

PENGARUH FREKUENSI STRES FISIK PADA KADAR TRIGLISERIDA SERUM DAN NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE ACTIVITY SCORE (NAS) TIKUS WISTAR BETINA

Mariyatul Qibthiyah*, Andri Tilaqza*, Rahma Triliana*

*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

E-mail: mariyatulq11@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Excessive physical exercise can cause physical stress and an increase in serum triglyceride/TG, free fatty acid (FFA) and the occurrence of Non-Alcoholic Liver Disease (NASH). Therefore, this research aim to determine the role of various interval of physical activity to determine possible physical stress and its role on serum T levels and NASH activity score (NAS).

Methods: Female Wistar rats aged 5 weeks were divided into 5 groups, namely Pre-treatment normal control (KNPP, n = 6), Negative control (KN, n = 6), and 3 groups of various intervals of physical stress (Daily/KSH (n = 6), Alternate/KDH (n = 6) and twice weekly/KSK (n = 6)). Rats were subjected to force swimming without adaptation for 5 minutes in 4 weeks the culled to collect serum and liver tissue. Serum TG levels were measured using spectrophotometry and NAS was calculated using Image J on liver histology preparations. Data were analysed using One-way ANOVA followed by post hoc LSD and a Pearson correlation with p are set at < 0.05.

Results: Statistical analysis showed no significant differences ($p > 0.05$) between serum TG levels in all groups although on a Post Hoc LSD test shown significant difference between KN (101.17 ± 70.22) with KDH (181.33 ± 88.50) ($p = 0.039$) and KDH (181.33 ± 88.50) with KSH (84.50 ± 40.80) ($p = 0.015$). NAS score analyses shows no significant difference between groups on one-way ANOVA or post-hoc LSD or Pearson correlation analyses between serum TG level and NAS.

Conclusion: Various intervals of physical stress for 4 weeks did not affect serum TG levels nor NAS in the liver of female wistar rats fed normal diet suggesting that 5 minutes of force swim physical stress is well tolerated by the subjects when daily diet is normal.

Keywords: normal diet, frequency of physical stress, Triglyceride serum, NASH, NAS

PENDAHULUAN

Aktifitas fisik merupakan pergerakan tubuh yang diakibatkan oleh adanya kontraksi dari otot yang membutuhkan energi. Berdasarkan kebutuhan energi aktifitas fisik diklasifikasikan menjadi aktifitas fisik ringan, aktifitas fisik sedang dan aktifitas fisik berat. Aktifitas fisik dapat bermanfaat untuk kesehatan kebugaran dan rekreasi¹. Namun jika dilakukan secara berlebihan akan menyebabkan stres fisik. Stres fisik dapat diklasifikasikan menjadi stres fisik rendah, sedang, dan berat. Salah satu contoh stres fisik berat yaitu olahraga dengan intensitas 20 menit tanpa ada jeda istirahat yang cukup². Menurut Jameel *et al*, jenis stres fisik lain yaitu *Forced Swimming Test*. Stres fisik ini terjadi pada hewan dengan perlakuan berenang paksa yang biasa dilakukan dengan durasi 5 menit, 10 menit dan 15 menit tanpa dilakukan adaptasi³. Stres fisik yang tidak terkondisikan akan menyebabkan peningkatan radikal bebas sehingga menimbulkan stress oksidatif dan merusak organ tubuh termasuk hepar⁴.

Efek aktifitas fisik yang berlebihan akan menyebabkan terjadinya peningkatan kortisol dan katekolamin sehingga terjadi peningkatan lipolisis pada jaringan adiposa. Proses lipolisis ini akan menghasilkan FFA dan asam lemak. FFA

mempunyai efek toksik salah satunya pada sel hepar, sehingga akumulasi FFA pada hepar akan merangsang terjadinya inflamasi pada sel hepar⁵. Selain itu peningkatan kebutuhan energi pada aktifitas fisik yang berlebihan akan merangsang pembentukan trigliserida baru pada hepar. Jika hal ini terus berlanjut maka akan terjadi akumulasi trigliserida pada hepar. Akumulasi trigliserida dan inflamasi pada sel hepar tersebut merupakan salah patogenesis terjadinya NASH⁵.

NASH (*Nonalcoholic Steatohepatitis*) merupakan suatu kelainan pada hepar dengan karakteristik steatosis (perlemakan hepar), inflamasi sel hepatosit, dan *ballooning* (pembengkakan) hepatosit. Salah satu cara mendiagnosis NASH adalah dengan sistem scoring yang biasa dikenal dengan *NAFLD Activity Score* (NAS)⁶.

Penelitian frekuensi stres fisik terhadap kadar trigliserida serum dan NASH pada diet normal masih belum dilakukan. Oleh sebab itu peneliti ingin mengetahui frekuensi yang efektif dan berpengaruh terhadap metabolisme trigliserida dan terjadinya NASH pada subjek.

METODE

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium dengan desain penelitian

control group post test only secara *in vivo* menggunakan hewan coba tikus Wistar betina yang dengan diet normal 10 minggu dan perlakuan stres fisik selama 4 minggu.

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

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

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* strain Wistar betina, dengan kriteria inklusinya adalah tikus sehat, berusia 11 minggu, betina dan berat badan antara 100 – 200 gram. Jumlah sampel yang digunakan 30 ekor. Pembagian kelompok perlakuan dilakukan secara acak (*random sampling*). Tikus dibagi dalam 6 kelompok yaitu Tikus dibagi dalam 5 kelompok yaitu Kelompok Normal Pra Perlakuan (KNPP, n=6), Kontrol Negatif (KN, n=6), Kelompok Senin Kamis (KSK, (n=6), Kelompok Dua Hari (KDH, n=6), dan Kelompok Setiap Hari (KSH, n=6). Pada kelompok KNPP, tikus dikorbankan pada usia 11 minggu tanpa diberikan perlakuan stress fisik. Pada kelompok KN, tikus dikorbankan pada usia 15 minggu tanpa diberikan perlakuan stress fisik.

Pemberian Diet

Diet standar dibuat dengan mencampur konsentrat pakan ayam (PARS) 20g/ekor, tepung terigu (Cakra Kembar Premium) 10g/ekor dan air secukupnya. Kemudian campuran ini ditimbang dan dibagi 30 ekor tikus. Pemberian diet diberikan dengan dibentuk menjadi gumpalan dan dimasukkan ke dalam tempat makan.

Perlakuan Stres Fisik

Tikus wistar betina yang berusia 11 minggu dipisahkan dalam *single cages* atau kandang tunggal untuk dilakukan perlakuan berenang dalam akuarium dengan suhu air 32°C dan kedalaman sekitar 40 cm.

Steatosis (0-3)	
<5% sel hati	0
5-33% sel hati	1
33-66% sel hati	2
>66% sel hati	3
Inflamasi lobular (0-3)	
tidak ada	0
<2 foci per 200 lapang pandang	1
2-4 foci per 200 lapang pandang	2
>4 foci per 200 lapang pandang	3
Balloning (0-2)	
tidak ada	0
beberapa sel	1
Banyak/ menonjol	2

Waktu perlakuan selama 5 menit³ antara pukul 16.00 WIB. Perlakuan ini diberikan selama 4 minggu dengan frekuensi stres fisik yang bervariasi, yaitu setiap hari pada KSH, setiap dua hari sekali untuk KDH, dan tiap hari Senin dan Kamis pada KSK.

Pembedahan Hewan Coba

Tikus yang telah berusia 15 minggu ditimbang berat badannya lalu dilakukan pembedahan. Langkah awal tikus dimasukkan wadah yang berisi kloroform agar tikus tidak sadar. Setelah tikus tidak sadar, tikus di euthanasia dengan metode *cervical dislocation*. Selanjutnya, tikus dibedah rongga abdomen secara vertical untuk mengambil darah dan lobus ketiga hepar. Selanjutnya hepar dimasukkan ke formalin untuk pemeriksaan selanjutnya.

Pengambilan Sampel Darah

Pengambilan sampel darah diambil secara intrakardial sebelum pembedahan tikus. Darah diambil dengan menggunakan spuit dan dimasukkan ke vakutainer tanpa EDTA yang sudah diberi label sesuai identitas tikus. Kemudian sampel didiamkan selama 30-60 menit pada suhu kamar. Proses selanjutnya yaitu disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3600 rpm dan diambil serumnya sebanyak 500 µL untuk diperiksa kadar trigliserida.

Pemeriksaan Kadar Trigliserida Serum

Pemeriksaan kadar trigliserida serum dimulai dengan menyiapkan tiga buah kuvet yang berisi blanko, serum, dan standar. Kuvet blanko berisi 1,0 mL reagen, kuvet standar berisi 10 µL trigliserida standar dan 1,0 mL reagen, sedangkan kuvet serum berisi 10 µL sampel dan 1,0 mL reagen. Proses selanjutnya tiga buah kuvet tersebut dicampur dan dilakukan proses inkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Penghitungan nilai kadar trigliserida dimulai dengan membaca spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Selanjutnya dikalkulasikan nilai absorbansi dengan perhitungan sebagai berikut :

$$TG \text{ (mg/dL)} = \frac{\text{absorbansi Sample}}{\Delta \text{ Standard}} \times \text{Conc. Standard (mg/dL)}.$$

Pemeriksaan Struktur Histologis Hepar

Proses pembuatan preparat histologi hepar melalui beberapa tahapan yaitu fiksasi, dehidrasi, *clearing*, *infiltrasi*, *embedding*, *sectioning*, pewarnaan dengan HE. Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop trinokuler dengan perbesaran 40x dan 200x. pada perbesaran 40x untuk melihat seluruh lapang pandang, sedangkan perbesaran 200x untuk menghitung sel hepatosit dan skor NASH. Pemeriksaan skor NASH menggunakan sistem *NAFLD Activity Score* (NAS). Pada sistem skoring ini dinilai beberapa komponen yaitu steatosis, inflamasi lobular, dan *ballooning* sel hepatosit seperti tabel dibawah ini.

Tabel 1. Nilai *Nonalcoholic Fatty Liver Disease Activity Score* (NAS)

Keterangan :

Steatosis, inflamasi lobular, dan *ballooning* dihitung dengan melihat gambaran histologi menggunakan Fuji Image J.

Penentuan diagnosis NASH dengan menjumlahkan nilai NAS diatas. Didagnosis NASH jika nilai ≥ 5 , kemungkinan NASH 3-4, dan bukan NASH ≤ 2 .

Teknik Analisa Data

Data yang didapat diuji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan *kolmogorov sminov* ($p > 0.05$). Setelah data normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*, dan *independent t test*. Selanjutnya diuji *Post Hoc LSD* ($p < 0.05$) untuk mengetahui kelompok yang berpengaruh. Namun, data yang tidak terdistribusi normal, diuji dengan *Kruskal Wallis* dilanjut uji *Tamhane* ($p < 0.05$). Kemudian dilakukan uji *Pearson Correlation* ($p < 0.05$) untuk mengetahui hubungan antara trigliserida serum dan steatosis. Uji korelasi *Spearman* untuk mengetahui hubungan antara kadar trigliserida serum dan NAS.

HASIL DAN ANALISA DATA

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar betina dengan usia 5 minggu yang dibagi dalam dua tahapan yaitu tahapan induksi (pra perlakuan) dan tahapan perlakuan. Adapun data mengenai karakteristik sampel tikus dapat dilihat pada tabel 2 dan 3 dibawah ini:

Tabel 2 Karakteristik Sampel Kelompok Pra Perlakuan

Kelompok Normal Pra Perlakuan (n=6)	
Perlakuan	Diet standart
Usia Awal (minggu)	5
Lama Perlakuan	6
Usia Akhir (minggu)	11
BB (gram)	
BB Awal	38.50 ± 6.28
BB-M 1	46.83 ± 9.95
BB-M 2	62.00 ± 18.92
BB-M 3	78.83 ± 20.50
BB-M 4	96.17 ± 16.56
BB-M 5	118.67 ± 15.54
BB-M 6	143.67 ± 12.24
BB Akhir	154.00 ± 6.63
Δ BB pra perlakuan (gram)	107.17 ± 5.71

Keterangan:

Tabel 2 menunjukkan data dalam mean ± standar deviasi (SD). BB : Berat Badan; M 1,2,3,4,5,6 : minggu ke-1,2,3,4,5,6,; Δ BB : selisih BB Akhir dikurangi BB-M 1.

Tabel 3 Karakteristik Sampel Kelompok Pasca Perlakuan

	K N (n = 6)	K S K (n = 6)	K D H (n = 6)	K S H (n = 6)
Perlakuan	Tanpa Berenang	Berenang senin kamis	Berenang dua hari sekali	Berenang setiap hari
U s i a a w a l (m g g)	5	5	5	5
U s i a a k h i r (m g g)	15	15	15	15
B B A w a l (g)	151.67 ± 16.97 ^(a)	179.50 ± 21.54	173.50 ± 25.93	154.83 ± 25.34
B B P M 1 (g)	156.17 ± 14.82	169.83 ± 18.08	193.00 ± 26.93	166.17 ± 28.06
B B P M 2 (g)	165.00 ± 12.00	176.83 ± 19.56	187.67 ± 28.72	182.33 ± 27.42
B B P M 3 (g)	169.25 ± 9.84	181.00 ± 18.13	193.00 ± 35.57	177.67 ± 26.64
B B A k h i r (g)	166.17 ± 8.18	185.00 ± 15.43	195.83 ± 35.57	183.33 ± 30.14
Δ B B (g)	10.00 ± 13.81	15.17 ± 8.50	2.83 ± 48.77	17.17 ± 33.02
A P M 1 (g)	19.80 ± 17.25	27.25 ± 2.33	30.75 ± 7.06	29.10 ± 7.12
A P M 2 (g)	24.17 ± 3.65	28.19 ± 6.61	28.93 ± 8.02	27.83 ± 5.84
A P M 3 (g)	27.48 ± 4.47	31.88 ± 7.08	27.67 ± 8.36	31.88 ± 4.60
A P M 4 (g)	24.33 ± 2.76	29.67 ± 4.78	27.33 ± 5.97	29.62 ± 6.62
Rata-rata A P/hari (g)	25.29 ± 3.07	29.20 ± 4.63	28.40 ± 6.77	29.65 ± 4.91
% A P/hari	57.47 ± 6.98	66.36 ± 10.52	64.54 ± 15.39	67.38 ± 11.16

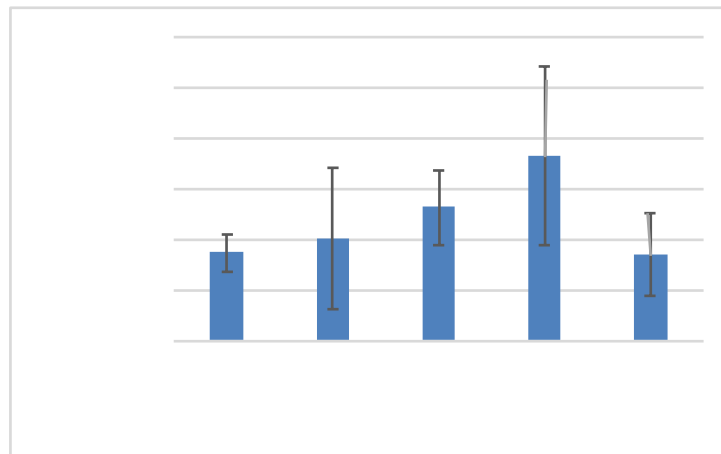
Keterangan :

Data dalam mean ± standar deviasi (SD). KN: kontrol negatif; KSK: kelompok senin kamis; KD H: kelompok dua hari; KSH: kelompok setiap hari. A P: asupan makan; BB PM 1-4: berat badan perlakuan minggu ke 1 -4; ΔBB: selisih BB akhir dikurangi BB PM 1; data diuji menggunakan *One Way Anova, Kruskal Wallis, Post Hoc LSD*, dan *Tam hane*. (a) $p < 0.05$, dengan KSK.

Pada tabel 2 menunjukkan Induksi diet normal pada Kelompok Normal Pra Perlakuan (KNPP) selama 6 minggu dapat meningkatkan berat badan tikus sebesar 107.17 ± 5.71 . Sedangkan pada tabel 3 menunjukkan jumlah asupan dan berat badan yang mengalami peningkatan dan penurunan selama penelitian berlangsung. Pada uji statistik kelompok normal pra perlakuan (KNPP) dengan KN tidak didapatkan nilai yang signifikan. Begitupun dengan uji statistik pada kelompok KN dengan KD H, dan KSH tidak didapatkan nilai yang signifikan. Pada uji statistik berat badan awal antara KN dengan KSK didapatkan nilai signifikan ($p = 0.046$).

Kadar Trigliserida Serum

Rata-rata kadar trigliserida serum kelompok penelitian dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1 Rata-rata Kadar Trigliserida Serum

Keterangan: Gambar 1 menunjukkan rata-rata kadar trigliserida serum tikus pada Kontrol Negatif (KN, 101.17 ± 19.59), Kelompok Normal Pra Perlakuan (KNPP, 86.17 ± 67.24), Kelompok Senin Kamis (KSK, 131.83 ± 37.29), Kelompok Dua Hari (KD H, 181.33 ± 88.50), dan

Kelompok Setiap Hari (KSH, 84.5 ± 40.81). Data dalam mean $\pm$ SD. Data diuji statistik menggunakan Independent Sample T-test untuk perbandingan KNPP dengan KN; *One Way Anova* untuk perbandingan kelompok perlakuan dengan KN. (a) $p < 0.05$, dengan KN, (b) $p < 0.05$, dengan KD H

Analisa data statistik didapatkan data yang normal dan homogen antara KN dan KNPP. Pada uji *Independent Sample T-test* kadar trigliserida serum menunjukkan tidak didapatkan perbedaan yang signifikan antara KNPP dengan KN

Pada kelompok perlakuan, data statistik didapatkan data yang normal dan homogen. Selanjutnya uji *One Way Anova* didapatkan data yang tidak signifikan. Uji *Post Hoc LSD* didapatkan

perbedaan yang signifikan antara KN dengan KD H ($p = 0.039$), dan KD H dengan KSH ($p = 0.015$)

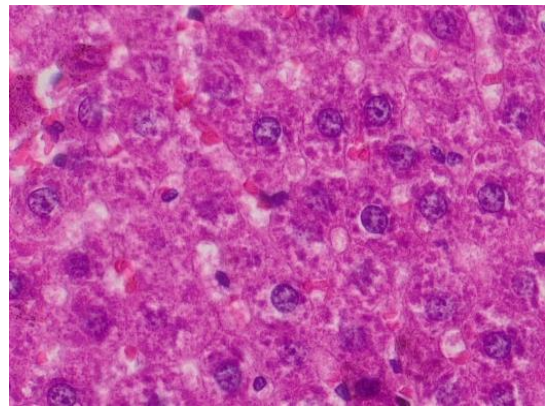
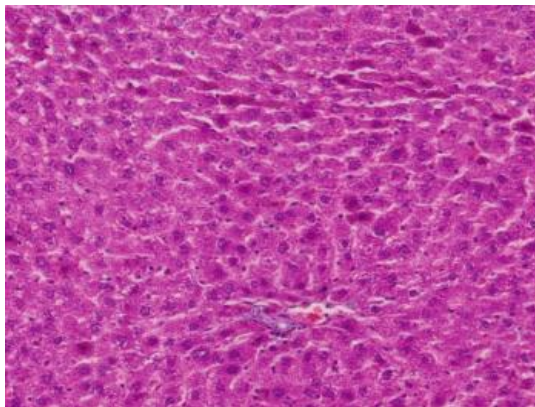
Nonalcoholic Fatty Liver Disease Activity Score (NAS)

Gambaran mikroskopik hepar yang diamati dalam penelitian adalah NAS yang terdiri dari steatosis, inflamasi lobular dan *Balloning*. Adapun rata-rata NAS dapat dilihat pada gambar 2 dan 3 di bawah ini.

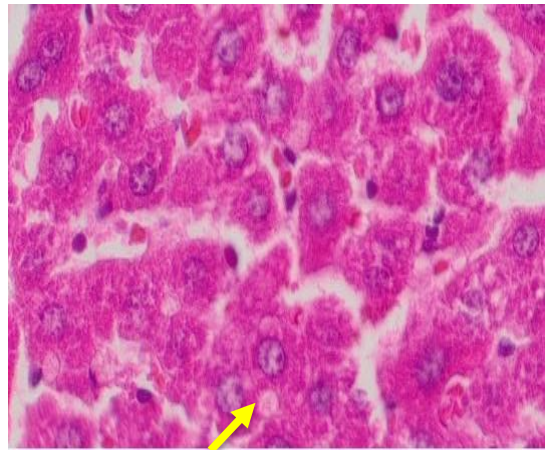
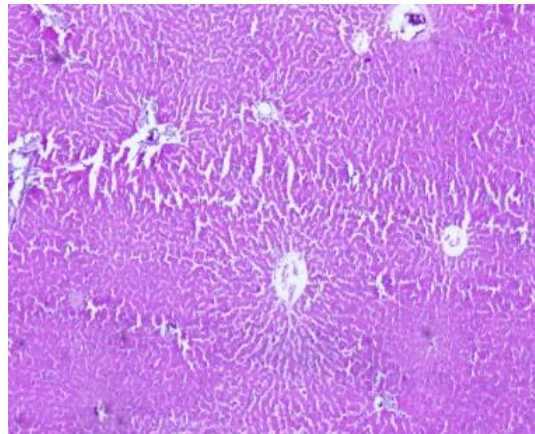
Perbesaran 40x

Perbesaran 200x

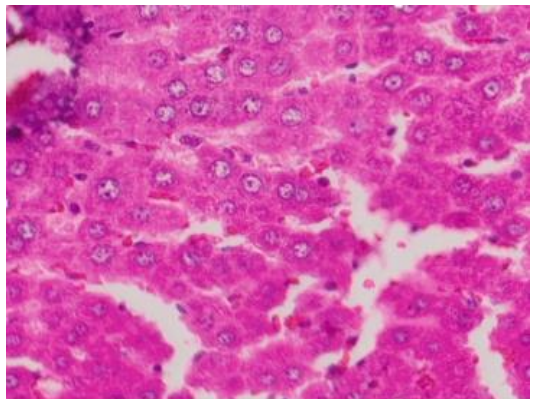
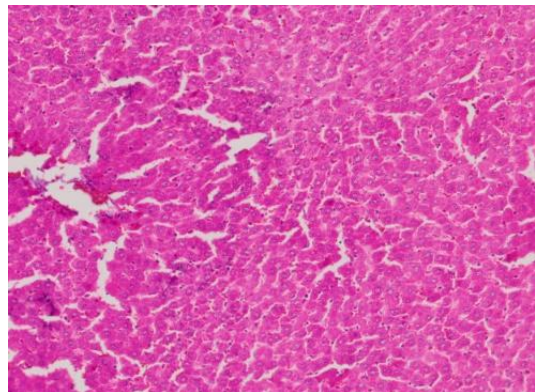
KN



KNPP



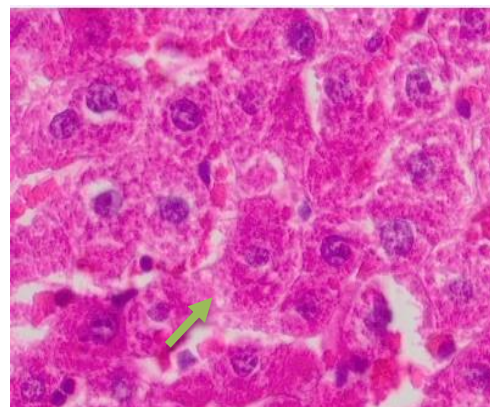
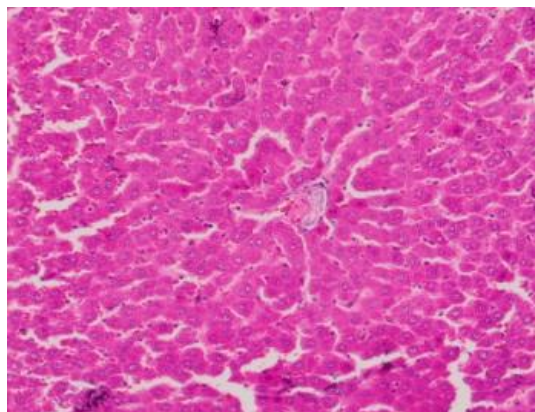
KSK



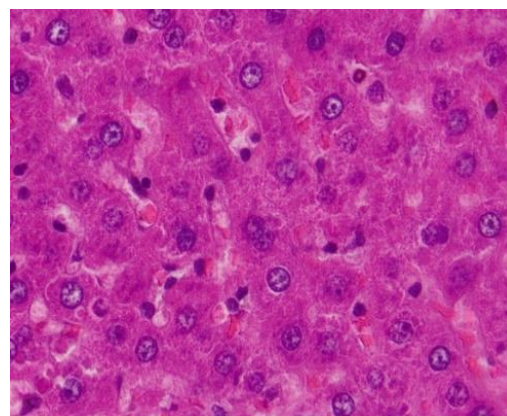
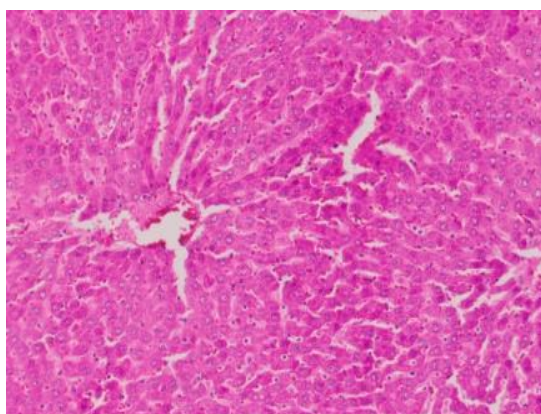
Perbesaran 40x

Perbesaran 200x

K D H



K S H



G a m b a r 2 Struktur Histologis Hepar

Gambar 4 menunjukkan struktur histologis hepar pada kontrol negatif (K N), kelompok normal pra perlakuan (K N P P), Kelompok Senin Kamis (K S K), Kelompok Dua Hari (K D H), dan Kelompok Setiap Hari (K S H).

—→ : Steatosis, —→ : Balloning, dan tidak ditemukan adanya inflamasi hepar.

Tabel 4 Rerata Steatosis, Inflamasi, dan Balloning dan NAS

	K N P P	K N	K S K	K D H	K S H
Steatosis	9.17 ± 7.86	3.17 ± 3.91	13.67 ± 4.72	11.00 ± 8.93	15.17 ± 7.76
Inflamasi	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Balloning	0.33 ± 0.82	0.00 ± 0.00	0.33 ± 0.82	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
Nilai NAS	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

Keterangan : Tabel 4 menunjukkan rata-rata NAS pada kelompok K N, K N P P, K S K, K D H, dan K S H. Data diuji statistik menggunakan *Independent T-test* untuk perbandingan K N P P dengan K N; *Kruskal Wallis* dan *Tamhane* untuk perbandingan kelompok perlakuan dengan K N.

Berdasarkan analisa data statistik didapatkan nilai NAS pada K N dan K N P P tidak normal. Data kemudian diuji menggunakan *Mann Whitney* didapatkan hasil yang tidak berbeda signifikan antara K N dan K N P P.

Pada kelompok perlakuan, data uji statistik didapatkan sebaran yang tidak normal sehingga diuji menggunakan *Kruskal Wallis*. Hasilnya tidak didapatkan nilai yang signifikan. Selanjutnya uji *Tamhane* juga tidak didapatkan nilai yang signifikan.

Korelasi Kadar Trigliserida Serum dengan NAS

Kadar trigliserida serum dan NAS dilakukan uji korelasi *Spearman* dan *Pearson*. Dilakukan Uji korelasi *Spearman* untuk melihat hubungan antara kadar trigliserida serum dan nilai NAS, sedangkan uji korelasi *Pearson* untuk melihat hubungan antara kadar trigliserida dan steatosis. Adapun hasil uji korelasi dapat dilihat pada table 5 dan 6 dibawah ini

Tabel 5 uji korelasi *Spearman* Kadar trigliserida serum dan N A S

		Trigliserida	N A S
Trigliserida	Correlation		
	Coefficient	1	-0.077
	Sig. (2-tailed)		0.685
	N	30	30
N A S	Correlation		
	Coefficient	-0.077	1
	Sig. (2-tailed)	0.685	
	N	30	30

Keterangan:

Tabel 5 menunjukkan uji korelasi *Spearman* antara kadar trigliserida serum dengan N A S.

Berdasarkan uji korelasi *Spearman* antara kadar trigliserida serum dengan nilai N A S, didapatkan nilai korelasi sebesar -0.077. Hal itu menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara kadar trigliserida serum dengan nilai N A S.

Tabel 6 Uji Korelasi *Pearson* Kadar Trigliserida Serum dengan Steatosis

		Trigliserida	Steatosis
Trigliserida	Pearson		
	Coefficient	1	0.174
	Sig. (2-tailed)		0.358
	N	30	30
Steatosis	Correlati-on		
	Coefficient	0.174	1
	Sig. (2-tailed)	0.358	
	N	30	30

Keterangan:

Tabel 6 menunjukkan uji korelasi *Pearson* antara kadar trigliserida serum dengan steatosis.

Dari tabel 6 didapatkan korelasi antara kadar trigliserida serum dan steatosis yang tidak signifikan. Sehingga dapat diartikan tidak adanya hubungan antara kadar trigliserida serum dan steatosis.

PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih wistar dikarenakan mudah didapat, mudah penanganannya, dan memiliki kesamaan metabolisme dengan manusia. Keuntungan yang lain yaitu tikus wistar mudah beradaptasi sehingga diharapkan dapat bertahan dari stres selama penelitian berlangsung⁷.

Selama penelitian berlangsung, berat badan tikus mengalami peningkatan dan penurunan pada semua kelompok perlakuan kecuali KNPP. Hal ini menunjukkan bahwa diet normal dan stress fisik berenang berpengaruh pada berat badan. Diet normal

dapat meningkatkan berat badan karena dipengaruhi oleh jumlah asupan makan.

Pada uji statistik *One Way Anova* kelompok perlakuan, tidak didapatkan hasil yang signifikan. Namun hanya signifikan pada berat badan awal antara KN dan KSK. Dilihat dari rata-rata pada kelompok KN, KSK, KDH, dan KSH kenaikan dan penurunan berat badan dapat disebabkan karena kenaikan dan penurunan asupan makan serta faktor stres selama perlakuan berlangsung.

Asupan makan pada tikus selama perlakuan mengalami peningkatan maupun penurunan tiap minggunya. Urutan rata-rata asupan makan mulai dari tertinggi hingga terendah adalah KSH, KSK, KDH dan KN. Pada uji statistik *One Way Anova* pada kelompok perlakuan tidak menunjukkan hasil yang signifikan. Hal ini dikarenakan perbedaan asupan antar kelompok hanya sedikit.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Terhadap Kadar Trigliserida Serum Tikus Wistar Betina

Hasil analisa statistik *One Way Anova* pada kadar trigliserida serum pada kelompok KN, KSK, KDH dan KSH menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Namun pada uji *Post Hoc LSD* antara KN dengan KDH didapatkan nilai signifikan ($p=0.039$). Begitupun pada KDH dengan KSH didapatkan nilai signifikan ($p=0.015$). Urutan rata-rata kadar trigliserida serum kelompok perlakuan dari yang tertinggi hingga terendah yaitu KDH, KSK, KN, dan KSH.

Peningkatan rerata KDH dan KSK diduga karena tidak adanya pembatasan makan ketika pengukuran mengakibatkan peningkatan kadar trigliserida. Selain itu kandungan estrogen di dalam tubuh tikus dapat mempengaruhi kadar trigliserida. Menurut Cooke (2004) estrogen memiliki efek peningkatan lipolisis dan menurunkan aktifitas LPL plasma sehingga kadar trigliserida serum dapat meningkat⁸.

KSH memiliki rata-rata trigliserida terendah dibandingkan kelompok perlakuan yang lain. Hal ini dapat disebabkan karena kadar trigliserida dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu genetik, insulin dan kecepatan metabolisme trigliserida pada individu yang berbeda beda. Insulin dapat meningkatkan kerja SREBP-1 (Sterol Regulatory Element Binding Protein) adiposit sehingga merangsang adanya lipogenesis pada jaringan adiposa⁹. Hal ini menyebabkan penurunan kadar trigliserida plasma. Kondisi ini sesuai dengan berat badan tikus KSH yang memiliki rata-rata tertinggi daripada kelompok lainnya dan memiliki rerata trigliserida terendah daripada kelompok lainnya.

Hasil analisa statistik kadar trigliserida serum pada Kelompok Normal Pra Perlakuan (KNPP) dan Kontrol Negatif (KN) menunjukkan hasil yang tidak signifikan. Berdasarkan penelitian Mesomya *et al.*, 2001 menyebutkan bahwa usia dapat mempengaruhi kadar trigliserida serum¹⁰. Kadar trigliserida serum

akan mengalami peningkatan mulai dari usia 1 bulan hingga 4 bulan. Hal ini sesuai dengan penelitian ini rerata kadar trigliserida KNPP lebih tinggi daripada KN.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Terhadap NAS Tikus Wistar Betina

Hasil analisa statistik *NAFLD Activity Score* (NAS) pada kelompok perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan. Pada penelitian ini setiap kelompok memiliki frekuensi waktu berenang selama 5 menit. Diduga stres fisik yang diberikan terlalu sedikit dan lama durasi kurang panjang. Pada beberapa penelitian sebelumnya perlakuan stres fisik dilakukan dengan waktu yang lebih lama seperti 10 menit, 15 menit, dan 30 menit. Dan juga durasi perlakuan yang lebih lama seperti 8 minggu dan 12 minggu. Oleh karena itu hasilnya akan lebih berpengaruh dibandingkan dengan penelitian ini yang waktunya hanya 5 menit dalam 4 minggu saja.

Dari analisa data didapatkan NAS kelompok KNPP tidak berbeda signifikan dengan kelompok KN. Pada penelitian Dowman et al (2010) dijelaskan bahwa perkembangan NASH dimulai dari akumulasi trigliserida pada hepar sehingga dapat menyebabkan steatosis⁵. Pada penelitian ini kadar trigliserida serum masih dalam batas normal. Selain itu, durasi induksi diet normal yang hanya 6 minggu pada KNPP dan 10 minggu pada KN masih terlalu singkat sehingga pada hepar tidak terjadi steatosis. Selain itu, pada penelitian ini ditemukan adanya cacing pada hepar kelompok KNPP. Hal ini diduga akan menyebabkan terjadinya inflamasi pada hepar. Inflamasi pada hepar merupakan salah satu komponen yang dinilai pada NAS. Sehingga adanya peningkatan nilai NAS pada kelompok KNPP disebabkan inflamasi dari cacing.

KESIMPULAN

1. Berbagai frekuensi stres fisik selama 4 minggu tidak mempengaruhi kadar trigliserida serum.
2. Berbagai frekuensi stres fisik tidak berpengaruh terhadap terjadinya NASH.
3. Kadar trigliserida serum tidak memiliki korelasi terhadap nilai NAS

SARAN

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan menambah lama frekuensi stres fisik lebih dari 4 minggu untuk melihat efek yang lebih signifikan.
2. Melakukan penelitian lanjutan dengan pemeriksaan kadar kortisol untuk mengetahui perubahan kadar kortisol terhadap stres.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada IOM dan FK yang telah mendanai penelitian, dr. Rahma Triliana, M.Kes., Ph.D selaku pembimbing utama dan Bapak Andri Tilaqza, S.Farm., M.Farm., Apt selaku pembimbing kedua.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hanjani, A., Laksono, B., Indraswari, D. Pengaruh Olahraga Aerob Rutin Terhadap Memori Jangka Pendek Mahasiswa FK Undip yang Diukur Dengan Scenery Picture Memory Test. *Media Medika Muda*. 2015. 4(4): pp. 379-388
2. MacInnis, Gibala. Hysiological Adaptations To Interval Training And The Role Of Exercise Intensity. *J Physiol*. 2016. 595(9): pp. 2915-2930
3. Jameel, M. *et al.*,. Effect of Various Physical Stress Models on Serum Cortisol Level in Wistar Rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014. 8(3): pp. 181-183.
4. Dewi, P. H. a. N. R. Pengaruh Stres Fisik terhadap Kadar Kreatinin Serum Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2016. 4(2): pp. 218-221.
5. Dowman, J., Tomlinson, J. & Newsome, P. Pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *QJM*. 2010. Volume 103: pp. 71-83.
6. Wan, X., Xu, C., Yu, C. & Li, Y. Role of NLRP3 Inflammasome in the Progression of NAFLD to NASH. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2015: pp. 1-7.
7. Tambunan, S., Asni, E., Malik, Z. & Ismawati. Histopatologi Aorta Torasika Tikus Putih (*Rattus norvegicus* strain wistar) jantan setelah pemberian diet aterogenik selama 12 minggu. *Jom FK*. 2014. 2(1): pp. 1-14.
8. Cooke, P., Naaz, A. Role of Estrogen in Adipocyte Development and Function. *Society of Experimental Biology and Medicine*. 2004. Volume 1: pp. 1535-3702.
9. Kim, Y. *et al.* Sterol Regulatory Element-binding Protein (SREBP)-1-mediated Lipogenesis Is Involved in Cell Senescence. *Journal of Biological Chemistry*. 2010. 285(38): pp. 29069-29077.
10. Mesomya, W. *et al.* Effect of Age On Serum Cholesterol and triglyceride levels in the Experimental Rats. *Nat Sci*. 2001. 35: pp. 144-148