D., Sudhaka G., Reddy Y., Chowdary N, Desai S. Importance of Cardiac Marker Enzymes (Aspartate Transaminase and troponin I) in Acute Myocardial Infarction: A Case-Control Study from South India. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 2012. 1(2), 118-120.
38. Colosimo *et.al.* Electrocardiogram Sensitivity in Left Ventricular Hypertrophy According to Gender and Cardiac Mass. *Journal of Cardiology*. 2011. 97(3): 225-231.
39. Nur *et.al.* Korelasi Tekanan Darah dan Index Massa Ventrikel Kiripada Penderita Hipertensi di RS Manado. *Jurnal e-Biomedik*. 2015. 3(1): 100-110.