

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, berikut ini akan dibahas secara sistematis hasil penelitian tentang pengaruh intervensi latihan renang intensitas ringan dan berat pada arteri tikus yang dipapar asap rokok selama delapan minggu *in vivo*.

#### 6.1 Interpretasi dan Hasil Diskusi

##### 6.1.1 Pengaruh Paparan Asap Rokok Pada Arteri

Pemberian paparan asap rokok pada penelitian ini ditujukan agar tikus pada kelompok perlakuan mengalami perubahan pada ketebalan dinding pembuluh darah sebagai awal dari proses aterosklerosis yang disebabkan karena bahan kimia dari asap rokok tembakau.

Berdasarkan hasil analisis data diketahui bahwa pemberian paparan asap rokok dapat meningkatkan ketebalan pada dinding arteri tikus. Pada kelompok yang tidak diberikan perlakuan apapun (kontrol negatif), rata-rata ketebalan dinding arteri adalah 67,56  $\mu\text{m}$ . Sedangkan pada kelompok yang hanya diberikan paparan asap rokok (kontrol positif), rata-rata ketebalan dinding arteri adalah 73,23  $\mu\text{m}$ . Meskipun tidak terdapat perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan yang tidak dipapar asap rokok, namun terdapat kecenderungan perubahan ketebalan dinding arteri antar kelompok yang diberikan paparan asap rokok dan kelompok yang tidak diberikan perlakuan sama sekali. Rata-rata dinding arteri yang diberi paparan asap rokok lebih tebal dibandingkan dengan kelompok yang tidak diberikan perlakuan sama sekali. Hal ini disebabkan

paparan senyawa kimia dari asap rokok tembakau yang salah satunya adalah nikotin, dibahas pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya bahwa nikotin terbukti dapat meningkatkan resiko kerusakan pembuluh darah dengan sejumlah mekanisme.

Teori yang diungkapkan dari studi yang dilakukan oleh Arribas SM dan tim (2006) menyatakan, tekanan nadi mengindikasikan perubahan dari level diastolik ke level sistolik. Penyesuaian (*compliance*) pada arteri bertanggung jawab pada peningkatan tekanan nadi. Arteri dengan elastisitas tinggi yang mudah melebar/dilatasi mempunyai kemampuan penyesuaian yang tinggi, sedangkan arteri yang relatif kaku atau dengan elastisitas rendah mempunyai kemampuan penyesuaian yang rendah. Salah satu sifat *remodeling* yang dimiliki arteri besar seperti arteri adalah dengan hipertrofi pada dindingnya, yang disebabkan karena perubahan pada sel-sel otot polos dan matriks ekstrasel yang ada pada dinding arteri besar tersebut. Dalam penelitian ini, dinding arteri menunjukkan tanda-tanda hipertrofi yang dapat dilihat dari adanya penebalan yang tampak pada tunika intima sampai tunika media. Matriks ekstrasel terdiri dari kolagen, elastin, dan proteoglikan. Kandungan kolagen pada arteri besar seperti arteri berkontribusi pada sifat kaku, sementara elastin berkontribusi pada elastisitas dinding arteri. Pada penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh Zainalabidin dan tim (2014), pada sel fibroblast jantung menunjukkan efek inhibisi pada sintesis kolagen oleh nikotin. Nikotin juga dilaporkan sebagai *down regulator* produksi elastin pada sel fibroblas di kulit. Meskipun demikian, perlu dilakukan studi *in vivo* lebih lanjut mengenai efek nikotin pada matriks ekstrasel arteri utama.

Telah diketahui bahwa vasorelaksasi arteri berhubungan dengan produksi nitric oxide (NO) dari sel endotel, disfungsi endotel biasanya menjadi

awal dari berbagai kejadian vaskulopati. Peningkatan produksi dan/atau gangguan penghambatan aksi ROS atau stress oksidatif, dapat mengganggu produksi lokal NO. NO telah dikenal sebagai substansi vasodilator paling penting yang dihasilkan dari endotel, yang dapat menghambat proliferasi dan migrasi otot polos. Hilangnya integritas endotel dapat mendorong terjadinya proliferasi pada tunika media arteri yang sebagian besar terdiri dari sel otot polos. Penurunan bioavailabilitas NO ini dapat berkontribusi pada remodeling vasokonstriktif.

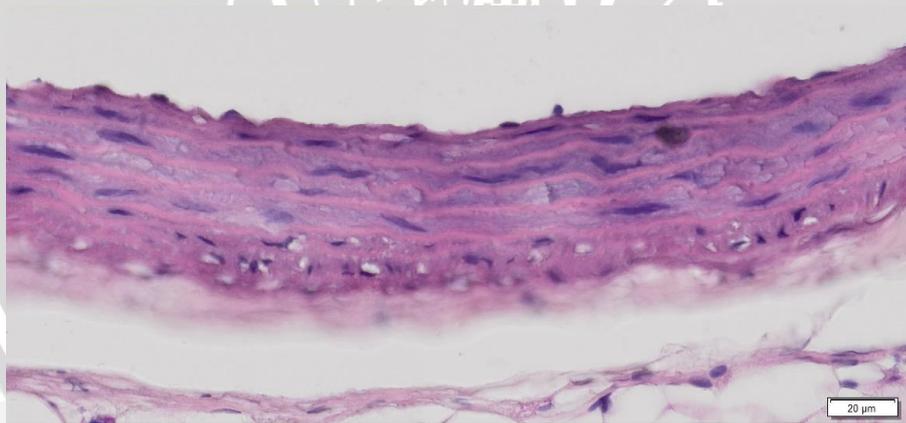
Selain teori yang melibatkan hipertrofi pada sel otot polos di pembuluh darah, terdapat teori lain yang menyebutkan apoptosis berperan dalam peningkatan ketebalan pembuluh darah. Studi penelitian oleh Cucina dan tim yang menguji kultur sel otot polos menunjukkan respon mitogenik yang potensial sebagai respon akibat nikotin pada proliferasi sel otot polos pembuluh darah dan efek inhibisi apoptosis sel otot polos dapat berkontribusi pada penebalan dinding pembuluh darah akibat nikotin. Teori ini sependapat dengan penelitian ini yang selain terdapat hipertrofi sel otot polos, juga terdapat penambahan lapisan sel pada tunika media yang menunjukkan adanya proses hiperplasia atau penambahan sel, pada lapisan otot polos di tunika media.

Hasil penelitian ini juga sependapat dengan studi yang dilakukan oleh Intengan dan kawan-kawan yang membuktikan adanya hipertrofi dan/atau hiperplasia pada pembuluh darah karena administrasi nikotin. Menurut studi tersebut, penebalan IMT dan perubahan arsitektural vaskuler umumnya berhubungan dengan peningkatan tekanan darah. Pembentukan ROS-sitotoksik yang disebabkan karena administrasi nikotin telah dibuktikan sebagai penyebab dari perubahan arsitektural vaskuler ini. Stress oksidatif dapat berkontribusi pada disfungsi endotel dengan menurunkan bioavailabilitas NO yang normalnya menurunkan resiko proliferasi sel. Teori ini menunjukkan hilangnya

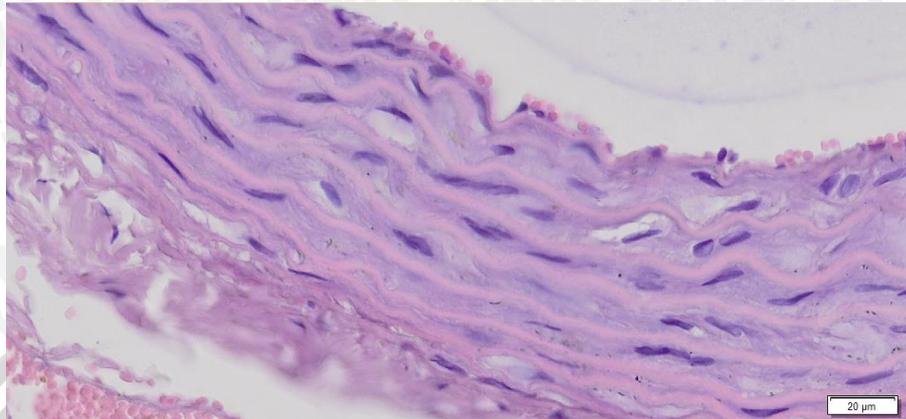
keseimbangan antara rasio tumbuh dan matinya sel, sehingga terjadi penebalan dinding yang disebabkan karena proliferasi atau hiperplasia sel otot polos pada tunika media.

Pada penelitian ini tidak dapat dilakukan pengamatan pada endotel sehingga kelompok yang hanya dipapar asap rokok yang didapati IMT paling tebal di antara kelompok perlakuan yang lain dapat mengindikasikan awalnya terdapat ketidakseimbangan regulasi NO karena disfungsi endotel yang disebabkan oleh nikotin yang meningkatkan stress oksidatif pada arteri. Sehingga, akibat penurunan bioavailabilitas NO pada endotel mengakibatkan sel otot polos hipertrofi dan/atau mengalami penghambatan apoptosis, sehingga terjadi penambahan jumlah sel.

**Gambar 6.1** Ketebalan Tunika Intima-Tunika Media Pembuluh Darah Arteri Kontrol Negatif



**Gambar 6.2** Ketebalan Tunika Intima-Tunika Media Pembuluh Darah Arteri Kontrol Positif



### 6.1.2 Pengaruh Latihan Renang Pada Arteri yang Dipapar Asap Rokok

Pada penelitian ini, dilakukan perlakuan latihan renang pada tikus yang dipapar asap rokok dengan harapan latihan renang dengan intensitas ringan maupun berat dapat menurunkan resiko penebalan dinding arteri. Perbedaan dosis berupa intensitas ringan dan berat ini memberikan perubahan ketebalan dinding arteri yang relatif lebih tipis dibandingkan dengan ketebalan dinding arteri yang hanya dipapar asap rokok tanpa diberikan intervensi apapun.

Rerata keseluruhan hasil dari kedua kelompok yang dipapar asap rokok dan diberi intervensi latihan renang intensitas ringan maupun berat sependapat dengan sebuah studi yang menggunakan tikus sebagai subjek penelitian melihat efek anti-aterosklerotik latihan renang pada migrasi sel otot polos vaskuler dan agregasi platelet (Indolfi dan tim, 2002). Pada studi tersebut, arteri karotis yang dilakukan *balloon angioplasty*, sebuah prosedur yang diketahui dapat menginduksi migrasi dan proliferasi otot polos. Jumlah sel-sel otot polos pada ruang subendotel sebagai indeks migrasi otot polos, berkurang pada tikus yang direnangkan dibandingkan dengan tikus yang tidak diberi perlakuan renang.

Tingkat aterosklerosis-nya juga menurun secara berbanding lurus. Co-administrasi inhibitor NOS menurunkan peningkatan aktivitas eNOS yang diinduksi latihan renang dan penurunan migrasi otot polos dengan latihan renang. Hal ini menunjukkan bahwa meningkatkan ketersediaan NO berhubungan dengan penurunan migrasi sel-sel otot polos vaskuler.

Olahraga dengan latihan seperti berenang, diketahui dapat menginduksi beberapa adaptasi pada sistem kardiovaskuler, salah satunya adalah peningkatan aliran darah pada otot skelet pada latihan maksimal. Peningkatan aliran darah otot, dapat dijelaskan dengan pembesaran (pembuluh darah) karena dependensi endotel, vasodilatasi yang dimediasi nitric oxide (NO). Dari beberapa studi telah menunjukkan bahwa dependensi endotel, dilasi yang dimediasi NO pada pembuluh darah tipe konduktan membesar atau mengalami vasodilatasi setelah subjek menjalani latihan olahraga. Tetapi pada penelitian ini tampaknya hanya pembuluh darah tipe resisten yang mensuplai otot yang aktif selama sesi latihan menunjukkan adaptasi ini. Penemuan pada tikus ini berbeda dengan studi pada manusia, yang mana terjadi peningkatan dilasi karena dependensi endotel tidak berhubungan dengan peningkatan aliran darah selama olahraga. Peningkatan ekspresi endothelial NO synthase (eNOS) tampak mendasari peningkatan dependensi endotel, dilasi yang dimediasi NO pada pembuluh darah konduktan dan resisten. Ekspresi eNOS yang semakin tinggi dapat mendasari efek pencegahan dan/atau rehabilitatif dari latihan olahraga pada aterosklerosis, mengingat adanya NO menghambat beberapa tahap proses aterosklerosis. Dibandingkan dengan teori dari studi yang dilakukan Intengan dan kawan-kawan, peningkatan tekanan darah yang disebabkan karena olahraga memberi efek positif karena adaptasi vasodilatasi yang menguntungkan sedangkan peningkatan tekanan darah karena radikal bebas seperti nikotin memberi

dampak negatif dengan merusak fungsi endotel yang akan mengganggu kinerja NO.

Analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan di antara kelompok perlakuan. Hal ini dapat disebabkan karena kecilnya angka penurunan ketebalan yang dihasilkan dari intervensi latihan renang intensitas ringan dan berat. Gambar 5.1 dapat menunjukkan perbedaan yang terdapat antar kelompok. vasodilatasi dan kesehatan vaskuler. Berikut dijelaskan perubahan yang terjadi pada dinding arteri yang dipapar asap rokok kemudian diberi intervensi latihan renang dengan 2 intensitas: ringan dan berat.

#### **6.1.2.1 Intervensi I: Latihan Renang Intensitas Ringan**

Pada kelompok yang diberi paparan asap rokok dan intervensi latihan renang intensitas ringan, rata-rata ketebalan dinding arteri adalah 72,19  $\mu\text{m}$ . Dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok, terdapat perbedaan sebesar 1,04  $\mu\text{m}$ . Kelompok yang diberi intervensi latihan renang intensitas ringan cenderung menipis dibandingkan dengan kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok. Namun, perbedaan yang hanya sebesar 1,04  $\mu\text{m}$  tidak memberikan hasil yang cukup signifikan meskipun didapat penurunan. Hal ini dapat disebabkan karena beban yang diberikan pada tikus belum mencapai dosis atau beban yang cukup untuk menghasilkan perubahan yang signifikan. Hasil penelitian ini dapat dikatakan tidak bisa dibandingkan dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengingat sedikitnya penelitian yang menggunakan metode renang serta pemberian beban. Selain itu, waktu penelitian selama 8 minggu untuk intervensi yang dilakukan 3 kali dalam 1 minggu mungkin mengakibatkan kecilnya angka penurunan ketebalan dinding arteri. Namun, dapat disimpulkan bahwa dengan waktu 8 minggu dan frekuensi

latihan renang yang telah dilakukan, mekanisme pertahanan NO yang diinduksi oleh latihan renang intensitas ringan telah dapat menghasilkan penurunan ketebalan sebesar  $1,04 \mu\text{m}$  bila dibandingkan dengan rata-rata ketebalan dinding arteri tikus yang hanya dipapar asap rokok. Sehingga, dapat diamati bahwa efek radikal bebas dari nikotin pada asap rokok mengakibatkan regulasi pada arteri terganggu sehingga timbul reaksi hipertrofi pada sel otot polos dan latihan renang intensitas ringan dapat mengurangi reaksi tersebut.

#### **6.1.2.2 Intervensi II: Latihan Renang Intensitas Berat**

Latihan renang dengan intensitas berat dilakukan dengan beban yang lebih besar yang dikaitkan pada ekor tikus. Beban ini sudah disesuaikan dengan berat badan masing-masing tikus agar semua tikus memiliki kapasitas beban yang sama. Beban yang lebih berat pada penelitian ini menghasilkan hasil ketebalan dinding arteri yang cenderung lebih tipis dibandingkan dengan latihan renang dengan intensitas yang lebih ringan. Maka, latihan renang intensitas berat memiliki penurunan ketebalan yang paling besar sehingga menghasilkan dinding arteri yang paling tipis di antara kelompok perlakuan. Rata-rata ketebalan dinding arteri pada kelompok dengan latihan ringan intensitas berat adalah  $71,63 \mu\text{m}$ . Dibandingkan dengan ketebalan dinding arteri pada kelompok yang hanya diberi paparan asap rokok, terdapat perbedaan sebesar  $1,6 \mu\text{m}$ . Meskipun hanya didapat perbedaan sebesar  $0,56 \mu\text{m}$  antara intensitas ringan dan intensitas berat, namun perbedaan ini menunjukkan adanya dosis atau beban yang lebih maksimal pada latihan renang intensitas berat. Terdapat indikasi bahwa mekanisme yang berjalan pada kedua intensitas adalah sama, mengingat hasilnya yang tidak terlalu signifikan karena perbedaan ukuran yang tergolong kecil angkanya. Hasil ini sependapat dengan Myers dan tim (2003) bahwa ekspresi eNOS yang semakin tinggi dapat mendasari efek pencegahan dan/atau

rehabilitatif dari latihan olahraga pada aterosklerosis, mengingat adanya NO menghambat beberapa tahap proses aterosklerosis. Termasuk dalam hal penghambatan hipertrofi dan proliferasi dari ekspresi NO yang bagus, pada dosis atau beban latihan maksimal, NO dapat memproteksi pembuluh darah dari kerusakan yang diakibatkan dari radikal bebas seperti nikotin dari asap rokok. Maka, latihan olahraga seperti berenang dapat menginduksi adaptasi yang menguntungkan pada kesehatan vaskuler karena respon vasodilatasi, dan juga proteksi dari regulasi NO pada pembuluh darah.

## 6.2 Keterbatasan Penelitian

Desain penelitian ini adalah studi eksperimental menggunakan tikus putih galur Wistar usia 4 minggu, kemungkinan hasil yang didapat bergantung pada jenis subjek. Kedua, jenis organ yang diambil yaitu arteri, merupakan organ yang cukup sulit diamati pada tikus karena ukuran dan kerentanannya yang tidak dapat diprediksi pada saat pengambilan sampel, mulai dari saat pembedahan sampai pembuatan preparat. Ketiga, bias dapat berasal dari perlakuan, terutama saat perlakuan renang karena perilaku hewan coba yang tidak dapat dipastikan sama setiap dilakukan perlakuan. Misalnya, meloncat dari media air saat dilakukan latihan renang, atau tenggelam lebih awal sehingga tikus harus segera diangkat untuk menghindari kematian. Sehingga, hasil yang muncul dapat berbeda sesuai individu masing-masing tikus. Keempat, waktu yang diambil untuk penelitian ini dirasa kurang cukup lama untuk menghasilkan perubahan yang bermakna.