

LATIHAN FISIK DAN PEMBATASAN KALORI MERUBAH TIPE SERAT OTOT RANGKA

PHYSICAL EXERCISE AND CALORIAL RESTRICTION CHANGING SKELETAL SKELETAL MUSCLE FIBER TYPE

¹⁾Adnan Faris Naufal, ²⁾Renny Hidayati Zein

¹⁾Program Studi Fisioterapi, Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A. Yani, Mendungan, Pabelan, Kartasura, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah 57162

*Email: adnanfaris94@gmail.com

(Center, Times New Roman 10)

ABSTRAK

Pendahuluan : Kami menguji pengaruh dari pemberian latihan fisik dan pembatasan kalori dalam peningkatan protein PGC-1 α pada otot rangka mencit jantan. Latihan fisik yang diberikan menggunakan running wheel yang dibuat khusus untuk mencit. Pemberian pembatasan kalori diberikan dengan cara mengurangi sebanyak 30% dari jumlah makanan yang biasa dimakan mencit setiap harinya.

Tujuan : Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengukur kadar protein PGC-1 α pada otot rangka mencit yang diberikan latihan fisik dan pembatasan kalori.

Metode : 28 mencit jantan berusia 6 minggu dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol, Latihan Fisik (LF), Pembatasan Kalori (PK) dan Latihan Fisik + Pembatasan Kalori (LF+PK). Penelitian dilakukan selama 8 minggu dan analisa protein PGC-1 α menggunakan teknik laboratorium ELISA. Analisa data menggunakan SPSS versi 21.0.

Hasil : Setelah 8 minggu mencit diberikan latihan fisik dan pembatasan kalori, hasilnya menunjukkan terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan pada rerata kadar PGC-1 α disetiap kelompok ($p > 0,05$) dengan menggunakan uji Anova.

Kesimpulan : Terdapat perbedaan peningkatan konsentrasi protein PGC 1 α pada otot rangka mencit jantan yang diberikan latihan fisik dan pembatasan kalori.

Kata Kunci : PGC-1, pembatasan kalori, latihan fisik, ELISA, Biologi Molekuler

ABSTRACT

Introduction: We investigated the effect of physical exercise and caloric restriction on the improvement of PGC-1 α protein in skeletal muscle of male mice. Physical exercises are administered using specially tailored runings for mice. Giving calorie restriction is given by reducing as much as 30% of the amount of food usually eaten mice every day.

Aim: The aim of this study was to measure the levels of PGC-1 α protein in skeletal muscles of mice given physical exercise and caloric restriction.

Method: 28 male mice aged 6 weeks divided into 4 groups of control group, Physical Exercise (LF), Caloric Restriction (PK) and Physical Exercise + Caloric Limit (LF + PK). The study was conducted for 8 weeks and PGC-1 α protein analysis using ELISA laboratory technique. Data analysis using SPSS version 21.0.

Results: After 8 weeks of mice were given physical exercise and caloric restriction, the results showed that there were significant differences in the mean of PGC-1 α levels in each group ($p > 0.05$) by using Anova test.

Conclusion: There is a difference in the increase of PGC 1 α protein concentration in skeletal muscle of mice given physical exercise and caloric restriction.

Key Word: PGC-1, Caloric Restriction, Exercise, ELISA, Biological Molecules

PENDAHULUAN

Otot adalah organ yang sangat penting bagi tubuh manusia. Fungsi utama otot rangka yaitu untuk menggerakkan persendian agar seseorang dapat melakukan aktifitas dan membentuk tubuh (Guyton & Hall, 2014). Karakteristik tipe otot skeletal dibagi menjadi dua, yaitu tipe otot 1, tipe 2a dan tipe otot 2b. Pembagian ini dapat dilihat dari fungsi dan struktur secara molekuler (Kisner & Colby, 2017).

Karakteristik tipe otot satu merupakan otot yang dapat bertahan lama saat melakukan aktifitas fisik atau yang disebut dengan endurance, hal tersebut dikarenakan tipe otot ini memiliki banyak aliran darah dan mitokondria yang merupakan organel dalam pembentukan energi. Sedangkan karakteristik tipe otot dua merupakan tipe otot yang dapat bergerak dengan cepat, walaupun memiliki aliran darah dan jumlah mitokondria yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan karakteristik tipe otot satu, jenis otot ini sangat dibutuhkan oleh atlet yang membutuhkan kecepatan (Talbot & Maves, 2016)

Latihan fisik merupakan pergerakan tubuh yang melibatkan otot dengan terencana dan berulang sehingga menyebabkan peningkatan pemakaian energi dengan tujuan menjaga atau memperbaiki kebugaran fisik (Patel *et al.*, 2017). Islam menganjurkan umatnya hidup sehat dan kuat sebagaimana hadis Rasulullah s.a.w dalam riwayat Muslim "Orang mukmin yang kuat itu lebih baik dan lebih Allah kasihi daripada mukmin yang lemah". (Baqi, 2012)

Latihan fisik aerobik dapat meningkatkan kualitas hidup secara fisik, namun jenis latihan ini juga akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang merupakan senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif terutama diproduksi di mitokondria. Dengan dihasilkannya ROS yang tinggi akan membuat organel maupun sel mengalami kematian (Halliwell & Whiteman, 2004). Namun Poljšak & Malisav (2012) mengungkapkan bahwa respon stress seluler tidak hanya merusak dan mengganggu fungsi molekuler. Stress pada sel akan memicu respon seluler yang berbeda, yaitu menginduksi mekanisme perbaikan sel, menginduksi respon sel untuk menghasilkan adaptasi metabolik yang disebut *preconditioning hypoxia*. Proses adaptasi ini akan membuat pembaharuan sel maupun organelnya terutama organel yang memiliki peran besar dalam pembentukan energi, yaitu mitokondria (Correia *et al.*, 2010).

Caloric Restriction (CR) atau pembatasan kalori, adalah diet yang mengurangi asupan kalori tanpa menyebabkan kondisi tubuh kekurangan nutrisi atau yang disebut dengan malnutrisi. Dalam beberapa penelitian pembatasan kalori terbukti memiliki dampak yang baik untuk tubuh karena dapat menghambat proses penuaan dan berbagai masalah metabolisme (Redman & Ravussin, 2011).

Pembatasan kalori dan latihan fisik telah lama diercaya dapat memberikan efek baik terhadap ketahanan tubuh. Kedua metode ini memiliki efek menguntungkan pada kesehatan manusia, termasuk dalam metabolisme energi yang ada di otot dengan memunculkan protein PGC-1 α (Cui *et al.*, 2013).

PGC-1 α merupakan regulator utama dari biogenesis mitokondria yang terlibat dalam metabolisme energi (Valero, 2014). Dengan mengatur aktifitas protein *cAMP responsive element binding* (CREB), PGC 1 α merangsang secara fisiologis regulasi biogenesis mitokondria. Selain itu protein ini juga mampu memberikan remodeling jaringan otot ke komposisi tipe serat otot yang secara metabolik lebih bersifat oksidatif (Liang & Ward, 2006).

Banyak penelitian yang menunjukkan bahwa terdapat efek baik bagi seseorang yang melakukan latihan fisik maupun pembatasan kalori. Namun sayangnya penulis masih sulit menemukan perbandingan dari efek keduanya dalam metabolisme energi yang ada di otot skeletal. Disini penulis akan mencari tau peran PGC 1 α dalam perbandingan pengaruh latihan fisik dan pembatasan kalori merubah tipe serat otot rangka

METODE

Kode Etik

Semua protokol disetujui oleh Komite Etik Universitas Sriwijaya. Semua upaya dilakukan untuk meminimalkan penderitaan pada hewan sat diberikannya perlakuan penelitian dan analisa laboratorium.

Eksperimen Pada Hewan

Penelitian ini menggunakan 24 mencit jantan *Swiss Webster (Mus musculus)* sampel berusia 6 minggu. Mencit dibeli dari laboratorium institut teknologi Bandung dan dipelihara di rumah hewan Universitas Sriwijaya. Pengaturan suhu 20-30 °C pada gelap dan terang 12:12. makan diberikan *ad libitum* pada kelompok kontrol dan latihan fisik, tetapi tidak untuk kelompok pembatasan kalori dan kelompok kombinasi. Tikus secara acak dipilih dan dibagi menjadi empat kelompok, kontrol (n = 7), Latihan (n = 7), Pembatasan Kalori (n = 7) dan Kombinasi (n = 7).

Latihan Fisik

Pengenalan alat dilakukan dengan kecepatan 5 meter / menit dengan durasi 5 menit dan ditingkatkan menjadi 7 meter / menit hingga 10 menit. Pengenalan ini dilakukan setiap hari selama seminggu sebelum latihan fisik diberikan (Palar et al, 2015). Perawatan sampel latihan fisik diberikan selama 30 menit dengan kecepatan konstan pada 10-12 m / menit. Latihan dimulai dengan pemanasan dan diakhiri dengan pendinginan selama 5 menit pada 6 m / menit, sehingga total waktu latihan adalah 40 menit per sesi. Perawatan dilakukan 5 sesi per minggu selama 8 minggu (Irfannudin, 2014).

Pembatasan Kalori

Mencit diberikan pembatasan kalori ditempatkan di kandang yang berbeda. Sebanyak 30% pengurangan makanan dari total makanan yang bisa dimakan oleh mencit setiap hari (Rodríguez-Bies et al., 2010). Penurunan jumlah makanan diberikan setiap hari selama 8 minggu (Someya et al., 2017). Jumlah rata-rata makanan yang dibutuhkan tikus dalam sehari adalah 7 gr, jadi pemberian makan dalam kelompok pembatasan kalori seberat 4 gr.

Isolasi Jaringan

Isolasi jaringan otot dilakukan segera setelah dibunuh dengan dibius dengan menggunakan chloroform. Setelah tikus mati dilakukan otopsi dengan membuka dinding perut tikus. Kemudian ambil organ otot gastrocnemius setelah terpisah dari kulit dan bulu kemudian timbang berat organ. Sampel jaringan dicuci dengan PBS 1% sampai cairan cucian bening. PBS 1% dari jaringan sampel pada 3000 rpm centrifuge, untuk 20 menit diperoleh pelet dan supernatan. Supernatan diambil untuk pemeriksaan PGC-1 α . Konsentrasi PGC-1 α diukur menggunakan PGC Mouse 1 α ELISA Kit Sunlong Biotech Co., Ltd.

Analisa Statistik

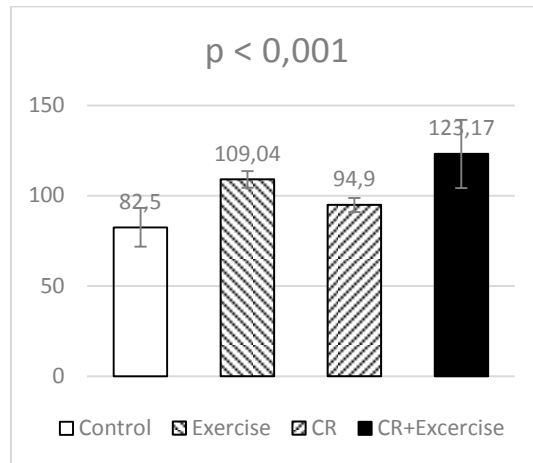
Data disajikan dalam hasil sebagai rata-rata \pm SD. Analisis multi-faktor dari analisis varians berulang (ANOVA) digunakan untuk menganalisis massa tubuh dan PGC-a level. Semua data diperlukan untuk lulus normal (Shapiro-Wilk) dan menguji varians yang sama (Brown-Forsythe F test) sebelum melanjutkan dengan ANOVA. Perbedaan antarkelompok hanya dilaporkan di mana interaksi yang signifikan diamati dan kemudian diuji dengan post hoc Bonferroni tes menggunakan perangkat lunak SPSS 21.0. Efek utama dari kelompok tersebut dilaporkan di mana interaksi yang signifikan tidak diamati. Tingkat α 0,05 digunakan untuk semua analisis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Pengukuran kadar PGC-1 α dalam jaringan otot dilakukan dengan teknik laboratorium Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Untuk memperoleh kadar PGC-1 α , kurva standar pertama kali disiapkan menggunakan tingkat PGC-1 α mulai dari 450 pg / ml, 320 pg / ml,

160 pg / ml, 80 pg / ml dan 40 pg / ml. Hasilnya menunjukkan hubungan linear antara absorpsi pada panjang gelombang 450 nm dengan berbagai tingkat standar PGC-1 α . Berdasarkan kurva standar dapat dihitung tingkat PGC-1 α . Setelah membuat kurva standar (linier), didapat rumus untuk mendapatkan nilai PGC-1 α ($y = 0,0025 + 0,1926$) dengan nilai $R^2 = 0,9633$.



Gambar 1. PGC-1 α level dalam Kelompok Kontrol dan Perawatan

Setelah 8 minggu pengobatan, rata-rata PGC-1 α terendah berada di kelompok Kontrol ($82,50 \pm 10,70$), diikuti oleh kelompok kelompok CR (pembatasan kalori) dan Exc (Latihan) dengan tingkat $94,90 \pm 3,96$ dan ($109,04 \pm 4,63$). Sedangkan tingkat tertinggi PGC-1 α diperoleh pada kelompok CR + Exc (kombinasi) dengan nilai ($123,17 \pm 18,94$)

Pada Gambar 1 menunjukkan bahwa ada peningkatan rata-rata PGC-1 α tingkat jaringan otot di semua kelompok perlakuan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol. Rata-rata tertinggi adalah kelompok yang diberikan perlakuan kombinasi, diikuti oleh kelompok latihan fisik dan kelompok pembatasan kalori.

Setelah hasil yang diperoleh dari uji ANOVA, untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan rata-rata PGC-1 α otot di masing-masing kelompok menggunakan *post hoc*. Hasil dari tes ini adalah hasil dari tes untuk mengetahui perbedaan nilai rata-rata antar kelompok untuk mengetahui kelompok mana yang saling bermakna. Hasil uji *post hoc* dijelaskan pada Tabel 1.

Group		Sig. p*
Kontrol	Latihan Fisik	0,004**
	Kombinasi	0,000**
Latihan Fisik	Pembatasan Kalori	0,225
	Kombinasi	0,225
CR	Kontrol	0,431
	Kombinasi	0,002**

Tabel 1. Grafik Perbedaan Nilai Rata-rata PGC-1 α di masing-masing Kelompok, menggunakan *Post Hoc Test*

Kelompok yang memiliki data signifikan ($p < 0,05$) adalah kelompok kontrol dengan kelompok Latihan fisik, kelompok kontrol dengan kelompok kombinasi, dan pembatasan kalori dengan kombinasi. Sedangkan kelompok yang tidak signifikan ($p > 0,05$) merupakan kelompok kontrol

dengan pembatasan kalori, grup latihan fisik dengan pembatasan kalori dan grup latihan fisik dengan kombinasi.

Pembahasan

Otot rangka adalah jaringan lunak yang melekat langsung pada tulang manusia. Jaringan ini banyak terdapat filamen actin dan myosin yang meluncur satu sama lain sehingga menghasilkan kontraksi (Edgar, 2004).

Talbot & Maves (2016) mengklasifikasikan otot menjadi dua kategori. Pertama adalah otot tipe 1, tipe otot ini memiliki gerakan yang lambat jika dibandingkan dengan jenis otot lainnya, namun lebih tahan lama dan lebih oksidatif. Hal tersebut dikarenakan jaringan ini memiliki banyak mitokondria yang merupakan organel sel penghasil energi. Berikutnya adalah otot tipe 2, dikatakan memiliki kecepatan dan daya ledang yang besar, namun sayangnya otot ini lebih cepat mengalami kelelahan.

Saat otot berkontraksi, jaringan ini membutuhkan Ca^{2+} , Mg, dan energi. Metabolisme energi dilakukan oleh latihan aerobik melalui pembakaran karbohidrat, penyimpanan lemak, dan fraksi (kurang dari lima persen) dari pemecahan protein yang ada dalam tubuh untuk menghasilkan ATP (adenosine triphosphate). Proses metabolisme sumber energi ini terjadi dengan adanya oksigen yang diperoleh melalui proses respirasi sel (Irawan, 2007).

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Summermatter et al (Summermatter et al, 2013) yang menyatakan bahwa pelatihan ketahanan rutin dapat menyebabkan adaptasi metabolik sehingga dapat meningkatkan protein PGC-1 α di beberapa organ. Dalam penelitian ini juga menyatakan bahwa protein PGC-1 α dapat menentukan metabolisme laktat, sehingga mencegah tingkat laktat tinggi pada seseorang yang melakukan ketahanan dan menjadikan laktat sebagai sumber energi yang lebih efisien ketika tubuh menderita kekurangan glukosa dan oksigen. *Hypoxia preconditioning* dari latihan fisik menghasilkan akumulasi ROS (spesies oksigen reaktif) yang dapat memicu pertahanan sel untuk menghasilkan MEF-2 (myogenic enhancer factor) dan ATF2 (mengaktifkan faktor transkripsi) yang dihasilkan oleh p38 y MAPK untuk membentuk PGC-1 α protein (Villena, 2015; Akimoto, 2008). Sementara peningkatan protein PGC-1 α dalam mekanisme pembatasan kalori terjadi karena penurunan kadar glukosa darah yang AMPK meningkat diikuti oleh peningkatan NADH dan sirtuin protein untuk merespon FOXO (Michan, 2014). Oropeza et al (2015) juga menyatakan bahwa protein PGC-1 α adalah pengatur penting yang dapat menginduksi sekresi insulin dalam sel β setelah tubuh mengalami stres karena kurangnya bahan dalam pengolahan sumber energi.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar PGC-1 tertinggi dalam kelompok latihan yang dikombinasikan dengan pembatasan kalori, hal tersebut dikarenakan kelompok latihan memainkan dua mekanisme molekuler sekaligus. Mekanismenya adalah metabolisme energi atau penggunaan glukosa selama latihan fisik dan metabolisme oksigen mekanik yang menyebabkan sel mengalami hipoksia preconditioning. Pembatasan kalori yang hanya memainkan mekanisme metabolisme energi, dianggap memiliki lebih sedikit efek buruk ketika dilakukan untuk meningkatkan kadar PGC-1 di pankreas (Runderman, 2010)

Tetapi disarankan untuk melakukan kombinasi latihan fisik dan pembatasan kalori pada saat yang bersamaan. Kombinasi latihan fisik dan pembatasan kalori menghasilkan produksi protein PGC-1 α lebih banyak daripada dua kelompok lainnya. Ini karena dua mekanisme stres oksidatif dan peningkatan NADH terjadi sekaligus di dalam tubuh. Hasilnya dapat dilihat dari jumlah protein PGC-1 α dari kelompok yang mendekati dua kali ukuran kelompok lain (Redman et al, 2007; Larson-Meyer et al, 2010).

Dari hasil penelitian ini ditemukan bahwa pemberian latihan fisik + pembatasan kalori lebih baik dalam meningkatkan kadar PGC-1 α dan lebih efektif dalam menurunkan berat badan bila dibandingkan dengan perlakuan lain, sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan efek latihan fisik dan pembatasan kalori pada kadar PGC -1 α pada tikus pankreas laki-laki.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bahwa latihan lebih efektif dalam meningkatkan kadar PGC-1 α di otot jika dibandingkan dengan pembatasan kalori. Namun, kombinasi latihan dan pembatasan kalori jauh lebih tinggi menghasilkan kadar PGC-1 α bila dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan lain serta kontrol. Tingginya kadar PGC-1 α di setiap perlakuan menunjukkan bahwa semua intervensi yang diberikan mampu merubah jenis serat tipe otot menjadi lebih oksidatif yang sehingga masuk dalam kategori otot tipe 1.

DAFTAR PUSTAKA

- Akimoto, T., Li, P. & Zhen, Y. (2008). "Functional interaction of regulatory factors with the Pgc-1 α promoter in response to exercise by in vivo imaging". *Am J Physiol Cell Physiol*. 295 (1): 288-292.
- Cui, M., Yu, H., Wang, J., Gao, J. & Li, J. (2013). "Chronic Caloric Restriction and Exercise Improve Metabolic Conditions of Dietary-Induced Obese Mice in Autophagy Correlated Manner without Involving AMPK". *Journal of Diabetes Research*. 2013: 1-8.
- Correia, S.C., Santos, R.X., Perry, G., Zhu, X., Moreira, P.I. & Smith, M.A. 2010. "Mitochondria: the missing link between preconditioning and neuroprotection". *J Alzheimers Dis*. 20(2): 75-85.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <http://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. 2011. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC Medical Publisher.
- Halliwell, B. & Whiteman, M. (2004) Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol*, 142: 231-55.
- Ruderman, N.B., Xu, X.J., Nelson, L., Cacicedo, J.M., Saha, A.K., Fan, L., Ido, Y. (2010). "AMPK and SIRT1: a long-standing partnership?". *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. 298 (40): 751-760.
- Irawan, M.A. 2007. *Metabolisme Energi Tubuh & Olahraga*. Jakarta: Sports Science Brief.
- Kisner, C dan Colby L. A. 2007. *Therapeutic Exercise: Foundations and techniques*. 5th Ed. Philadelphia: F. A. Davis Company. PP: 2
- Liang, H., Ward, W.F. (2006). "PGC-1 α : a key regulator of energy metabolism". *Adv Physiol Educ*. 30(4):145-51.
- Michan, S. (2014). "Calorie restriction and NAD⁺/sirtuin counteract the hallmarks of aging". *Front Biosci (Landmark Ed)*. 19, 1300–1319.
- Oropeza, D., Jouvett, N., Bouyakdan, K., Perron, G., Ringuette, L.J., Philipson, L.H., Kiss, R.S., Poitout, V., Alquier, T. & Estall, J.L. (2015). "PGC-1 coactivators in β -cells regulate lipid metabolism and are essential for insulin secretion coupled to fatty acids". *Mol Metab*. 14;4(11):811-22.
- Patel, H., Alkhawam, H., Madanieh, R., Shah, N., Kosmas, C. E., & Vittorio, T. J. (2017). Aerobic vs anaerobic exercise training effects on the cardiovascular. *World Journal of Cardiology*, 9(2), 134–138. <http://doi.org/10.4330/wjc.v9.i2.134>
- Poljšak, B. & Milisav, I. (2012). Clinical implications of cellular stress responses. *Bosn J Basic Med Sci*. 12(2):122-6.
- Ranhotra, H. S. (2010). Long-term caloric restriction up-regulates PPAR gamma co-activator 1 alpha (PGC-1 α) expression in mice. *Indian J Biochem Biophys*. 47(5):272-7.
- Rodríguez-Bies, E., Calvo, S.S.C., Fontán-Lozano, A., Amaro, J.P., Berral de la Rosa, F.J., Carrión, A.M., Navas, P., López-Lluch, G. (2010) "Muscle Physiology Changes Induced by Every Other Day Feeding and Endurance Exercise in Mice: Effects on Physical Performance". *Plos One*. 5(11): 1-12.

- Someya, S., Kujoth, G.C., Kim, M.J., Hacker, T.A., Vermulst, M., Weindruch, R. & Prolla, T.A.. (2017) "Effects of calorie restriction on the lifespan and healthspan of POLG mitochondrial mutator mice". *Journal pone*. 12(2): e0171159.
- Summermatter, S., Santos, G., Pérez-Schindler, J., & Handschin, C. (2013). Skeletal Muscle Pgc-1 α Controls Whole-Body Lactate Homeostasis Through Estrogen-Related Receptor A-Dependent Activation Of Ldh B And Repression Of Ldh A. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110 (21): 8738-8743.
- Talbot, J., & Maves, L. (2016). Skeletal muscle fiber type: using insights from muscle developmental biology to dissect targets for susceptibility and resistance to muscle disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Developmental Biology*, 5(4), 518–534. <http://doi.org/10.1002/wdev.230>
- Villena, J.A. (2015). "New insights into PGC-1 coactivators: redefining their role in the regulation of mitochondrial function and beyond". *The FEBS Journal*. 282(4):647–672.