

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill* terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas

Aktivitas fisik menggunakan *treadmill* mampu menurunkan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) obesitas induksi *high-fructose diet* (HFD) 60%. Tikus yang diberi diet tinggi fruktosa mengalami peningkatan jumlah trigliserida, resistensi insulin dan obesitas (Prahastuti, 2011). Menurut teori Guyton (2007) yang mengatakan bahwa kegemukan merupakan faktor predisposisi untuk timbulnya peningkatan kadar gula darah, hal ini dikarenakan beberapa hal yaitu, sel-sel beta pulau Langerhans menjadi kurang peka terhadap rangsangan atau akibat naiknya kadar gula dan kegemukan juga akan menekan jumlah reseptor insulin pada sel-sel seluruh tubuh. Dengan melihat hasil diatas bahwa obesitas mempengaruhi kadar glukosa darah. Resistensi insulin mengakibatkan penurunan insulin pada jaringan sasaran sehingga menyebabkan glukosa sulit memasuki sel. Keadaan ini menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah (Putri dkk., 2016). Penelitian ini bertujuan untuk mengukur kadar glukosa darah tikus dengan menggunakan *Blood glucose Test Meter GlucoDr™* yang dianalisa menggunakan program *SPSS16*. **Tabel 5.1** menunjukkan rata-rata kadar glukosa darah pada tikus (*Rattus norvegicus*) dan perhitungan statistika secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

**Tabel 5.1** Rata-rata Kadar Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*)

Perlakuan	Rata-rata KGD (mg/dL)	Peningkatan KGD dari kontrol negatif (%)	Penurunan KGD dari kontrol negatif (%)
Kontrol negatif (K1)	101,50±3,873 <sup>a</sup>	-	-
Kontrol positif (K2)	148,50±3,873 <sup>c</sup>	46,31	-
Aktivitas fisik 5 menit (K3)	125,25±3,775 <sup>b</sup>	23,40	15,66
Aktivitas fisik 10 menit (K4)	117,00±2,944 <sup>b</sup>	15,27	21,21
Aktivitas fisik 15 menit (K5)	103,50±4,796 <sup>a</sup>	1,97	30,30
Aktivitas fisik 20 menit (K6)	97,50±3,873 <sup>a</sup>	-	34,34

Keterangan: **notasi** berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok perlakuan

Rata-rata kadar glukosa darah pada kontrol negatif (K1) sebesar 101,50±3,873<sup>a</sup>. Kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif merupakan standar yang dipergunakan untuk mengetahui adanya penurunan atau peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi pada kelompok lain. Rata-rata kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif termasuk dalam normal karena tikus pada kelompok kontrol negatif tidak mendapatkan perlakuan apapun.

Rata-rata kadar glukosa darah pada kontrol positif (K2) sebesar 148,50±3,873<sup>c</sup>. KGD kelompok kontrol positif (K2) menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada kelompok kontrol negatif (K1). Hal ini disebabkan karena tikus kontrol positif (K2) merupakan tikus model obesitas yang di induksi HFD 60% tanpa mendapatkan terapi aktivitas fisik. Hewan coba yang diberi diet tinggi fruktosa mengalami peningkatan jumlah trigliserida, resistensi insulin dan obesitas (Prahastuti, 2011).

Pada tikus obesitas, asam lemak dan beberapa metabolit lain termasuk asil koA, seramid dan diasil gliserol (DAG) bertindak sebagai molekul

sinyaling yang mengaktifkan protein kinase seperti PKC, Jun Kinase (JNK) dan penghambat faktor nuklear  $\beta$  (NFB) kinase (IKK). Kinase-kinase ini dapat merusak sinyaling insulin dengan meningkatkan fosforilasi serin yang bersifat inhibisi dari insulin receptor substrate (IRS), suatu mediator kunci dari sinyaling reseptor insulin (Shulman, 2000).

Resistensi terhadap aksi seluler insulin pada kondisi obesitas dikarakteristikan oleh berkurangnya kemampuan insulin untuk menghambat pengeluaran glukosa dari hati dan kemampuannya untuk mendukung pengambilan glukosa pada lemak dan otot (Park, 2006), sehingga akan berpengaruh terhadap kadar glukosa darah pada penderita obesitas. Derajat obesitas sebanding dengan tingkat akumulasi lemak tubuh. Peningkatan ini akan meningkatkan kadar glukosa darah puasa (Putri dkk, 2015).

Penurunan rata-rata kadar glukosa darah pada kelompok tikus obesitas yang diterapi aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari (K3), 10 menit/hari (K4), 15 menit/hari (K5), dan 20 menit/hari (K6) menunjukkan menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol positif (K2) namun, pada kelompok (K5) dan (K6) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap kelompok kontrol negatif (K1). Hal ini menandakan bahwa Kadar Glukosa Darah (KGD) kelompok tikus obesitas yang diterapi dengan aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 15 menit/hari (K5) dan 20 menit/hari (K6) sama dengan tikus kelompok kontrol negatif (K1).

Aktivitas fisik meningkatkan metabolisme otot dan penggunaan glukosa pada jaringan yang berkontraksi sehingga tidak terjadi akumulasi glukosa yang berlebihan dalam sirkulasi sistemik. Aktivitas fisik juga dapat memperbaiki sensitivitas insulin sehingga memudahkan glukosa masuk ke dalam sel serta memenuhi kebutuhan otot skeletal saat kontraksi. Menurut Zulkarnain (2015), aktivitas fisik memicu penggunaan glukosa darah dan asam lemak bebas dalam otot sehingga kadar glukosa darah dapat menurun. Perbaikan glukosa darah karena peningkatan sensitivitas insulin berhubungan erat dengan penurunan masa lemak tubuh. Penurunan masa lemak setelah aktivitas fisik akan mengurangi jumlah molekul kolesterol dalam membran lipid bilayer sehingga mempengaruhi fluiditas membran sel dan meningkatkan respon reseptor insulin di permukaan sel.

Pada kelompok tikus obesitas yang diterapi aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari (K3) dan 10 menit/hari (K4) terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dari kelompok kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 dan 10 menit/hari kurang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Menurut *feo et al.* (2006) perbedaan hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh intensitas dan durasi aktivitas fisik yang diberikan.

Menurut Jeukendrup dan Gleeson (2004), aktivitas fisik akan meningkatkan kebutuhan energi sehingga tubuh akan melakukan proses lipolisis. Lemak merupakan sumber energi yang penting untuk kontraksi otot selama aktivitas fisik. Pergerakan otot akibat aktivitas fisik

menggunakan treadmill akan menyebabkan pemecahan lemak atau lipolisis untuk menghasilkan energi yang akan dipergunakan untuk pemenuhan kebutuhan energi. Langkah awal metabolisme energi yang berasal dari lemak, yaitu melalui proses pemecahan trigliserida. Lipolisis akan menyebabkan trigliserida dikonversi menjadi asam lemak dan gliserol. Gliserol yang terbentuk akan masuk ke dalam siklus metabolisme untuk diubah dan terbentuk 3 molekul asam lemak dan 1 molekul gliserol menjadi glukosa atau juga asam piruvat. Sementara asam lemak yang terbentuk akan dipecah menjadi unit-unit kecil melalui proses  $\beta$ -oksidasi untuk kemudian menghasilkan energi (ATP) di dalam mitokondria. Aktivitas fisik dapat menyebabkan memicu pembongkaran lemak untuk memenuhi kebutuhan energi selama kontraksi. Otot yang berkontraksi meningkatkan penyerapan glukosa darah sehingga peningkatan intensitas dan durasi aktivitas fisik menggunakan treadmill akan menurunkan kadar glukosa darah.

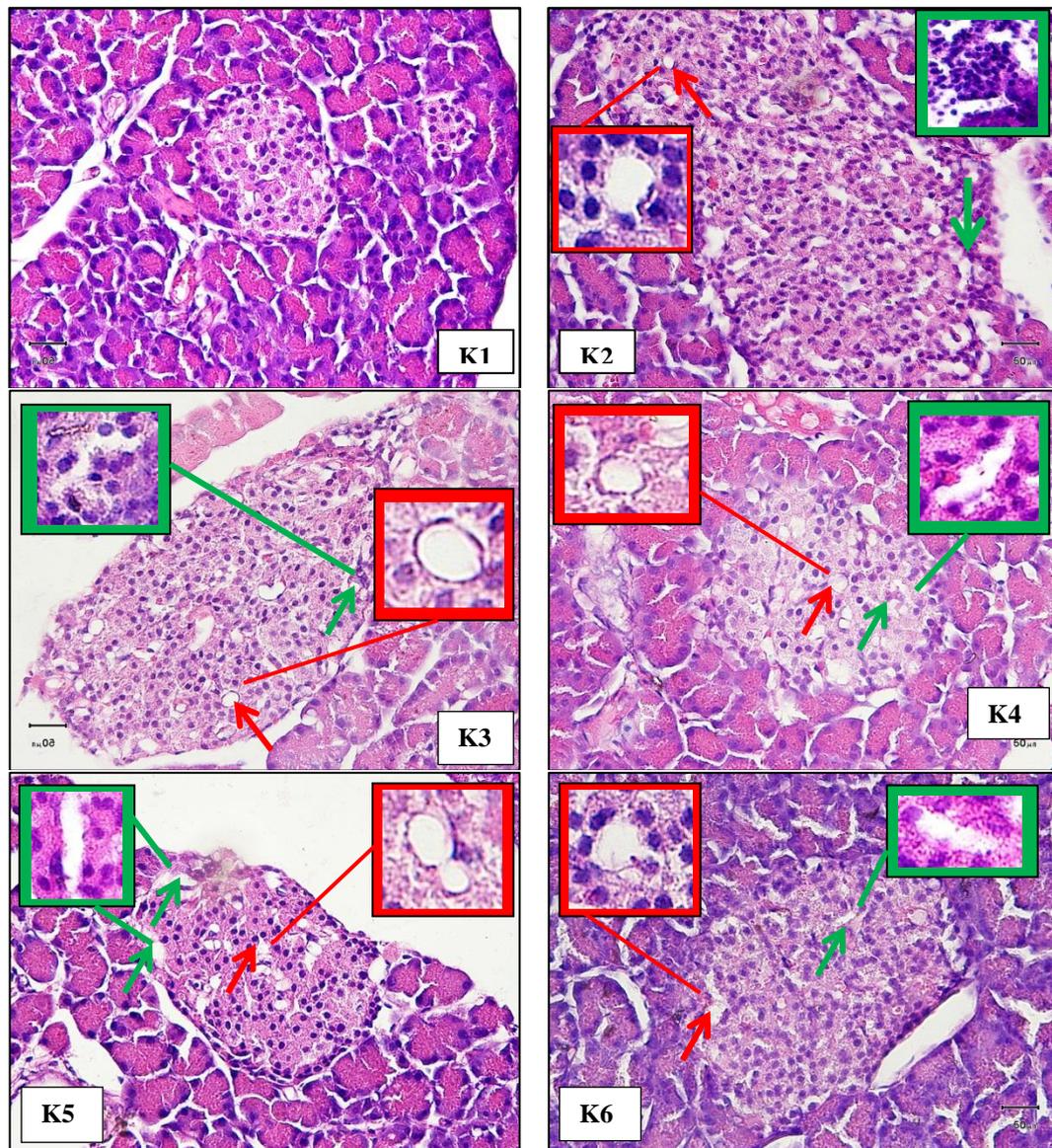
Kadar glukosa darah kelompok K3 dan K4 yaitu, tikus induksi obesitas dengan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 5 dan 10 menit/hari memiliki perbedaan nyata dengan kelompok K1 sehingga durasi tersebut bukan merupakan durasi terbaik dalam menurunkan kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah pada kelompok K5 dan K6 yaitu, tikus induksi obesitas dengan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 15 dan 20 menit/hari tidak memiliki perbedaan nyata dengan kelompok K1 sehingga kedua durasi tersebut merupakan durasi terbaik untuk menurunkan kadar

glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas induksi *High Fructose Diet 60%*.

## **5.2 Pengaruh Aktivitas Fisik menggunakan *Treadmill* terhadap Gambaran Histopatologi Pancreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Obesitas**

Pengamatan preparat histopatologi pankreas ini menggunakan mikroskop olimpus BX51 dengan menggunakan perbesaran 400x. Hasil preparat organ pankreas dibagi menjadi kontrol negatif (K1) tikus normal tanpa perlakuan, Kontrol positif (K2) tikus obesitas tanpa terapi aktivitas fisik, kelompok tikus obesitas yang diterapi aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari (K3), 10 menit/hari (K4), 15 menit/hari (K5), dan 20 menit/hari (K6). Keterangan dijelaskan pada **Gambar 5.1**.

Perubahan dari sel-sel endokrin organ pankreas diamati secara mikroskopis menggunakan preparat histopatologi yang diwarnai dengan pewarna Hematoksin Eosin (HE). Hematoksin adalah suatu zat warna yang memiliki sifat basa dan berfungsi untuk mewarnai sel yang bersifat asam seperti inti sel, sedangkan eosin adalah suatu zat warna yang memiliki sifat asam dan berfungsi untuk mewarnai sel yang bersifat asam seperti sitoplasma (Kiernan, 2008). Pankreas adalah suatu organ yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Diantara sel-sel eksokrin pankreas tersebar kelompok-kelompok atau "pulau-pulau", sel endokrin juga dikenal sebagai pulau Langerhans (Sherwood, 2001).



**Gambar 5.1** Gambaran histopatologi pankreas (*Rattus norvegicus*) potongan melintang dengan pewarnaan HE perbesaran 400x

**Keterangan:** → vakuola lemak (bulat jernih, batas tepian seperti lingkaran) ;  
 → Sinusoid (pipih jernih); **K1** kontrol negatif; **K2** kontrol positif; **K3** obesitas dengan *treadmill* selama 5 menit/hari; **K4** obesitas dengan *treadmill* selama 10 menit/hari; **K5** obesitas dengan *treadmill* selama 15 menit/hari; **K6** obesitas dengan *treadmill* selama 20 menit/hari.

**Gambar 5.1-K1** merupakan hasil pengamatan histopatologi kelompok kontrol negatif. Gambaran histologi pankreas pada tikus sehat dengan pewarnaan HE akan terlihat susunan sel-sel yang berukuran normal dan tersusun teratur. Sel-sel islet berwarna lebih terang dan sel acinar akan berwarna lebih gelap. Sel acinar berbentuk globulus dengan inti sel ditengah, sedangkan sel islet berada diantara sel-sel acinar dan dibungkus kapsul dengan inti sel ditengah sehingga membentuk bentukan pulau yang disebut Pulau Langerhans (Ikechukwu and Obri, 2009). Pulau Langerhans yang merupakan bagian endokrin pankreas yang dikelilingi serabut retikuler halus (untuk memisahkannya dari eksokrin yang berdekatan). Bentuk Pulau Langerhans bervariasi yaitu bulat, oval dan polygonal (Della, 2015).

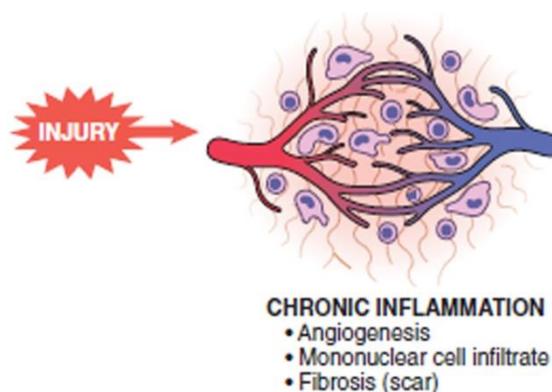
**Gambar 5.1-K2** merupakan gambaran histopatologi obesitas pada kelompok kontrol positif. Asupan fruktosa yang berlebih akan diubah menjadi lemak, dalam bentuk asam lemak bebas dan trigliserida. Trigliserida akan disimpan dalam jaringan adiposa, namun pada kondisi kelebihan nutrisi kronis, trigliserida akan dideposisi pada organ internal termasuk sel islet pankreas (Matsuda *et al.*, 2014). Pada gambaran histopatologi tampak akumulasi lemak di pankreas yang ditandai dengan munculnya vakuola jernih diantara sel dalam Pulau Langerhans. Jaringan pada pengamatan lemak secara mikroskopis harus diproses untuk dipotong tanpa pelarut organik pada saat persiapan sampel. Teknik pewarnaan khusus diperlukan untuk membedakan lemak dari cairan intrasel (Kumar *et al.*, 2013).

Jaringan adiposa tidak hanya berperan sebagai penyimpanan trigliserida, tetapi juga berperan dalam menghasilkan zat bioaktif, yaitu adipokin. Adipokin merupakan peptida bioaktif yang bekerja lokal ataupun jauh melalui efek autokrin, parakrin dan endokrin. Adipokin dalam jaringan adiposa jantung akan menginduksi produksi *reactive oxygen species* (ROS) (Sanchez *et al.*, 2012). ROS akan terbawa darah melalui pembuluh darah menuju sinusoid di pulau Langerhans. Produksi ROS yang berlebihan menyebabkan terjadinya stres oksidatif dengan terjadinya kerusakan komponen-komponen pankreas termasuk sel alpa dan sel beta pada pulau Langerhans.

Kelompok tikus kontrol positif (K2) merupakan tikus induksi obesitas dengan *High Fructose Diet* (HFD) 60% selama 8 minggu. Teramati adanya vakuola lemak pada gambaran histopatologi kelompok tikus kontrol positif (K2). Vakuola lemak adalah retensi lemak abnormal dalam sel. Proses ini disebut steatosis (juga disebut degenerasi lemak atau degenerasi adiposa). Hal ini menandakan gangguan pada sintesis dan eliminasi dari trigliserida. Kelebihan lipid dalam sel terakumulasi pada vesikula sehingga akan menggantikan sitoplasma. Steatosis dapat disebabkan karena pasokan lipid yang berlebihan dan tidak dimetabolisme dengan cepat oleh tubuh, atau terjadi kegagalan pemecahan lipid (Wilson *et al.*, 2015).

Pada kelompok ini (K2), teramati infiltrasi sel mononuklear. Menurut Kumar *et al.* (2013), infiltrasi sel mononuklear pada jaringan merupakan

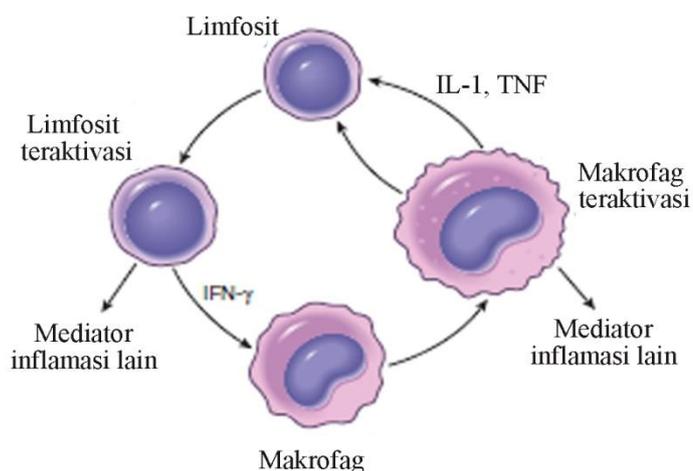
salah satu indikasi terjadinya inflamasi kronis (**Gambar 5.2**). Sel mononuklear yaitu makrofag, limfosit dan sel plasma.



**Gambar 5.2** Ciri inflamasi kronis (Kumar *et al.*, 2013).

Makrofag merupakan sel jaringan yang berasal dari monosit dalam sirkulasi setelah bermigrasi dari aliran darah. Makrofag bertindak sebagai penyaring terhadap sel yang mengalami proses kematian/*senescent* (disebut juga sistem fagosit mononuklear), dan bekerja untuk menstimulasi komponen sistem imun spesifik (limfosit T dan B) terhadap rangsang yang berbahaya. Limfosit T memiliki hubungan timbal balik dengan makrofag (**Gambar 5.3**). Limfosit T akan teraktivasi oleh interaksi dengan makrofag yang menyajikan fragmen antigen pada permukaan sel. Limfosit teraktivasi kemudian menghasilkan berbagai mediator inflamasi, termasuk IFN- $\gamma$ , suatu sitokin perangsang utama untuk mengaktivasi monosit dan makrofag. Makrofag teraktivasi selanjutnya melepaskan sitokin, yaitu IL-1 dan TNF, yang lebih jauh mengaktivasi limfosit dan jenis sel lainnya. Proses ini akan

terus berlanjut secara persisten sampai rangsang pemicu hilang (Kumar *et al.*, 2013).



**Gambar 5.3** Aktivasi makrofag dan limfosit (Kumar *et al.*, 2013).

Selain infiltrasi sel mononuklear, gambaran histopatologi kelompok K2 juga teramati adanya degenerasi sel endokrin yang intinya berubah bentuk menjadi polimorf (tidak seragam). Inti sel endokrin pada gambaran histopatologi ini juga tidak tersebar merata di pulau Langerhans. Ukuran pulau Langerhans pada kelompok K2 lebih besar apabila dibandingkan dengan kelompok K1. Hal ini dapat disebabkan karena hiperplasia sel  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\delta$  sehingga *Pulau Langerhans* mengalami hipertropi pada saat obesitas (Lindstrom, 2007; Slavin *et al.*, 2010; Harishankar *et al.*, 2011) (**Lampiran 15**).

Pada preparat ini teramati juga adanya celah-celah atau rongga baik di daerah endokrin (pulau Langerhans) maupun di daerah eksokrin (sel-sel asinar) yang menunjukkan adanya proses degenerasi (**Lampiran 15**).

Degenerasi sel atau kemunduran sel adalah kelainan sel yang terjadi akibat cedera ringan yang mengenai struktur dalam sel seperti mitokondria dan sitoplasma akan mengganggu proses metabolisme sel. Kerusakan ini sifatnya reversibel artinya bisa diperbaiki apabila penyebabnya segera dihilangkan. Apabila tidak dihilangkan, maka kerusakan menjadi ireversibel, dan sel akan mati. Penyebab degenerasi diantaranya yaitu kekurangan oksigen, kekurangan nutrisi, infeksi sel, respon imun yang abnormal, faktor fisik (suhu, radiasi, trauma, dan bahan-bahan kimia beracun), cacat/kegagalan, serta penuaan (Kumar *et al.*, 2013).

Gambaran histopatologi pada kelompok obesitas dengan aktivitas fisik selama 5, 10, 15 dan 20 menit/hari (**Gambar 5.1-K3, 5.1-K4, 5.1-K5, 5.1-K6**) menunjukkan adanya pengurangan perlemakan (steatosis). Akumulasi lemak tampak sebagai vakuola jernih dalam sel parenkim. Steatosis menunjukkan akumulasi abnormal dari trigliserida. Steatosis ini dapat disebabkan oleh obesitas dan diabetes militus (Kumar *et al.*, 2013). Pada saat aktivitas fisik terjadi peningkatan proses metabolisme, setelah aktivitas fisik ketika glukosa darah rendah maka yang akan dimetabolisme adalah simpanan lemak pada jaringan adiposa di seluruh tubuh termasuk sel islet pankreas untuk dijadikan sumber energi, hal ini menyebabkan penurunan vakuola lemak pada jaringan pankreas.

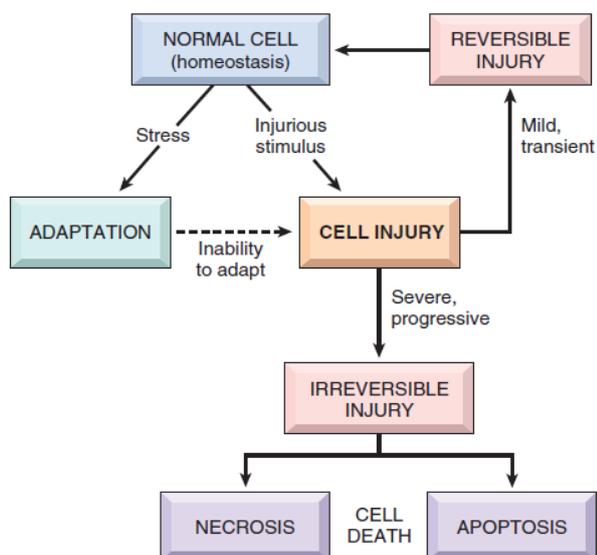
Lemak merupakan sumber energi yang penting untuk kontraksi otot selama aktivitas fisik. Pergerakan otot akibat aktivitas fisik menggunakan *treadmill* akan menyebabkan pemecahan lemak atau lipolisis untuk

menghasilkan energi yang akan dipergunakan untuk pemenuhan kebutuhan energi. Langkah awal metabolisme lemak melalui pemecahan simpanan lemak, yaitu trigliserida. Trigliserida akan dikonversi menjadi asam lemak dan gliserol melalui proses lipolisis. Gliserol akan masuk ke dalam siklus metabolisme untuk diubah menjadi glukosa atau asam piruvat, sedangkan asam lemak akan dipecah melalui proses  $\beta$ -oksidasi untuk menghasilkan energi (ATP) (Jeukendrup and Gleeson, 2004). Aktivitas fisik yang berulang menyebabkan tubuh terus menerus melakukan proses lipolisis untuk penyediaan energi sehingga lemak yang disimpan dalam vakuola lemak akan berkurang.

Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa pemberian aktivitas fisik pada beberapa organ seperti, jantung, otot, pembuluh darah serta sirkulasi sistemik dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada organ tersebut (Darmono, 2015; Pradana, 2016; Ibrahim, 2016; Mufidah, 2017). Aktivitas fisik berat menyebabkan peningkatan metabolisme dan konsumsi oksigen. Sebagian dari oksigen yang diperlukan oleh tubuh akan diubah menjadi *reactive oxygen species* (ROS), sehingga peningkatan konsumsi oksigen akan mengakibatkan produksi ROS meningkat. Peningkatan ROS dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga memicu kerusakan jaringan pada beberapa organ (Hairrudin dan Helianti, 2009). Berbeda dengan penelitian di atas, kerusakan jaringan karena aktivitas fisik tidak teramati pada organ pankreas dalam penelitian ini. Gambaran histopatologi kelompok obesitas dengan aktivitas fisik (kelompok K3-K6) pada organ pankreas tidak

menunjukkan adanya infiltrasi dari sel inflamasi maupun sel yang mengalami nekrosis. Hal ini dapat disebabkan karena aktivitas fisik yang diberikan merupakan aktivitas fisik dengan intensitas rendah/ sedang atau dalam jangka waktu yang pendek sehingga jaringan pankreas dapat melakukan adaptasi sehingga mampu memperbaiki kerusakan jaringan akibat peningkatan ROS.

Kerusakan jaringan dapat bersifat *reversible* maupun *irreversible*. Vakuola lemak merupakan kerusakan yang sifatnya reversibel artinya bisa diperbaiki apabila penyebabnya segera dihilangkan. Apabila tidak dihilangkan, maka kerusakan menjadi ireversibel. Pemberian aktivitas fisik dalam jangka pendek atau ringan merupakan kerusakan jaringan *reversible* sehingga sel dapat melakukan pemulihan dengan periode tertentu sedangkan pemberian aktivitas fisik dalam jangka panjang atau berat merupakan luka *irreversible* yang menyebabkan kematian sel baik nekrosis maupun apoptosis (**Gambar 5.4**)(Kumar *et al.*, 2013).



**Gambar 5.4** Hubungan antara sel normal, adaptasi sel dan kerusakan *reversible* maupun *irreversible* (Kumar *et al.*, 2013).

Gambaran histopatologi kelompok tikus obesitas yang diterapi aktivitas fisik menggunakan treadmill selama 5 menit/hari (K3), 10 menit/hari (K4), 15 menit/hari (K5), dan 20 menit/hari (K6) berturut-turut menunjukkan pengurangan steatosis/vakuola lemak pada sel islet pankreas apabila dibandingkan dengan kelompok K2. Pengurangan steatosis paling tinggi dapat teramati secara deskriptif pada gambaran histopatologi kelompok K6 yaitu kelompok tikus induksi obesitas dengan aktivitas fisik menggunakan *treadmill* selama 20 menit/hari sehingga durasi ini merupakan durasi yang efektif dalam memperbaiki gambaran histopatologi pankreas pada tikus (*Rattus norvegicus*) model obesitas induksi *High Fructose Diet 60%*.