

PENGARUH FREKUENSI STRESS FISIK TERHADAP KADAR *Malondialdehyde* (MDA) dan *Superoxide Dismutase* (SOD) JANTUNG TIKUS BETINA DENGAN DIET ATHEROGENIK

Jumas Alhomaiddi*, Sigit Wahyu Jatmiko*, Rahma Triliana*

**Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang*

Email: alhomaiddi92@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Atherogenic diet can cause hyperlipidemia which affects malondaldehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) levels of the heart. Studies have shown that physical stress also modify MDA and SOD levels. However, the combination of both factors have not been studied. Therefore, this study aim to determine the role of frequency of physical stress on heart MDA and SOD levels during atherogenic diet feeding.

Method: Female rats were divided into 6 groups (n = 6 each) which consist of 3 controls (KN, KPP, KP) and 3 treatments groups (KSK, KDH, KSH). KN were fed with standard diet for 10 weeks while KPP and KP were fed with atherogenic diet for 6 weeks and 10 weeks (respectively). Treatment groups were fed with atherogenic diet for 10 weeks and physical stress were given twice a week (KSK), alternate days (KDH), and daily (KSH). Physical stress were given in the form of forced swimming for 5 minutes for 4 weeks (week 7 to 10) duration. At the end of the study, all rats were humanely culled and hearts were collected and homogenized and supernatant were used for analyses. MDA levels were measured using thiobarbituric acid test method, while SOD levels were measured using spectrophotometric test method. Data were analyzed using One Way ANOVA and p is set at < 0.05.

Result: Atherogenic diet shows no significant effect on heart MDA (KN: 1103.58 ± 88.38 vs KP 1268.17 ± 273.97) and SOD levels (KN: 8.39 ± 3.30 vs KP 6.99 ± 2.04). Various frequencies of physical stress have a significant effect in heart MDA (955.67 ± 163.75) and SOD (9.54 ± 1.93) levels of KDH group, but have no significant effect on KSK or KSH ($p > 0.05$). Correlation analyses showed weak relationship -0.378 with no significant value between heart MDA and SOD levels of female rats fed with atherogenic diet.

Conclusion: Atherogenic diet does not affect heart MDA and SOD levels. Alternate days of physical stress during atherogenic diet has shown to decrease heart MDA and increase heart SOD levels in female rats.

Keywords: Atherogenic diet, frequencies of physical stress, MDA, SOD, heart.

PENDAHULUAN

Hiperlipidemia adalah peningkatan kadar trigliserida dan kolesterol dalam darah, yang ditandai oleh peningkatan kadar *low density lipoprotein* (LDL) dan tanpa penurunan kadar *high density lipoprotein* (HDL)¹. Menurut *World Health Organization* (WHO), pada tahun 2008 prevalensi hiperlipidemia di dunia meningkat sebesar 37% pada pria dan 40% pada wanita². Di Indonesia, menurut Riset Kesehatan Dasar Nasional tahun 2013 hiperlipidemia sebesar 32,8% pada pria dan 37,2% pada wanita yang lebih mudah mengalami hiperlipidemia³. Hal ini akan meningkatkan resiko terkena penyakit jantung Koroner sehingga etiopatogenesis hiperlipidemia perlu diketahui.

Hiperlipidemia dapat terjadi akibat asupan makanan yang berlemak tinggi salah satunya dengan pemberian diet atherogenik yang mengandung kolesterol dan asam lemak jenuh^{4,5}. Diet atherogenik diyakini dapat meningkatkan kadar kolesterol, Trigliserida, *low density lipoprotein* (LDL) dalam darah^{4,6}. Peningkatan kadar lemak dalam darah dapat menyebabkan disfungsi endotel akibat penumpukan lemak di tunika intima sehingga terbentuk plak dalam proses aterosklerosis⁷. Plak yang terbentuk dapat mengganggu aliran darah sehingga terjadi hipoksia jaringan terutama pada jantung terjadi kerusakan dan stres oksidatif^{7,8}. Stres oksidatif yang berlebihan akan meningkatkan radikal bebas di jaringan sehingga menginduksi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dan penurunan kadar *superoxide dismutase* (SOD) sebagai upaya merubah radikal bebas menjadi H₂O dan CO₂⁹.

Stres adalah suatu keadaan menantang secara emosional dan fisiologis yang apabila berlebihan akan mengaktifasi sistem *hipotalamus-pituitari-adrenal* (HPA) axis dan simpatis. Sistem HPA axis akan meningkatkan hormon kortisol yang dapat menyebabkan aktivasi proses lipolisis. Aktivasi sistem saraf simpatis akan melepaskan hormon norepinefrin dan epinefrin yang akan mengaktifasi proses lipolisis untuk diubah menjadi energi dan asam lemak bebas dalam darah¹⁰. Peningkatan asam lemak bebas akan meningkatkan proses beta oksidasi menyebabkan stres ribosomal sehingga terjadi stres oksidatif¹¹. Akibat dari stres dan diet tinggi lemak akan memperparah kondisi jantung sehingga radikal bebas akan menginduksi peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) dan penurunan kadar *superoxide dismutase* (SOD)^{7,9}.

Aktivitas fisik dibutuhkan untuk memperbaiki aliran darah dan fungsi kardiovaskular¹². Namun, apabila dilakukan dalam suasana yang tidak nyaman atau dalam paksaan (stres fisik) seperti pada renang paksa maka stres oksidatif akan terjadi. Salah satu penentu terjadinya stres fisik adalah frekuensi yang tidak tepat atau dalam durasi yang lama¹³. Frekuensi stres fisik mana yang dapat meningkatkan kadar *malondialdehyde* (MDA) dan penurunan kadar *superoxide dismutase* (SOD) belum diketahui dan

diteliti. Oleh sebab itu penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui efek hiperlipidemia dapat mempengaruhi kadar radikal bebas dan antioksidan pada organ jantung tikus betina.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan desain penelitian *control group post test only* secara *in vivo* menggunakan hewan coba tikus Wistar betina yang diberikan diet atherogenik selama 10 minggu dan perlakuan stres fisik selama 4 minggu.

Penelitian ini dilaksanakan di *Animal House* dan Laboratorium biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium FAAL 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

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar betina, dengan kriteria inklusinya yaitu, tikus sehat, berusia 5 minggu dan berat badan antara 30-50 gram. Jumlah sampel yang digunakan 36 ekor tikus. Tikus dibagi dalam 6 kelompok yaitu Kelompok Pra Perlakuan (KPP) diberi diet atherogenik selama 6 minggu tanpa stres fisik (n=6), Kontrol Negatif (KN) diberi diet standar selama 10 minggu tanpa stres fisik (n=6), Kontrol Positif (KP) diberi diet atherogenik selama 10 minggu tanpa stres fisik (n=6), Kelompok Senin Kamis (KSK) diberi diet atherogenik selama 10 minggu dengan stres fisik setiap senin dan kamis (n=6), Kelompok Dua Hari (KDH) diberi diet atherogenik selama 10 minggu dengan stres fisik dua hari sekali (n=6), dan Kelompok Setiap Hari (KSH) diberi diet atherogenik selama 10 minggu dengan stres fisik setiap hari (n=6).

Pemberian Diet

Diet standar dibuat dengan bahan konsentrat pakan ayam (PARS) 20g/ekor, tepung terigu (Cakra Kembar Premium) 10g/ekor dan air secukupnya. Diet standar diberikan pada KN. Diet atherogenik dibuat dengan bahan terdiri dari komposisi diet standar dengan kolesterol 0.2g/ekor, asam lemak jenuh 0.02g/ekor, dan minyak babi 1ml/ekor⁵. Diet atherogenik diberikan pada KPP, KP, dan kelompok perlakuan (KSH, KDH, dan KSK).

Perlakuan Stres Fisik

Perlakuan stres fisik dimulai saat tikus berumur 11 minggu dan tikus sudah menempati kandang

tunggal (*single cage*). Tikus diberi perlakuan berenang dalam akuarium dengan suhu air 30-32°C dan kedalaman sekitar 40 cm¹⁴. Waktu perlakuan selama 5 menit antara pukul 16.00-19.00 WIB. Kemudian tikus dikeringkan dengan handuk dan *hairdryer*. Perlakuan ini diberikan selama 4 minggu dengan frekuensi stres fisik yang bervariasi, yaitu setiap hari Senin dan Kamis pada KSK, setiap dua hari sekali pada KDH, dan setiap hari pada KSH.

Pembedahan Hewan Coba

Tikus dianestesi dengan meletakkannya dalam wadah yang berisi kapas yang sudah tercampur kloroform. Setelah tikus tidak sadar atau pingsan, tikus di teletangkan untuk dilakukan pembedahan dimulai dari perut ke toraks. Ambil darah terlebih dahulu secara intrakardial. Selanjutnya dilakukan dislokasi daerah servikal agar tikus benar sudah mati. Tikus yang sudah terbedah dilanjutkan dalam pengambilan organ. Jantung tikus terambil, segera dilakukan pemotongan secara sagital menjadi dua bagian. Satu bagian yang sudah terpotong ditaruh pada wadah sampel dan dimasukkan ke wadah yang sudah terisi es. Jantung tikus tersebut dikirim ke Laboratorium FAAL Universitas Brawijaya untuk dilakukan pemeriksaan kadar MDA dan SOD jaringan jantung.

Pemeriksaan Kadar MDA Jantung

Pengukuran Kadar MDA dilakukan dengan memodifikasi metode uji asam tiobarbiturat (TBA). Organ jantung ditimbang dengan berat 100 mg dan digerus kemudian dimasukkan ke dalam *effendorf tube* dan ditambahkan 1 ml aquades, 200 ul TCA 20%, 400 ul Na Thio 0,67% dan 250 ul HCL 1 N lalu dicampur menggunakan *vortex*. Larutan yang telah tercampur dipanaskan dengan *waterbath* dalam suhu 96°C ± 10 menit dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Presipitat dibuang dan supernatan diambil, pengukuran akan dilakukan secara spektrofotometri pada λ maksimum 532 nm. Hasil absorbansi dikonversi berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan hasil dengan satuan ng/ml.

Pemeriksaan Kadar SOD Jantung

Organ Jantung dicuci dengan larutan PBS lalu ditaruh pada tempat sampel. Organ jantung ditimbang dengan berat 100 mg dan digerus, kemudian dimasukkan ke dalam *effendorf tube* dan ditambahkan 1 ml *Phospat Buffer Saline*, 100 ul xantine, 100 ul xanthine oxidase, 100 ul NBT lalu dicampur menggunakan *vortex*. Larutan yang telah tercampur dipanaskan dengan *waterbath* selama 30 menit dengan suhu 30°C dan disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Supernatan diambil dan ditambahkan PBS

sampai dengan 3500 ul, pengukuran dilakukan secara spektrofotometri pada λ maksimum 580 nm. Hasil absorbansi dikonversi berdasarkan kurva standar sehingga didapatkan hasil dengan satuan u/ml.

Teknik Analisa Data

Data yang didapat dilakukan uji statistik menggunakan *software* SPSS versi 22. Pertama yang dilakukan uji normalitas ($p > 0.05$) untuk semua kelompok penelitian (KN, KPP, KP, KSK, KDH, KSH). Kelompok kontrol (KN, KPP, KP) didapatkan hasil data normal selanjutnya dilakukan uji *Independent Sample t-test* dengan signifikansi ($p < 0.05$). Kelompok Perlakuan (KP, KSK, KDH, KSH) didapatkan hasil data normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas ($p > 0.05$). Dilanjutkan uji *One Way ANOVA* dengan uji *Post Hoc LSD* ($p < 0.05$).

HASIL DAN ANALISA DATA

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian adalah tikus Wistar betina berusia 5 minggu yang dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Tikus ditimbang setiap satu minggu sekali untuk mengetahui perubahan berat badan.

Adapun data mengenai karakteristik sampel kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 1** dan **Tabel 2** di bawah ini:

Tabel 1 Karakteristik Sampel Kelompok Pra Perlakuan (KPP)

	KPP (n=6)
Perlakuan	Diet atherogenik
Usia Awal (minggu)	5
Lama Perlakuan (minggu)	6
Usia Akhir (minggu)	11
BB (gram)	
BB Awal	32.67 ± 5.42
BB-M1	45.83 ± 8.35
BB-M2	62.33 ± 14.50
BB-M3	79.00 ± 17.39
BB-M4	97.67 ± 17.30
BB-M5	112.67 ± 18.26
BB-M6	120.50 ± 22.19
BB Akhir	124.50 ± 22.19
ΔBB pra perlakuan (gram)	78.67 ± 16.24

Keterangan:

Tabel 1 menunjukkan data dalam mean ± standar deviasi (SD). BB: berat badan, M 1-6: Minggu 1-6, ΔBB Pra Perlakuan: selisih BB Akhir dikurangi BB M1.

Pada **Tabel 1** kelompok KPP tikus mengalami peningkatan berat badan tiap minggunya, dengan rerata selisih berat badan akhir dengan berat badan minggu pertama pada KPP adalah 78.67 ± 16.24.

Tabel 2 Karakteristik Sampel Kelompok Pasca Perlakuan

	KN (6)	KP (6)	KSK (6)	KDH (6)	KSH (6)
BB Awal (g)	148.50 ± 19.04	114.67 ± 16.89 ^a	144.33 ± 11.75 ^{b,d}	177 ± 8.53 ^{b,c,e}	150.33 ± 23.83 ^{b,d}
BBPM1 (g)	154 ± 14.88	126.50 ± 17.15 ^a	150.83 ± 12.57 ^{b,d}	180.33 ± 15.24 ^{b,c}	159.67 ± 24.09 ^b
BBPM2 (g)	161 ± 13.68	131 ± 15.16 ^a	153 ± 7.87 ^{b,d}	187.67 ± 14.98 ^{b,c,e}	166.67 ± 23.84 ^{b,d}
BBPM3 (g)	167.67 ± 9.64	139 ± 17.539 ^a	149 ± 8.29 ^d	206.67 ± 32.72 ^{b,c,e}	171.83 ± 26.30 ^{b,d}
BB Akhir (g)	166.17 ± 8.18	144.50 ± 15.87 ^a	152 ± 10.56 ^d	196.17 ± 27.88 ^{b,c}	175.83 ± 24.73 ^b
ΔBB (g)	12.17 ± 12.09	18 ± 9.96	1.17 ± 20.36	15.83 ± 18.50	16.17 ± 34.42
AMM1 (g)	-	-	29.88 ± 14.40	33.42 ± 18.54	24.33 ± 2.63
AMM2 (g)	24.91 ± 4.26	21.70 ± 3.49	28.83 ± 10.04	29.38 ± 6.67	24.92 ± 4.53
AMM3 (g)	27.07 ± 3.55	21.54 ± 1.09 ^a	19.12 ± 2.07 ^{d,e}	28.07 ± 8.44 ^{b,c}	25.31 ± 5.12 ^c
AMM4 (g)	24 ± 3.32	21.38 ± 2.34	20.09 ± 4.14	26.81 ± 9.65	25.21 ± 8.09
Rata-rata AM/hari (g)	25.20 ± 3.32	21.50 ± 1.05 ^a	24.15 ± 5.87	29.41 ± 10.53 ^b	24.94 ± 2.58

Keterangan:

Tabel 2 menunjukkan data dalam mean ± standar deviasi (SD). Uji statistik menggunakan *Independent Sample t-test*, *One Way ANOVA*, *Kruskal Wallis*, *Post Hoc LSD* dan *Tamhane*. BBPM1-3: Berat Badan perlakuan minggu 1-3, ΔBB: selisih BB Akhir dengan BBPM1, AMM 1-4: Asupan 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 KDH; (e) p<0.05, dengan KSH.

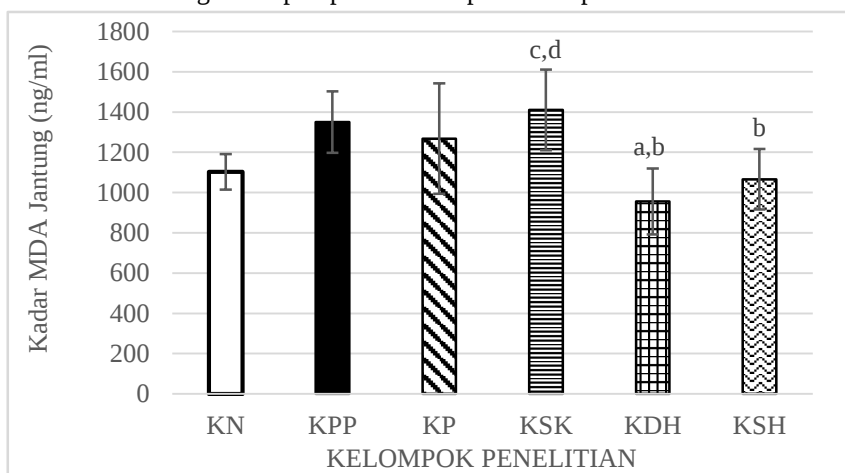
Pada **Tabel 2** Berat badan tiap minggunya pada kelompok pasca perlakuan cenderung mengalami peningkatan. Berat badan awal, berat badan perlakuan minggu 1, 2 dan 3, juga berat badan akhir memiliki perbedaan yang signifikan antara KP dengan KN. Selisih berat badan akhir dengan awal tidak didapatkan hasil yang signifikan, tetapi nilainya dari tertinggi ke terendah adalah KP, KSH, KDH, KN, KSK. Pada KSK sempat mengalami penurunan berat badan pada minggu ke 3, namun kembali meningkat pada minggu terakhir. Pada KDH

memiliki rata-rata berat badan akhir tertinggi yakni 196,17 g.

Asupan makan pada tikus selama perlakuan mengalami peningkatan maupun penurunan tiap minggunya. Terdapat perbedaan yang signifikan asupan makan minggu ke 3 antara KP dengan KN dan kelompok perlakuan. Pada asupan makan minggu ke 1 tidak didapatkan data dikelompok KP dan KN karena terlambat dalam memulai perlakuan. Urutan rata-rata jumlah asupan perminggu dari tertinggi ke terendah secara berurutan adalah KDH-KN-KSH-KSK-KP.

Kadar MDA Jantung

Hasil rata-rata kadar MDA Jantung kelompok penelitian dapat dilihat pada **Gambar 1** di bawah ini.



Gambar 1 Rata-rata Kadar MDA Jantung

Keterangan:

Gambar 1 menunjukkan rata-rata kadar *Malondialdehyde* (MDA) Jantung tikus pada Kontrol Negatif (KN, 1103.58 ± 88.38), kelompok Pra Perlakuan (KPP, 1350.25 ± 152.62), Kontrol Positif (KP, 1268.17 ± 273.97), Kelompok Senin Kamis (KSK, 1410.25 ± 200.62), Kelompok Dua Hari (KDH, 955.67 ± 163.75), dan Kelompok Setiap Hari (KSH, 1065.67 ± 150.35). Data dalam mean ± SD. Data diuji statistik menggunakan *Independent Sample T-test* untuk perbandingan KP dengan KN dan KP dengan KPP, *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* perbandingan KP dengan kelompok perlakuan (KSK, KDH dan KSH). (a) $p < 0.05$ dengan KP, (b) $p < 0.05$ dengan KSK, (c) $p < 0.05$ dengan KDH, (d) $p < 0.05$ dengan KSH.

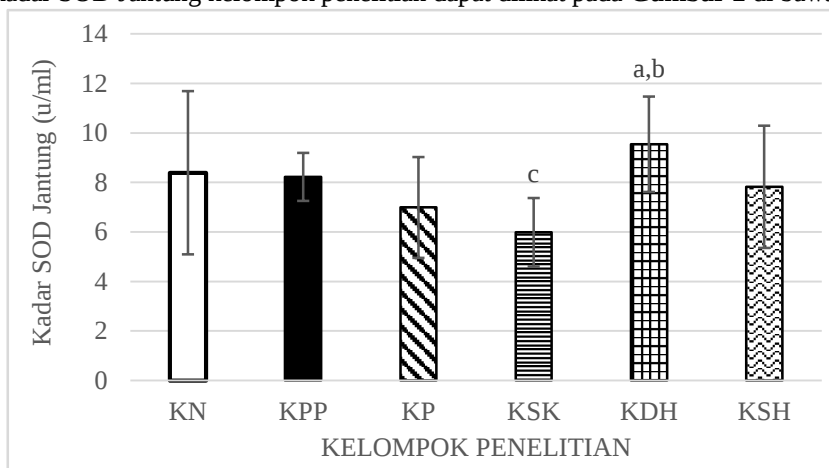
Berdasarkan uji *Independent Sample T-test* kadar MDA jantung menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara KP dengan KN, maupun KP dengan KPP. Pada **Gambar 1**, menunjukkan rata-rata kadar MDA jaringan jantung pada KPP lebih tinggi daripada KN dan KP.

Uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) pada kadar MDA jantung antara kelompok perlakuan dengan KP. Uji lanjutan dengan *Post Hoc LSD* didapatkan perbedaan yang

signifikan ($p < 0.05$) antara KSK dengan KDH dan KSK dengan KSH, KDH dengan KP dan KDH dengan KSK, KSH dengan KSK. Rata-rata kadar MDA jantung kelompok perlakuan KDH dan KSH lebih rendah dibandingkan KP, sedangkan KSK lebih tinggi dibandingkan KP. Adapun urutan rerata kadar MDA jantung secara berturut-turut dari rendah ke tinggi adalah KDH, KSH, KP dan KSK dengan nilai tertinggi. Rata-rata kadar MDA jantung dapat dilihat pada **Gambar 1**.

Kadar SOD Jantung

Hasil rata-rata kadar SOD Jantung kelompok penelitian dapat dilihat pada **Gambar 2** di bawah ini.



Gambar 2 Rata-rata Kadar SOD Jantung

Keterangan:

Gambar 2 menunjukkan rata-rata kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) Jantung tikus pada Kontrol Negatif (KN, 8.39 ± 3.30), kelompok Pra Perlakuan (KPP, 8.23 ± 0.97), Kontrol Positif (KP, 6.99 ± 2.04), Kelompok Senin Kamis (KSK, 5.99 ± 1.38), Kelompok Dua Hari (KDH, 9.54 ± 1.93), dan Kelompok Setiap Hari (KSH, 7.82 ± 2.47). Data dalam mean ± SD. Data diuji statistik menggunakan *Independent Sample T-test* untuk perbandingan KP dengan KN dan KP dengan KPP, *One Way ANOVA* dan *Post Hoc LSD* perbandingan KP dengan kelompok perlakuan (KSK, KDH dan KSH). (a) $p < 0.05$ dengan KP, (b) $p < 0.05$ dengan KSK, (c) $p < 0.05$ dengan KDH.

Berdasarkan uji *Independent Sample T-test* kadar SOD jantung menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara KP dengan KN, maupun KP dengan KPP. Pada **Gambar 2**, menunjukkan rata-rata kadar SOD jantung pada KN lebih tinggi daripada KPP dan KP.

Uji *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) pada kadar SOD jantung antara kelompok perlakuan dengan KP. Uji lanjutan dengan *Post Hoc LSD* didapatkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) antara KSK dengan KDH, KDH dengan KP dan KDH dengan KSK. Rata-rata kadar SOD jantung kelompok perlakuan KDH dan KSH lebih tinggi dibandingkan KP, sedangkan KSK lebih rendah dibandingkan KP. Adapun urutan rerata kadar SOD jantung secara berturut-turut dari rendah ke tinggi adalah KSK, KP, KSH dan KDH dengan nilai tertinggi. Rata-rata kadar SOD jantung dapat dilihat pada **Gambar 2**.

Hasil Korelasi Kadar MDA dan SOD Jantung Tikus

Tabel 3 Hasil Uji korelasi Kadar MDA dan SOD Jantung

		MDA	SOD
MDA	Pearson Correlation	1	-.378
	Sig. (2-tailed)		.069
	N	24	24
SOD	Pearson Correlation	-.378	1
	Sig. (2-tailed)	.069	
	N	24	24

Keterangan:

Tabel 3 menunjukkan uji korelasi *Pearson* antara kadar MDA dan SOD jantung tikus.

Berdasarkan **Tabel 3** diatas menunjukkan bahwa hasil korelasi sebesar -0.378 dengan nilai signifikan 0.069 ($p > 0.05$), menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya hubungan yang signifikan antara kadar MDA dan SOD jantung.

PEMBAHASAN

Karakteristik populasi

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina, karena mudah diperoleh dalam jumlah yang banyak, mudah dalam pemeliharaannya dan terdapat kesamaan genetik hampir 90% dengan manusia sehingga sering digunakan untuk penelitian¹⁵. Pemilihan tikus betina menurut penelitian sebelumnya tikus betina lebih mudah terkena hiperlipidemia apabila diberi diet atherogenik¹⁶. Sehingga dengan peningkatan tinggi lemak akan memicu proses inflamasi dan kelainan metabolisme yang akan mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar MDA dan Penurunan kadar SOD¹⁷.

Hewan coba pada penelitian ini berusia 5 minggu dengan rata rata berat badan pada usia ini sekitar 40-45 gram. Tikus di beri diet atherogenik selama 6 minggu agar terjadi hiperlipidemia dan diberi perlakuan stres fisik selama 4 minggu dengan pemberian diet atherogenik tersebut. Hal ini mengacu pada penelitian Triliana (2012) bahwa pemberian diet atherogenik selama 6 minggu dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total dan LDL dalam darah serta penelitian Fatmawati (2012) dan Kusumastuty (2014) peningkatan kadar lemak dalam darah dapat menyebabkan disfungsi endotel akibat penumpukan lemak di tunika intima sehingga terbentuk plak dalam proses aterosklerosis. Plak yang terbentuk dapat mengganggu aliran darah sehingga terjadi hipoksia jaringan terutama pada jantung terjadi kerusakan dan stres oksidatif^{4,5,9}.

Tikus ditimbang setiap satu minggu sekali untuk mengetahui perubahan berat badan. Pada **Tabel 1** kelompok KPP tikus mengalami peningkatan berat badan tiap minggunya, dengan rerata selisih berat badan akhir dengan berat badan minggu pertama pada KPP adalah 78.67 ± 16.24 . Pada **Tabel 2** Berat badan tiap minggunya pada kelompok pasca perlakuan cenderung mengalami peningkatan. Berat badan awal, berat badan perlakuan minggu 1, 2 dan 3, juga berat badan akhir memiliki perbedaan yang signifikan antara KP dengan KN. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan berat badan pada tikus dengan diet normal dan diet atherogenik. Jika dilihat rerata delta berat badan, KP memiliki selisih berat badan yang lebih tinggi daripada KN yang menunjukkan bahwa diet atherogenik dapat memodulasi berat badan. Hal ini sesuai dengan teori bahwa diet atherogenik dapat meningkatkan berat badan karena peningkatan simpanan lemak di jaringan adiposa¹⁸. Selisih berat badan akhir dengan awal tidak didapatkan hasil yang signifikan, tetapi nilainya dari tertinggi ke terendah adalah KP, KSH, KDH, KN, KSK. Hal ini diduga pengaruh asupan makan diet atherogenik yang memiliki kadar lemak tinggi akan meningkatkan kadar FFA dalam darah¹⁹. Apabila asupan energi tersebut tidak sebanding dengan pengeluarannya maka kelebihan asupan energi, seperti asam lemak akan disimpan di jaringan adiposa sehingga meningkatkan berat badan²⁰. Pada KSK sempat mengalami penurunan berat badan pada minggu ke 3, namun kembali meningkat pada minggu terakhir. Pada KDH memiliki rata-rata berat badan akhir tertinggi yakni 196,17 g. Hal ini disebabkan karena tingginya asupan makan yang dikonsumsi, terlihat dari rata-rata asupan makan per hari pada KDH lebih tinggi daripada kelompok lain.

Asupan makan pada tikus selama perlakuan mengalami peningkatan maupun penurunan tiap minggunya. Terdapat perbedaan yang signifikan asupan makan minggu ke 3 antara KP dengan KN dan kelompok perlakuan. Pada asupan makan minggu ke 1 tidak didapatkan data dikelompok KP dan KN karena terlambat dalam memulai perlakuan. Urutan rata-rata jumlah asupan perminggu dari tertinggi ke

terendah secara berurutan adalah KDH-KN-KSH-KSK-KP. Kelompok KP memiliki rata-rata asupan makanan perminggu yang lebih rendah daripada KN diduga karena perbedaan jenis pakan. Kandungan minyak babi pada diet atherogenik menimbulkan aroma yang kurang enak sehingga mempengaruhi nafsu makan²¹. Selain itu, diet atherogenik yang kaya akan lemak juga memperlambat pengosongan lambung sehingga jumlah asupan pakan cenderung menurun²². Rerata asupan makan perminggu kelompok perlakuan memiliki rerata yang lebih tinggi dibanding KP. Hasil tersebut berbeda dengan penelitian Ambareesha *et al.* (2012), yang menyatakan bahwa perlakuan stres fisik dengan berenang mampu menekan nafsu makan akibat hormon *corticosterone releasing hormone*, sehingga asupan makan menurun²³. Oleh karena itu, pengukuran hormon kortisol disarankan untuk mengetahui tingkat stresnya.

Pengaruh Diet Atherogenik Terhadap Kadar MDA dan SOD Jantung Tikus Wistar Betina

Analisa statistik kadar MDA dan SOD jantung kelompok Kontrol Positif (KP) dengan Kontrol Negatif (KN) menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan sehingga kadar MDA dan SOD jantung tikus dengan diet atherogenik dan diet normal tidak ada perbedaan. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya induksi diet atherogenik dapat menurunkan kadar SOD dan meningkatkan kadar MDA akibat akumulasi kadar LDL yang meningkat dan kandungan asam lemak tidak jenuh ganda dalam ester lipid dan kolesterol yang tinggi menyebabkan LDL mudah teroksidasi (peroksidasi lipid)²⁴. Meningkatnya radikal bebas pada hiperlipidemia akan terjadi gangguan beta oksidasi yang menyebabkan peningkatan ROS khususnya *superoksida* (O_2^-). O_2^- akan diubah menjadi H_2O_2 oleh SOD yang kemudian akan bereaksi dengan Fe^{2+} (reaksi fenton) menghasilkan radikal hidroksil²⁵. Radikal hidroksil ini berpengaruh terhadap peningkatan produk peroksidasi lipid sehingga tubuh mengalami stres oksidatif^{24,25}.

Hasil analisa statistik kadar MDA dan SOD jantung bahwa antara KN yang di beri diet standar dengan KP dan KPP yang diberi diet atherogenik tidak ada perbedaan. Begitu juga antara KP dengan KPP tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa kadar MDA dan SOD jantung pada tikus diet atherogenik selama 6 minggu maupun 10 minggu tidak ada perbedaan. Tidak signifikkannya kadar MDA dapat disebabkan karena kinerja antioksidan endogen pada tubuh masih optimal sehingga tidak merubah kadar MDA walaupun diberi diet atherogenik. Dan tidak signifikkannya kadar SOD juga dapat disebabkan oleh variasi dari jumlah SOD yang merupakan antioksidan endogen tubuh,

sehingga tiap individu dapat memiliki kadar SOD yang berbeda²⁶.

Namun perbedaan kadar MDA dan SOD jantung yang tidak signifikan antara KP dengan KN dan KP dengan KPP pada penelitian ini kemungkinan juga bisa disebabkan karena komposisi diet atherogenik. Komposisi diet atherogenik pada penelitian Anandhi *et al.* (2013) terdiri dari 5 % kolesterol, 20 % sukrosa, 20 % minyak sayur terhidrogenasi, 2% asam kolat, 20% laktosa, 0.4% asam kolat dan 0.15% *thiouracil* sedangkan Venkandeswaran *et al.* (2016) terdiri dari 2 g kolesterol, 8 g lemak jenuh (minyak kacang tanah), dan 90 g diet pelet standar^{27,28}. Pada penelitian ini, diet atherogenik terdiri dari 0.2 g kolesterol, 0.02 g asam kolat, minyak babi 1 ml, 10 g tepung terigu dan 20 g PARS⁵. Perbedaan komposisi diet dengan penelitian sebelumnya mempengaruhi efek diet atherogenik terhadap kadar MDA dan SOD jantung.

Penggunaan minyak babi pada penelitian Kusumastuty (2014) Menyatakan bahwa nafsu makan tikus akan menurun, akibat dari aroma yang dihasilkan berbau tengik pada diet atherogenik. Sehingga tikus mengalami kejenuhan selama mendapatkan diet atherogenik^{4,21}. Selain itu, diet atherogenik yang kaya akan lemak juga memperlambat pengosongan lambung sehingga jumlah asupan pakan cenderung menurun²². Hal ini akan mempengaruhi diet atherogenik terhadap kadar MDA dan SOD jantung kurang optimal. Oleh karena itu, diet atherogenik tidak signifikan mempengaruhi kadar MDA dan SOD jantung.

Pengaruh Frekuensi Stres Fisik Terhadap Kadar MDA dan SOD Jantung Tikus Wistar Betina Dengan Diet Atherogenik

Uji statistik kadar MDA dan SOD jantung kelompok KP dengan KSK menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok yang diberi diet atherogenik tanpa stres fisik dengan yang diberi perlakuan stres fisik. Hal ini tidak sesuai dengan penelitian sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya, Stres fisik secara berlebihan akan mengaktifasi *corticotropin-releasing hormone* (CRH) yang berasal dari hipotalamus dan merangsang pengeluaran *adenocorticotrophic-releasing hormone* (ACTH) dari hipofisis anterior. ACTH kemudian akan merangsang pengeluaran kortisol. Stres juga akan mengaktifasi sistem saraf simpatis melepaskan hormon norepinefrin dan epinefrin. Hormon kortisol, norepinefrin dan epinefrin akan menguraikan lipid dalam proses lipolisis¹⁰. Pada saat proses lipolisis terjadi, lemak yang ada di jaringan adiposa akan diubah menjadi asam lemak bebas. Peningkatan asam lemak bebas pada jaringan organ menyebabkan peningkatan proses oksidasi fosforilasi, sehingga elektron bebas (e^-) yang dilepaskan dan bereaksi dengan oksigen (O_2) membentuk *superoksida* (O_2^-)⁹. Dismutasi O_2^-

menjadi *hidrogen proksida* (H_2O_2) dan O_2 sebenarnya terjadi secara spontan, namun prosesnya dipercepat oleh SOD yang dihasilkan sitosol dan mitokondria di intasel sebagai pertahanan tubuh⁸. Peningkatan jumlah O_2^- akan menyebabkan jumlah SOD menjadi tidak seimbang²⁹. Selanjutnya H_2O_2 melalui reaksi fenton akan diubah menjadi *hydroxyl radical* (OH^-). OH^- akan bereaksi dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran sel³⁰.

Analisa statistik Kadar MDA dan SOD jantung pada KP dengan KDH menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, stres fisik pada KDH merupakan kategori aktivitas fisik secara rutin, karena terdapat masa istirahat yang cukup bagi tubuh. Setelah melakukan olahraga, tubuh memerlukan waktu istirahat selama 2x24 jam, untuk melakukan perbaikan pada jaringan tubuh, sehingga SOD dapat menetralkan radikal bebas dan terjadi penurunan pembentukan MDA³¹.

Analisa statistik kadar MDA pada KSK dengan KDH dan KSH menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan. Kadar SOD pada KSK dengan KDH menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini sesuai pada penelitian sebelumnya, pengaruh aktivitas fisik terhadap stres oksidatif terbagi atas respon akut dan respon kronik, respon akut pada penelitian ini terdapat pada kelompok senin kamis (KSK) sedangkan respon kronik termasuk pada kelompok dua hari (KDH) dan kelompok setiap hari (KSH). Secara akut aktivitas fisik dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas sehingga meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh. Sedangkan secara kronik, aktivitas fisik secara teratur dapat meningkatkan kapasitas antioksidan endogen, sehingga menurunkan stres oksidatif dalam tubuh³².

Pada kelompok perlakuan stres fisik yang tidak signifikan pada kadar MDA dan SOD jantung dapat disebabkan karena kinerja antioksidan endogen pada tubuh masih optimal sehingga tidak merubah kadar MDA walaupun diberi diet atherogenik dan tidak signifikannya kadar SOD juga dapat disebabkan oleh variasi dari jumlah SOD yang merupakan antioksidan endogen tubuh, sehingga tiap individu dapat memiliki kadar SOD yang berbeda²⁶. Hal ini juga bisa dipengaruhi beberapa faktor seperti induksi diet atherogenik dan perlakuan stres fisik, dimana diet atherogenik dikarenakan komposisi makanan tersebut menyebabkan penurunan nafsu makan pada tikus, sehingga kurang optimalnya asupan lemak yang dikonsumsi dan bisa saja terjadi akibat kurangnya waktu perlakuan berenang pada tikus yang hanya memiliki durasi 5 menit sehingga tikus kurang mendapatkan perlakuan stres, seperti pada penelitian sebelumnya durasi berenang tikus terdiri dari 5 menit, 10 menit, 15 menit dan 30 menit³³. Hal ini dapat mempengaruhi hasil statistik kadar SOD pada KSH menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan dengan kelompok perlakuan lainnya, dikarenakan tikus sudah terbiasa melakukan berenang yang berdurasi 5 menit.

Hubungan Kadar MDA dan SOD Jantung Tikus Wistar Betina dengan Diet Atherogenik dan diberi Perlakuan Stres Fisik

Hasil korelasi sebesar -0.378 dengan nilai signifikan 0.069 ($p > 0.05$), menunjukkan bahwa tidak terdapat adanya hubungan yang signifikan antara kadar MDA dan SOD jantung tikus. Hal ini menunjukkan tidak terdapat hubungan antara peningkatan dan penurunan kadar MDA maupun kadar SOD. Pada Kadar MDA yang tidak berhubungan tersebut bisa disebabkan karena kinerja antioksidan endogen pada tubuh memiliki variasi dari jumlah kadar SOD yang berbeda-beda, sehingga tidak merubah kadar MDA²⁶. Secara alami tubuh telah memiliki antioksidan yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas. Akan tetapi, apabila paparan radikal bebas terlalu banyak, antioksidan alami tersebut tidak mampu untuk mengatasinya, sehingga SOD bisa menurun. Namun apabila paparan radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan dengan cara mengistirahatkan tubuh untuk memperbaiki jaringan tubuh yang rusak, tubuh akan terbiasa dan terus berkembang untuk menghasilkan antioksidan yang cukup untuk menetralkan radikal bebas. Pada kadar SOD juga dapat merubah variasi dari jumlah SOD agar tidak merusak jaringan tubuh yang diakibatkan oleh radikal bebas.

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Diet atherogenik tidak mempengaruhi kadar MDA dan SOD jantung tikus betina.
2. Stres fisik dapat menurunkan kadar MDA jantung tikus betina dengan diet atherogenik pada kelompok seminggu 3 kali (KDH).
3. Stres fisik dapat meningkatkan kadar SOD jantung tikus betina dengan diet atherogenik pada kelompok seminggu 3 kali (KDH).
4. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara kadar MDA dan SOD jantung tikus betina dengan diet atherogenik.

SARAN

Bentuk penelitian lanjutan, peneliti menyarankan untuk:

1. Menambah lama induksi diet atherogenik selama lebih dari 10 minggu untuk melihat efek hiperlipidemia pada kadar MDA dan SOD jantung.
2. Menambah lama perlakuan stres fisik selama lebih dari 4 minggu untuk melihat respon stres yang pada kadar MDA dan SOD jantung.
3. Menambah waktu stres fisik lebih dari 5 menit dengan suhu air dingin agar efek stres fisik lebih bermakna.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa (IOM) karena telah membantu dalam pendanaan 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. RISKESDAS. Badan penelitian dan pengembangan kesehatan kementerian kesehatan RI. Laporan nasional riset kesehatan dasar. 2013.
4. Kusumastuty. I. Sari Buah Markisa Mencegah Peningkatan MDA Serum Tikus Dengan Diet Aterogenik, *Indonesian Journal of Human Nutrition*. 2014. 1, pp. 50–56.
5. Triliana, R., Soeatmadji, D. W. and Kalim, H. Pengaruh Terapi Suplementasi Fitosterol pada Profil Lemak Plasma, Kadar Apolipoprotein (Apo) B-48, dan Penghitungan Sel Busa Aorta Tikus Pasca diet Atherogenik. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2012. 2(2): 70–81.
6. Muwani, S., Ali, M., dan Muliarta, K. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2006. 22(1): 6–9.
7. Mirjana D, Edita S, Biljana V, Suncica KD, Velibor C. Lipids and Atherosclerosis. *Jugoslav Med Biochem*. 2006. 25(4): 325- 333.
8. Murray, Robert K., David A. B., Katheen M. B., Peter J. K., Victor W. R., & P. Anthony W. Biokimia Harper Edisi 29. Jakarta: EGC. 2014.
9. Fatmawati, N. K., Mulyohadi A., & Edi W. Efek Proteksi Kombinasi Minyak Wijen (*Sesame oil*) dengan α -tocopherol terhadap Steatosis melalui Penghambatan Stres Oksidatif pada Tikus Hiperkolesterolemia. *The Journal of Experimental Life Science*. 2012. 2(2): 56-64.
10. Sherwood, L. Fisiologi Manusia Dari Sel ke Sistem Ed. 6. Jakarta: EGC. 2011.
11. Willi, J. *et al.* Oxidative stress damages rRNA inside the ribosome and differentially affects the catalytic center. *Journal of medicine* 46(4), pp. 1945–1957. doi: 10.1093/nar/gkx1308. 2018.
12. Stults-Kolehmainen, M. A. and Sinha, R. The effects of stress on physical activity and exercise. *Journal Sports Medicine*. 2014. doi: 10.1007/s40279-013-0090-5.
13. Bayar, C. Effects of Different-Term Acute Swimming Exercises on Oxidative Stress Parameters in Rat Cerebellum Tissue. *Journal of Applied Physiology* 2016. 6(10): 600–608. doi: 10.17265/2161-6248/2016.10.
14. Leite *et al.* Glycolytic and Mitochondrial Metabolism in Pancreatic Islets from MSG-Treated Obese Rats Subjected to swimming Training. *Cell Physiol Biochem*. 2013. 31: 242-256.
15. National Institute of Health Science Compare Rat Genom with Human. National Human Genome Research Institute. www.genome.gov/11511308/204. 2004. Diakses pada 18 November 2018.
16. Triliana, R. & Airlangga, H. 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.
17. Susantiningsih, T. Obesitas dan stres oksidatif. *Jurnal Kesehatan Unila*. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. 2015. 5(9), 89-93.
18. Amelia, I.N. & Syauqy, A. Hubungan Antara Asupan Energi dan Aktivitas Fisik dengan Persen Lemak Tubuh pada Wanita Peserta Senam Aerobik. *Journal Nutrition Science*. Fakultas Kedokteran Universitas Semarang. 2013. Hal: 1–14.
19. Aini, M. Pengaruh Interval Pembatasan Waktu Makan Terhadap Kadar Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Serum Tikus Wistar Betina dengan Diet Atherogenik. Skripsi: tidak diterbitkan. 2017.
20. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Rosenblatt J & Wolfe RR. Substrate Metabolism During Different Exercise Intensities in Endurance-Trained Women. *Journal of Applied Physiology*. 2000. 88: 1707–1714.
21. Herianyah, T. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus Norvegicus* Strain Wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2013. 13(3): 114-150.
22. Syazda, M.D. Pengaruh Pemberian Jus Pare (*Momordica charantia* Linn.) dan Jus Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Peningkatan Kadar Kolesterol HDL Tikus *Sprague Dawley* Dislipidemia. Skripsi. 2014.
23. Ambareesha *et al.* Effect of Forced Swim Stress on Wistar Albino Rats in Various Behavioral Parameters. *Int J Med Res Health Sci*. 2012. 1(1): 7-12.
24. Yang RL, Shi YHS, Li W, Le GW. Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in human: relation between malondialdehyde and atherogenic index. *J Clin Biochem Nutr*. 2008. 43(3):154-8.
25. Pramudya, R. Efek Infusa Daun Pegagan (*Cantella aslatica*) dan Doa terhadap Kadar SOD dan MDA Serum Tikus *Sprague Dawley* (*Rattus Novergicus*) Model Alkoholi. Skripsi. 2016.
26. Purwanto, Shindi Y. Pengaruh Berbagai Interval Pembatasan Waktu Makan terhadap Kadar MDA dan SOD Tikus Wistar Jantan dengan Diet Atherogenik. Skripsi. 2017.

27. Anandhi *et al.* Evaluation of the Anti-atherogenic Potential of Chrysin in Wistar Rats. *Mol Cel Biochem.* 2014. 385: 103-113.
28. Venkandeswaran, K., Thomas, P.A., and Geraldine, P. An Experimental Evaluation of The Anti-atherogenic Potential of The Plant, Piper betle, and Its Active Constituent, Eugenol, in Rats Fed an Atherogenic Diet. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 80. 2016. P: 276-288.
29. Utami, Budi D., Helmin E., & Zainul F. Efek Pegagan (*Cantella aslatica*) dan Doa terhadap Peningkatan Kadar SOD dan Penurunan Kadar MDA Ginjal Tikus Sprague Dawley (*Rattus norvegicus*) Model Alkoholik. Skripsi. 2016.
30. Afianti, Rizky, Doti W., & Ariani R. D. Pengaruh Minyak Atsiri Daun Nilam Terhadap Kadar SOD Dan MDA Jaringan Hepar Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Metanil Yellow. Skripsi. 2013.
31. Radak, Zsolt *et al.* Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology & Medicine* 44. 2008. P: 153-159.
32. McBride J. & Kraemer W. J. Free radicals, exercise and antioxidants. *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2009. 13(2), 175-183.
33. 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.