

## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Karakteristik Subjek Penelitian

Penelitian-penelitian di bidang biomedik dan biomolekuler umumnya dimulai dari penelitian secara *invitro*. Jika hasil penelitian akan direkomendasikan untuk kepentingan manusia, diperlukan penelitian lanjutan secara *invivo* seperti menggunakan darah, kultur sel atau jaringan manusia. Namun demikian, untuk mengamati, mempelajari, dan menyimpulkan seluruh kejadian pada makhluk hidup secara utuh diperlukan hewan coba. Misalnya pada penelitian ini, dimana penelitian ini memerlukan kadar jaringan miokardium dan gambaran histopatologis miokardium yang tentunya berhadapan dengan kendala etis untuk dilaksanakan langsung pada manusia.

Sebelum dimanfaatkan untuk kepentingan umat manusia, perlu diteliti dengan menyertakan subjek manusia sebagai *final test tube*, tetapi relawan manusia secara etis hanya boleh diikutsertakan jika hasil penelitian tersebut telah lolos uji laboratorium *in vitro* secara tuntas, sehingga penelitian tersebut dinyatakan layak untuk dilanjutkan karena telah menggunakan hewan coba sebagai model untuk kelayakan dan keamanannya (Alexandru, 2011; Ridwan, 2013).

Species hewan yang banyak dipilih di antaranya tikus, mencit, kelinci, anjing, babi, dan kera. Namun demikian, penggunaan hewan model mempunyai keterbatasan di antaranya adalah adanya perbedaan anatomi maupun fisiologi akibat adanya variasi genetik. Keterbatasan lain dari penggunaan hewan dalam penelitian adalah kondisi yang terjadi pada manusia akan berbeda polanya jika

kondisi tersebut dibuat pada hewan model. Dengan demikian, jika hasil penelitian yang diperoleh dari hewan model diterapkan pada manusia akan sedikit berbeda sehingga memerlukan prinsip kehati-hatian dan adanya penelitian lebih lanjut (Gill, 2009).

Pada penelitian ini digunakan tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan sebagai hewan model dengan dasar pertimbangan bahwa hewan diberikan perlakuan berupa *overtraining* yaitu renang sampai lelah sehingga secara etika tidak dapat dilakukan pada subjek manusia.

Penggunaan hewan dalam penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret dengan nomor 943/UN.14.2/Litbang/2016.

Pembahasan selanjutnya dikelompokkan pada jenis latihan yang berbeda pada kelompok perlakuan penelitian kemudian dirangkai dengan hasil pengujian variabel tergantung yaitu kerusakan miokardium. Kerusakan miokardium didefinisikan sebagai perubahan patologis dari kadar biomarker MDA dan SOD serta perubahan patologis pada jaringan miokardium berupa hipertrofi, nekrosis dan kondensasi khromatin.

## 6.2 Pengaruh Olahraga Proporsional Terhadap Kerusakan Miokardium

Kerusakan miokardium dalam penelitian ini didefinisikan secara operasional terkait dengan kadar MDA, SOD Dan Gambaran Histopatologis Hipertrofi, Nekrosis Dan Kondensasi Khromatin. MDA merupakan senyawa dialdehida dengan rumus molekul  $C_3H_4O_2$ , yang dapat dihasilkan dari proses oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas, dan perubahan kadar MDA dapat digunakan sebagai biomarker kerusakan membran sel. Membran sel

terutama tersusun atas asam lemak tidak jenuh ganda. Asam lemak tidak jenuh ganda tersebut lebih rentan terhadap radikal bebas dibandingkan dengan asam lemak jenuh. Oksidasi asam lemak tidak jenuh ganda akan menghasilkan sekitar 82% MDA sehingga MDA digunakan secara luas sebagai biomarker kerusakan membran sel (Marciniak *et al.*, 2009). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa setelah perlakuan olahraga proporsional, menunjukkan kadar MDA terendah dibandingkan kelompok perlakuan *overtraining* dan *recovery* secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Hal ini kemungkinan disebabkan oleh rantai pernafasan menghasilkan radikal bebas yang mengikuti kurva hormesis. Antioksidan endogen mampu memenuhi kebutuhan mendonorkan elektronnya kepada radikal bebas. Hasil penelitian ini didukung oleh beberapa hasil penelitian *invitro* sebelumnya yang menyebutkan bahwa aktivitas fisik moderate meningkatkan kemampuan kardioprotektif pada hewan coba (Niess, 2007; Mahdiabadi, 2013). Dengan demikian hasil penelitian ini menegaskan bahwa olahraga proporsional mampu mencegah terjadinya stres oksidatif yang merugikan bagi tubuh khususnya organ jantung.

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa teori yang membuktikan bahwa pelatihan fisik proporsional meningkatkan kadar MDA namun konsentrasi MDA yang terbentuk berada dalam keseimbangan dengan kemampuan dihasilkannya antioksidan endogen. Salah satu antioksidan endogen yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD). Beberapa penelitian pada hewan coba menyebutkan kadar SOD dalam darah yang lebih tinggi pada kelompok hewan coba dengan pembebanan latihan fisik proporsional dibandingkan dengan kelompok hewan coba *sedentary* (Winarsi, 2007; Woods, 2012). Di sisi lain,

kadar MDA darah pada beberapa penelitian hewan coba dengan pola pelatihan fisik proporsional maupun *sedentary* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan (Sauza, 2005; Morgan, 2011; Ayala, 2014).

### 6.3 Pengaruh *Overtraining* Terhadap Kerusakan Miokardium

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pelatihan fisik yang berupa renang sebanyak dua kali sehari selama 45 menit, enam kali per minggu selama delapan minggu mengakibatkan terjadinya perbedaan kadar MDA secara signifikan ( $p < 0,05$ ) dimana kadar MDA tertinggi ditunjukkan oleh kelompok *overtraining* tanpa *recovery*. Hal ini dimungkinkan disebabkan karena takaran pelatihan yang tidak tepat. Pada pelatihan *overtraining*, diberikan dosis latihan dengan intensitas pelatihan berlebih sementara durasi *recovery* kurang memadai sehingga perlakuan tersebut lebih menyerupai olahraga *exhaustive* akut yang menjadi kondisi *prolonged*. Olahraga *exhaustive* akut telah dibuktikan menyebabkan efek *acute kidney injury* dan apoptosis kardiomyosit (Flora *et al.*, 2011; Lin, 2013; Lei, 2013)

Olahraga akut yaitu olahraga yang hanya dilakukan secara insidental, dengan kata lain tidak dilaksanakan secara reguler atau terjadwal secara periodik sehingga dosisnya akan melebihi kemampuan maksimal. Intensitas 70% dari kemampuan maksimal tergolong ke dalam intensitas *intermediate* sampai medium, dan sesuai konsep hormesis bahwa dosis rendah akan mempunyai efek merangsang sementara dosis berlebih akan bersifat toksik (Bompa, 2009). Namun demikian, intensitas 70% dari aktivitas maksimal tampaknya terlalu tinggi sehingga menyebabkan produksi radikal bebas lebih banyak. Hal ini terjadi karena radikal bebas dapat terbentuk sebagai bagian integral dari proses oksidasi fosforilasi dalam mitokondria (Powers, 2009). Oksidasi fosforilasi bertujuan

membentuk energi (ATP) yang akan digunakan untuk aktivitas fisik, sehingga semakin berat aktivitas fisik maka semakin banyak ATP yang dibutuhkan dan pada gilirannya akan terbentuk radikal bebas yang semakin banyak pula. Hal ini didukung oleh penelitian yang menunjukkan adanya peningkatan produksi radikal *superoxide* berkaitan dengan peningkatan aktivitas kompleks enzim I, II, III, dan IV setelah melakukan tes olahraga pada tikus yang tidak terlatih (Morgan, 2011).

Kompleks enzim tersebut (terutama kompleks I dan III) dalam rantai transport elektron merupakan tempat utama produksi radikal *superoxide*. Rantai transpor elektron mengkonsumsi lebih dari 90% dari oksigen yang diambil oleh sel dan sekitar 5% dari oksigen tersebut dikonversi menjadi radikal bebas (Marciniak *et al.*, 2009). Sebenarnya tubuh telah mempunyai kemampuan untuk menetralkan radikal bebas dengan cara membentuk antioksidan endogen seperti SOD dan *Gluthatione Peroxidase* (GPx). SOD merupakan kelompok enzim yang dapat ditemukan dalam sel (sitosol dan mitokondria) maupun dalam plasma yang berfungsi untuk mengkatalisis perubahan *anion superoxide* menjadi *hydrogen peroxide*  $2(H_2O_2)$  (Marciniak *et al.*, 2009). GPx mengkatalisis perubahan *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ) menjadi  $H_2O$  (Morgan, 2011).

Konsep hormesis bahwa dosis rendah akan mempunyai efek merangsang sementara dosis berlebih akan bersifat toksik, tampaknya dapat menjelaskan kadar SOD yang lebih rendah pada perlakuan dengan pelatihan fisik *overtraining* dibandingkan olahraga proporsional dan *overtraining* dengan *recovery*. Hal ini mengindikasikan bahwa pada *overtraining* terjadi takaran pelatihan yang tidak tepat, di mana intensitas pelatihan berlebih sehingga perlakuan tersebut lebih menyerupai olahraga beban berlebih jangka panjang yang menyebabkan gagalnya



proses adaptasi. Kondisi ini mengakibatkan pelatihan tidak dapat dijadikan sebagai mekanisme adaptasi untuk memicu ekspresi gen penyandi antioksidan melalui aktivasi Nrf2, sehingga enzim antioksidan tidak cukup untuk meredam radikal bebas yang seharusnya antioksidan endogen (SOD) akan mengkatalisis radikal bebas menjadi produk yang lebih stabil. Dengan kata lain bahwa efek stres oksidatif yang terjadi pada pelatihan *overtraining* tidak dapat diimbangi oleh produksi antioksidan endogen dan kemampuan adaptasi latihan pun tidak tercapai. Hal ini didukung oleh hasil penelitian oleh Maier pada tahun 2012, yang membuktikan bahwa walaupun pelatihan dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, tetapi tidak cukup untuk melindungi dari kerusakan oksidatif ketika melakukan olahraga maksimal karena ketidakseimbangan respon enzim SOD/CAT/GPx. Dengan demikian, dari hasil penelitian ini dapat dikatakan bahwa pelatihan berlebih dalam *overtraining exercise* meningkatkan resiko terjadinya stres oksidatif yang merugikan bagi integritas sel tubuh.

Pada *overtraining* maka konsumsi oksigen sangat meningkat. Selain itu juga, sebagai konsekuensi dari peningkatan kecepatan mitokondria menghasilkan energi, maka dihasilkan juga radikal bebas dalam jumlah sangat besar dari rantai pernafasan mitokondria. Tingginya energi yang dihasilkan, secara simultan diikuti oleh peningkatan jumlah ROS yang diproduksi. Hal ini menyebabkan peningkatan konsentrasi biomarker MDA. Pada penelitian ini, pemeriksaan dilakukan pada miokardium dan diperoleh kadar MDA yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok latihan fisik proporsional. Peningkatan terbentuknya ROS diakibatkan oleh peningkatan konsumsi oksigen pada latihan fisik berlebih mencapai 200 kali lipat dibandingkan konsumsi oksigen waktu istirahat.

Sumber lain dari ROS adalah jalur *Xanthin Oxidase*. Pelatihan fisik berlebih mengakibatkan terjadinya iskemia maupun hipoksia di area tertentu pada organ dalam tubuh yaitu otot, ginjal dan jantung. Proses aktivasi jalur *Xanthin Oxidase* ini diawali dengan konversi *Adenosine Tri Phosphat (ATP)* menjadi bentuk *Adenosine diphosphate*, *Adenosine monophosphate*, *inosin* dan akhirnya *hipoxanthine*. Pada kondisi reperfusi, terjadi pembentukan anion superoksida dan  $H_2O_2$ . *Xanthin Oxidase* telah dibuktikan memiliki peranan atas produksi ROS dan kerusakan jaringan selama atau setelah pelatihan fisik intensif. Peningkatan radikal bebas yang memicu stres oksidatif di dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan berbagai jaringan. Selain itu, stres oksidatif juga memicu penurunan kadar antioksidan endogen yaitu Superoxide Dismutase (SOD). Antioksidan SOD ini dihasilkan oleh mitokondria. Mitokondria merupakan target utama dari ROS. Kerusakan pada *Mitochondrial Permeability Transition (MPT)* dapat menyebabkan kebocoran mitokondria dan efektor apoptosis seperti sitokrom C akan keluar menuju sitoplasma dan menginduksi apoptosis. Selain itu, melalui jalur lainnya, yaitu jalur *NfKb* juga diaktivasi oleh ROS. Melalui jalur ini terjadi aktivasi transkripsi protein-protein yang terlibat dalam meningkatkan apoptosis dan menghambat *cell survival* seperti protein p53 dan activator protein-1 (AP-1) (Da Silva, 2011; Ferraresso, 2012; Morgan dan Liu, 2011; Mashayekhi, 2014).

Menilik tentang hipertrofi ventrikel kiri, maka pembahasan yang penting adakah berkaitan dengan fungsi jantung dalam hemodinamik tubuh. Fungsi hemodinamik berkaitan dengan kemampuan pemompaan darah oleh jantung ke sirkulasi pulmonal maupun sirkulasi aorta. Curah jantung adalah jumlah volume darah yang dipompa masing-masing ventrikel per menit. Faktor-faktor yang

menjadi penentu curah jantung adalah frekuensi denyut jantung per menit dan volume darah yang dipompa jantung per denyut (Stroke Volume/isi sekuncup). Isi sekuncup jantung dipengaruhi oleh *preload*, *afterload* dan kontraktilitas miokardium. *Preload* adalah derajat peregangan serabut miokardium segera sebelum kontraksi miokardium ventrikel. Peregangan serabut miokardium bergantung pada volume darah yang meregangkan ventrikel pada akhir fase diastolik. Aliran balik darah vena ke jantung menentukan volume akhir fase diastolik ventrikel. Peningkatan aliran balik vena meningkatkan volume akhir fase diastolik ventrikel, yang kemudian juga akan memperkuat peregangan serabut miokardium. Mekanisme Frank-Starling menyatakan bahwa dalam batas fisiologis, apabila semakin besar peregangan serabut miokardium pada akhir diastolik, maka semakin besar kekuatan kontraksi pada saat sistolik. Mengacu pada hukum Frank-Starling tersebut maka hipertrofi ventrikel kiri pada *overtraining exercise* dalam penelitian ini menjelaskan tentang kegagalan mekanisme peregangan serabut otot miokardium yang diduga akan berimplikasi pada kekuatan kontraksi pada saat sistolik. Hipertrofi menyebabkan ketebalan dinding ventrikel kiri bertambah yang menyebabkan peregangan dari serabut otot menurun. Rongga ventrikel menjadi sempit diakibatkan oleh penebalan dari dinding miokardium. Mekanisme tersebut menjelaskan bahwa hipertrofi pada *overtraining exercise* merupakan hal patologis yang sangat merugikan dan berbahaya dalam olahraga dengan intensitas berat dikarenakan dapat menyebabkan penurunan *stroke volume*.



Mekanisme berikutnya dijelaskan melalui faktor penentu *stroke volume* lainnya adalah afterload. *Afterload* dapat didefinisikan sebagai tegangan serabut miokardium yang harus terbentuk untuk kontraksi dan pemompaan darah.

Faktor-faktor yang mempengaruhi *afterload* dapat dijelaskan dengan persamaan Laplace yang menjelaskan bahwa jika tekanan intraventrikel meningkat, maka akan terjadi peningkatan tegangan dinding ventrikel. Persamaan ini juga menunjukkan hubungan timbal balik antara tegangan dinding dengan ketebalan dinding ventrikel, dimana dijelaskan bahwa tegangan dinding ventrikel menurun bila ketebalan dinding ventrikel meningkat. Pada hipertrofi ventrikel kiri pada *overtraining exercise*, volume *afterload*nya menurun dikarenakan ketebalan dinding miokardium yang bertambah sehingga tegangan dinding ventrikelnya menurun. Penurunan volume afterload akan menurunkan *stroke volume* dan tentunya *cardiac output* yang dibutuhkan untuk ketahanan kardiovaskuler menjadi tidak adekuat.

#### **6.4 Pengaruh *Recovery* Terhadap Kerusakan Miokardium pada *Overtraining***

*Overtraining* merupakan pembebanan latihan fisik tanpa periode pemulihan yang memadai. Gejala *overtraining* seringkali merupakan kumpulan gejala yang dikenal sebagai *overtraining syndromme* (Kreher and Schwartz, 2012). Hasil penelitian ini mendeskripsikan adanya penurunan kemampuan berenang, gangguan tidur dan penurunan nafsu makan pada hewan coba tikus yang memperoleh pelakuan *overtraining*. Kajian literatur tentang *overtraining* menjelaskan beberapa dugaan hipotesis yang salah satunya adalah hipotesis peran sitokin dalam stres oksidatif yang timbul pada *overtraining*. Penelitian ini menjelaskan tentang peran mitokondria sebagai penghasil antioksidan endogen

dalam kondisi *overtraining*. Setelah diberikan periode *recovery* selama tiga hari dan tujuh hari, kerusakan miokardium akibat *overtraining* terdeskripsikan melalui kadar MDA miokardium yang lebih tinggi dan kadar SOD yang lebih rendah jika dibandingkan dengan pembebanan latihan fisik proporsional. Gambaran histopatologis pun menunjukkan beberapa area nekrosis yang *irreversible* meskipun telah diberikan masa pemulihan pada akhir *overtraining* (Jin *et al.*, 2015; Giri *et al.*, 2017)

Kerusakan miokardium telah diteliti melalui penelitian hewan coba tikus yang diberikan pembebanan latihan fisik *exhaustive* akut. Peningkatan kadar enzim kardiak (troponin dan kreatin kinase) serta fragmentasi yang memiliki kecenderungan apoptosis dibuktikan terjadi pada latihan *exhaustive* akut (Ferraresso *et al.*, 2012; Olah *et al.*, 2015)

Penelitian ini merupakan latihan *exhaustive* pada hewan coba dengan metode latihan yang berbeda dan jangka waktu yang lebih panjang. Penelitian ini menginvestigasi kemampuan adaptasi dan pencegahan kerusakan miokardium melalui *recovery* yang diberikan. Penelitian ini menghasilkan bukti kerusakan miokardium yang *irreversible* akibat *overtraining* meskipun telah diberikan periode *recovery*. Kerusakan miokardium akibat *overtraining* telah dibuktikan melalui penelitian ini merupakan kerusakan yang *unrepairable* oleh *recovery* pasca latihan.

Penelitian ini sejalan dengan beberapa hasil penelitian relevan sebelumnya yang menampilkan kajian kerusakan miokardium berupa hipertrofi dan apoptosis sebagai akibat dari perlakuan *overtraining exercise* (Abel and Doenst, 2011; Abad *et al.*, 2017; Ying *et al.*, 2013; Lei *et al.*, 2013). Penelitian ini tidak dapat

membuktikan pengaruh positif dari *recovery* pada *overtraining* dikarenakan kerusakan pada kardiomyosit yang terjadi akibat *overtraining* merupakan kerusakan histopatologis yang *irreversible*. Penelitian relevan sebelumnya hanya menggambarkan perubahan biomarker pada *overtraining* dan gambaran apoptosis pada latihan *exhaustive* akut, sementara penelitian ini membuktikan kerusakan *irreversible* yang terjadi pada *overtraining* yaitu nekrosis dan kondensasi kromatin.

Sejauh pengetahuan peneliti, belum ditemukan kajian literatur yang memastikan patomekanisme dari kerusakan jaringan akibat dari *overtraining*. Penelitian ini menitik beratkan efek *overtraining* pada organ jantung yang pada penelitian oleh Stanejovic, tidak ditemukan perbedaan pada rerata MDA darah, kontraktilitas dan tebal miokardium pada pemeriksaan *echocardiography* hewan coba tikus (Stanojevic, 2016). Penelitian ini menggunakan metode latihan fisik *overtraining* dan media yang berbeda dari penelitian sebelumnya dan melalui studi pendahuluan telah dibuktikan dosis latihan pada hewan coba telah sampai pada dosis *overtraining*. Penelitian ini secara langsung menilai kondisi miokardium dan membuktikan adanya perubahan-perubahan patologis pada miokardium. Perubahan secara *avue* dinilai oleh pakar di bawah mikroskop berupa hipertrofi ventrikel kiri, nekrosis dan kondensasi khromatin. Hipertrofi merupakan efek latihan fisik sebagai adaptasi miokardium dalam memenuhi peningkatan *supply* darah selama olahraga. Gambaran hipertrofi ventrikel pada latihan *overtraining* dalam penelitian ini mencapai peningkatan 1,3 kali lipat dibandingkan dengan hipertrofi pada latihan proporsional. Jika pada latihan proporsional, *recovery* akan mencegah hipertrofi ventrikel yang *irreversible*,

berbeda pada latihan *overtraining* dibuktikan *recovery* tidak dapat mencegah hipertrofi ventrikel untuk kembali pada ukuran sebelumnya maupun seperti pada kondisi hipertrofi ventrikel olahraga proporsional. Kegagalan adaptasi miokardium akibat *overtraining* tentunya akan melahirkan beberapa konsekuensi hemodinamik dalam sistem kardiorespirasi.

Nekrosis miokardium pada kelompok *overtraining* yang dibuktikan melalui penelitian ini dijelaskan sebagai sebuah akhir dari proses sebelumnya. Latihan fisik akan menyebabkan kondisi iskemia pada miokardium yang kemudian kondisi *injury* sementara ini akan dikompensasi oleh mekanisme reperfusi. Pada kondisi *overtraining*, gambaran daerah pucat tersebar di beberapa fokus miokardium. Meskipun *supply* darah oleh arteri coronaria masih dalam kategori baik, namun tidak mampu memberikan kompensasi bagi daerah yang mengalami *injury* tersebut sehingga kemudian terjadi proses-proses perubahan ke arah kematian sel berupa nekrosis. Nekrosis yang terjadi pada *overtraining* tidak disebabkan oleh gangguan *supply* darah namun didasarkan pada patomekanisme stres oksidatif yang terjadi. Patomekanisme ini didukung dengan konsentrasi MDA miokardium yang tinggi sebagai biomarker rusaknya lapisan makromolekul kardiomyosit. Rendahnya kadar SOD pada *overtraining* menggambarkan kondisi gangguan sistem hormesis dalam kardiomyosit. Sehingga terjadi stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan dari kardiomyosit di beberapa fokus miokardium.

Berbeda dengan penelitian oleh Stanojevic (2016), konsentrasi yang diukur adalah konsentrasi MDA darah yang dibuktikan tidak berbeda dengan kontrol, hal ini dirasionalisasikan karena selain keterbatasan penelitian dari Stanojevic tidak mencapai tingkat latihan *overtraining*, konsentrasi MDA di

dalam darah mengekspresikan kondisi sistemik sehingga memberikan gambaran yang tidak hanya untuk menilai satu organ tertentu.

Setelah narasi pembahasan diatas, maka peneliti menarasikan hasil penelitian yang dirangkaikan dengan filsafat ilmu yaitu prinsip ontologi, epistemologi dan aksiologi sebuah penelitian.

### 6.5 Prinsip Ontologi Hasil Penelitian

Ontologi merupakan salah satu kajian kefilsafatan yang paling kuno dan berasal dari Yunani. Studi tersebut membahas keberadaan sesuatu yang bersifat konkret. Tokoh Yunani yang memiliki pandangan yang bersifat ontologis yang terkenal diantaranya Thales, Plato, dan Aristoteles. Ontologi adalah ilmu yang membahas tentang hakikat yang ada, yang merupakan *ultimate reality* yang berbentuk konkret maupun abstrak (Al-Saadi, 2014).

Penerapan pendekatan ontologis dalam penelitian kedokteran telah berkembang pesat dalam menguraikan hal konkret berupa gejala klinis sampai ke tingkat mikromolekul dari sel. Penelitian tentang biomolekuler dalam dunia kedokteran telah menghasilkan judul penelitian dalam jumlah yang mengejutkan serta telah berhasil mengungkapkan variasi dalam keanekaragaman patomekanisme penyakit sampai pada tingkat materi genetik (Domminianni *et al.*, 2014).

Sesuai dengan latar belakang permasalahan penelitian didapatkan adanya fenomena kematian mendadak pada atlet dengan sebab kematian penyakit kardiovaskuler. Fenomena tersebut menjadi sebuah indikasi adanya tatanan manajemen atlet yang belum maksimal. Salah satu hal yang kemudian menjadi bahan kajian dalam penelitian ini adalah aspek biomolekuler dalam latihan.



Latihan yang tidak seimbang dengan pemulihan (*recovery*) akan membawa atlet jatuh pada kondisi *overtraining*. Pada *overtraining* terjadi perubahan imunopatobiologis pada beberapa organ seperti ginjal, otot rangka dan jantung. Penelitian ini menghasilkan sebuah kebaruan yang merangkaikan fenomena kematian mendadak akibat jantung dengan bukti adanya kerusakan miokardium pada *overtraining* yang dapat menyebabkan resiko kematian mendadak.

Berdasarkan prinsip **Ontologi**, proses terjadinya kerusakan miokardium, dari perubahan molekuler melahirkan sebuah perubahan histologis dan fungsional. Hal tersebut berkontribusi pada patogenesis penyakit kardiovaskular klinis yang salah satunya dapat bermuara pada kematian mendadak akibat jantung. Investigasi tentang kerusakan miokardium pada *overtraining* belum dapat dituntaskan dikarenakan kompleksitas dari patomekanisme perubahan patologis akibat *overtraining*. Kajian penelitian ini melahirkan sebuah kejelasan penegakan hipotesis bahwa stres oksidatif bermuara pada munculnya proses patologis miokardium sebagai akibat latihan *overtraining*.

## 6. 6 Prinsip Epistemologi Hasil Penelitian

Ada beberapa pengertian epistemologi yang diungkapkan para ahli yang dapat dijadikan pijakan untuk memahami apa sebenarnya epistemologi itu. Epistemologi juga disebut teori pengetahuan (*theory of knowledge*) (Al-Saadi, 2014).

Secara etimologi, istilah epistemologi berasal dari kata Yunani *episteme* berarti pengetahuan, dan *logos* berarti teori. Epistemologi dapat didefinisikan sebagai cabang filsafat yang mempelajari asal mula atau sumber, struktur, metode dan sahnya (validitasnya) pengetahuan (Dominiani, 2014).

Setelah semakin maraknya penelitian biomedis, model hewan coba tikus telah menjadi subyek penelitian sebagai hewan coba pilihan bagi sebagian besar studi dalam bidang biomedis. Model tikus memungkinkan permasalahan penelitian yang akan diteliti dalam *setting* eksperimental dikontrol dalam sebuah perlakuan, dan dengan demikian membantu dalam menilai kausalitas interaksi *host* dengan variabel penelitian yang kompleks dan dalam mengembangkan hipotesis (Nguyen *et al.*, 2015).

Kemiripan dalam struktur anatomi, fisiologi dan genetika telah memungkinkan banyak kesimpulan penelitian tentang kondisi biologi tubuh manusia yang bisa ditarik dari eksperimen menggunakan tikus. Kemajuan dalam ilmu pengetahuan saat ini tentang genetika mencit dan ketersediaan berbagai model hewan coba yang dimodifikasi secara genetik sangat memudahkan penelitian biomolekuler. Selain itu beberapa pertimbangan lain memilih tikus sebagai hewan coba didasarkan pada keunggulannya berupa biaya pemeliharaan rendah (dibandingkan dengan model eksperimental hewan coba mamalia lain), tingkat reproduksi yang tinggi dan siklus hidup yang pendek (Alexandru, 2011). Atas kajian tersebut dan tujuan penelitian yang ingin mendeskripsikan kelainan histopatologis miokardium, maka penelitian ini sesuai untuk dilaksanakan pada hewan coba tikus.

Berdasarkan prinsip **epistemologi**, secara keseluruhan hasil penelitian kami nantinya tentang pengaruh *recovery* terhadap kerusakan miokardium pada *overtraining*, relevan dengan penelitian-penelitian oleh peneliti lain sebelumnya. Penelitian oleh Stanojevic tahun 2016, membuktikan bahwa *overtraining* tidak memberikan perbedaan signifikan jika dibandingkan dengan kelompok olahraga

proporsional. Hasil penelitian tersebut berbeda dengan penelitian kami dikarenakan beberapa hal yang dapat kami uraikan sebagai berikut :

1. Metode perlakuan *overtraining* yang berbeda dimana dosis latihan yang diberikan pada hewan coba belum dapat dijelaskan secara pasti apakah sudah memenuhi batasan perlakuan *overtraining*.
2. Penelitian yang dilakukan oleh Olah (2015), belum menilai gambaran objek secara histopathologis,. Metode yang digunakan adalah pemeriksaan echocardiografi yang lebih menilai tentang contour jantung secara keseluruhan. Penelitian kami lebih spesifik terhadap penilaian langsung pada kardiomiosit.

Penelitian relevan lainnya yang sejalan dengan penelitian ini adalah penelitian oleh Lee (2017), dimana hasil penelitiannya membuktikan adanya peran mitokondria dalam mempertahankan integritas dari kardiomiosit. Namun penelitian oleh Lee, lebih memiliki keunggulan pengkajian terhadap ekspresi gen yang berkaitan dengan proses *autophagy* dan *mitophagy* pada kardiomiosit. Penelitian kami menawarkan sebuah keunggulan dari segi perlakuan *overtraining*, media pelaksanaan perlakuan dan metode pemeriksaan ELISA langsung pada jaringan. Model perlakuan yang kami laksanakan dengan mempersiapkan peralatan perenangan tikus yang kami ujikan pada hewan coba dibawah pengawasan pakar kedokteran hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana. Untuk metode pemeriksaan menggunakan jaringan, kami laksanakan dibawah pengawasan pakar di bidang penelitian biomolekuler di Universitas Udayana. Pemeriksaan langsung di jaringan menjadi sangat krusial karena penelitian sebelumnya

yang memeriksa biomarker yang sama pada darah memberikan hasil yang kontradiktif dengan penelitian kami. Penelitian kami memberikan sebuah pembahasan yang tuntas mengenai sebagian *pathway* patomekanisme *overtraining exercise* dari penilaian patomekanisme secara imunologis dan histopatologis. Pembuktian peran ROS dalam kerusakan miokardium dibuktikan melalui stimulasi NfKb pathway yang memicu sitokin proinflamasi dan menimbulkan kerusakan mitokondria.

#### 6.7. Prinsip Axiologi Hasil Penelitian

Pembaharuan dalam dunia olahraga dengan prinsip *beneficence* akan diberikan berupa hasil penelitian yang nantinya dapat digunakan untuk menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler dan mencegah *sudden cardiac death* pada atlet melalui pengelolaan pola latihan yang tepat. Atlet memiliki hak otoritas nantinya untuk dapat menggunakan hasil penelitian ini guna perbaikan dalam pengelolaan latihannya (prinsip *autonomy*). Keunggulan dari hasil penelitian berupa recovery yang merupakan cara alami yang tentunya jauh dari dogma penggunaan doping dikarenakan pola latihan seimbang akan menurunkan efek ROS berlebih yang merugikan sebagai hasil aktifitas fisik berat dalam olahraga prestasi.

Berdasarkan prinsip **axiologi**, secara keseluruhan manfaat hasil penelitian ini adalah :

1. Pembuktian secara ilmiah memberikan manfaat tentang penyempurnaan pemahaman tentang patomekanisme *overtraining*.
2. Pembuktian secara ilmiah tentang latihan proporsional yang terbukti lebih baik dibandingkan olahraga *overtraining* meskipun diberikan *recovery*

pasca latihan sebagai upaya tubuh mengembalikan ke kondisi awal sebelum latihan.

3. Kemanfaatan untuk penelitian klinis berikutnya tentang biomolekuler dalam olahraga menjadi semakin marak dikarenakan penelitian ini memerlukan penyempurnaan dan penambahan bahan kajian lainnya yang belum diteliti dalam penelitian ini
4. Nilai etik penelitian dilakukan eksperimen pada hewan coba yang nantinya hasil penelitian dapat diimplementasikan pada tubuh manusia didasarkan pada epistemologi dari kelimuan yang menguraikan kemiripan anatomis tubuh manusia dengan hewan coba. Saran yang diberikan berdasarkan hasil penelitian ini meskipun dilakukan pada hewan coba dan bukan pada manusia, namun saran seyogyanya tetap dapat diberikan kepada pelatih dan atlet berdasarkan prinsip etika dalam ilmu kedokteran dan berpegang pada prinsip otonomi yang tidak memaksakan dan memberikan manfaat (*beneficence*) tanpa menimbulkan kerugian (*non maleficence*). Saran diberikan sebagai kemanfaatan praktis dari hasil penelitian berupa dosis pelatihan yang dilakuakn pada atlet perlu diperhatikan agar tidak melebihi dosis pelatihan maksimal yang akan beresiko pada terjadinya kondisi *overtraining*. Demikian merugikannya *overtraining* bagi miokardium yang merupakan jaringan *unrepairable* sehingga dosis latihan proporsional dapat meningkatkan adaptasi tentunya dan juga mencegah efek buruk dari *overtraining*. Pencegahan *overtraining* tentunya dapat menurunkan resiko kerusakan miokardium yang bermuara pada penurunan *Cardiovascular Insidence* pada atlet.



### 6.8. Nilai-nilai Kebaruan Penelitian

Secara teoritik dan metode pelaksanaannya, kebaruan penelitian ini adalah bahan penelitian berupa jaringan dan bukan darah sehingga berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Melalui penelitian ini membuktikan bahwa konsentrasi MDA di jaringan otot jantung yang diberikan latihan fisik proporsional menunjukkan kadar yang lebih rendah jika dibandingkan kelompok hewan coba dengan perlakuan *overtraining* maupun *overtraining* yang sudah diberikan *recovery*. Pada penelitian ini secara signifikan menjelaskan perbedaan kadar MDA miokardium (penanda biokimiawi radikal bebas) pada latihan fisik proporsional juga diimbangi dengan kadar SOD (antioksidan endogen dari mitokondria) miokardium yang lebih tinggi dibandingkan kelompok hewan coba lainnya. Sehingga dapat disimpulkan melalui latihan fisik proporsional maka tercapai keseimbangan pembentukan radikal bebas dan antioksidan endogen sehingga miokardium tidak mengalami kondisi stres oksidatif.

Temuan penelitian ini dapat dijelaskan melalui kajian teori dan penelitian relevan yang menyebutkan peran mitokondria dan *xanthin oxidase* dalam menghasilkan radikal bebas. Rantai pernafasan di mitokondria merupakan penghasil radikal bebas yang pada latihan fisik terjadi akibat konsumsi oksigen yang meningkat. Mitokondria sebagai organel penghasil energi, juga menjadikan 2% oksigen yang dikonsumsi menjadi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Pada latihan fisik proporsional, dihasilkannya ROS menimbulkan sebuah keuntungan berupa induksi kemampuan sistem homeostasis tubuh dalam meredam radikal bebas dengan menghasilkan antioksidan endogen untuk menangkalnya. Keseimbangan

ini mencegah terjadinya kondisi stres oksidatif. Jika terjadi stres oksidatif, maka kondisi sel mengalami distorsi dikarenakan aktivasi beberapa jalur atau *pathway*. Sinyal stres oksidatif yang diterima oleh beberapa *pathway* dapat menyebabkan sel mengalami kerusakan sampai dengan kematian sel. Disintegrasi sel ini tentunya dapat bermuara pada kerusakan jaringan bahkan jika meluas maka terjadi kerusakan anatomis organ dan akan berimplikasi pada gangguan fungsi organ.

Penelitian ini menemukan adanya kondisi miokardium pada jantung tikus dengan latihan fisik proporsional lebih baik dibandingkan miokardium tikus dengan pembebanan latihan fisik yang berlebihan (*overtraining*). Berdasarkan kerangka teori penelitian ini, menunjukkan adanya kemampuan latihan fisik proporsional memberikan manfaat bagi kesehatan. Salah satu manfaat yang timbul dari *shear stress* pembuluh darah akibat reperfusi yang meningkat dalam latihan fisik, mengaktivasi *L-arginin* untuk membentuk nitrit oksida yang dapat meningkatkan ketahanan dinding pembuluh darah sehingga resiko mengalami penyakit degeneratif maupun kegagalan fungsi ginjal dapat diturunkan.

Latihan fisik proporsional dalam penelitian ini mampu memberikan gambaran hipertrofi ventrikel kiri yang lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan *overtraining* dengan atau tanpa *recovery*. Hipertrofi Ventrikel Kiri yang dikenal sebagai *Athlete's Heart*, memberikan konsekuensi manfaat yang baik bagi kemampuan ejeksi maksimal jantung dalam memenuhi perfusi saat latihan fisik. Namun kerugian bisa timbul jika hipertrofi menjadi gangguan anatomis yang menyebabkan ruang jantung menjadi sempit sehingga miokardium menjadi kaku dan tidak bisa menghasilkan stroke volume maksimal saat ejeksi.

Nekrosis miokardium tidak terdeteksi dalam beberapa slide yang diamati oleh pakar. Hal ini menunjukkan kemampuan latihan fisik proporsional mencegah kematian sel kardiomyosit. Hal ini disebabkan oleh kemampuan pencegahan aktivasi NfKb sehingga aktivasi sitokin proinflamasi yaitu TNF $\alpha$  dicegah sehingga pelepasan enzim lisozim akan ditekan sehingga tidak terjadi nekrosis. Kondensasi khromatin merupakan tanda adanya proses yang mengarah pada apoptosis. Pada sediaan miokardium tikus dengan latihan fisik proporsional, gambaran kondensasi khromatin ditemukan dalam jumlah minimal bahkan terdapat slide yang tidak menunjukkan gambaran tersebut. Melalui penelitian ini, pencegahan terjadinya *apoptosis* disimpulkan sebagai pengaruh dari latihan fisik proporsional. Hal ini didasarkan pada kerangka teori yang diawali oleh inaktivasi NfKb yang mencegah pengaktifan kaskade kaspase sehingga terjadi pencegahan apoptosis.

Berdasarkan beberapa uraian di atas maka dapat dirangkum menjadi nilai-nilai kebaruan yang dihasilkan dari penelitian ini adalah:

### **1. Kebaruan Ilmiah.**

Penelitian ini menyempurnakan penelitian-penelitian terdahulu dalam patomekanisme kerusakan jaringan akibat *overtraining*. Penelitian ini menyempurnakan sebagian pathway yang dijelaskan melalui kerangka konsep baru yang menampilkan pengaruh stres oksidatif yang mempengaruhi beberapa jalur patomekanisme dalam *overtraining*. Sejauh pengetahuan peneliti, penelitian ini memiliki kebaruan teoritik dengan menampilkan antioksidan endogen SOD dalam mitokondria yang belum dijelaskan melalui penelitian lain sebelumnya. Kebaruan ilmiah juga ditampilkan melalui uraian hasil perubahan patologis dari

miokardium yang menunjukkan adanya perubahan *unrepairable* dalam *overtraining*. Adanya kebaruan temuan berupa kondensasi khromatin yang menandakan adanya aktivitas RNA meningkat yang dalam penelitian ini dapat disimpulkan sebagai tanda RNA memberikan konsekuensi signal protein tentang proses *unrepairable*.

## **2. Solusi baru.**

Kerangka konsep dan hasil penelitian ini merupakan solusi baru dengan memberikan kejelasan mengenai prognosis buruk dari *overtraining*. Adanya jalur –jalur signal molekuler yang dapat dijadikan landasan pencegahan terjadinya kerusakan miokardium merupakan solusi baru yang ditawarkan. Dalam penelitian ini, *recovery* pasca latihan yang diberikan belum dapat menghindari terjadinya kerusakan miokardium akibat *overtraining* bagi atlet. Sehingga ditinjau dari sisi dosis pelatihan maka menghindari terjadinya *overtraining* merupakan cara untuk menurunkan resiko penyakit kardiovaskuler pada atlet.

## **3. Strategi baru.**

Dari hasil penelitian ini akan memberikan suatu informasi, bahwa dalam pemberian dosis latihan (protokol latihan) perlu mempertimbangkan proporsi latihan dan *recovery*. Melalui penelitian ini dijelaskan bahawa dengan pola latihan proporsional mampu mencegah terjadi kerusakan miokardium sehingga direkomendasikan untuk melakukan latihan bagi atlet secara proporsional untuk menjaga ketahanan kardiorepirasi dan menurunkan resiko *cardiovascular insidence* pada atlet.

#### 4. Perspektif baru.

Hasil penelitian ini dapat digunakan, dikembangkan lebih lanjut dalam usaha mengurangi resiko *cardiovascular incidence* pada atlet. Perspektif baru dapat dimungkinkan melalui pengembangan penelitian lanjutan pada hewan coba dengan menilai kerusakan organ lainnya seperti ginjal dan otot rangka misalnya. Kemudian pemberian *recovery* dan antioksidan eksogen juga dapat dipertimbangkan untuk dikembangkan dalam mendampingi pemberian dosis latihan bagi atlet. Penelitian lanjutan pada manusia dapat dikembangkan untuk menilai dosis latihan yang proporsional untuk menilai efek adaptasi yang efektif.

#### 5. Kondisi baru.

Hasil penelitian ini menginformasikan kondisi atlet menjadi lebih baik, bila dalam masa produktifnya pengelolaan latihan dilaksanakan secara proporsional antara dosis latihan dan pemulihannya. Dengan demikian kualitas hidup atlet menjadi lebih baik. Hal tersebut diatas akan membuat kondisi baru bagi atlet berkaitan dengan mencegah terjadinya resiko penyakit kardiovaskuler pada atlet. Pemeliharaan kebugaran kardiorespirasi dengan kondisi mioardium yang prima akan menurunkan morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskuler pada atlet.

#### 6.9. Keterbatasan penelitian

Keterbatasan penelitian ini dapat diuraikan melalui beberapa hal dibawah ini, yaitu :

1. Keterbatasan pemeriksaan biomarker. Efek perlakuan hanya diukur dengan 2 (dua) biomarker. Hal tersebut dikaitkan dengan tujuan penelitian yang ingin menginvestigasi hipotesis tentang stres oksidatif pada *overtraining*. Berdasarkan



pertimbangan itu, peneliti kemudian membatasi penelitian untuk menilai biomarker terjadinya stres oksidatif (MDA) dan antioksidan endogen spesifik mitokondria (SOD).

2. Keterbatasan metode pemeriksaan biomolekuler. Adanya kondensasi khromatin yang merupakan temuan baru seharusnya dapat dilanjutkan dengan pemeriksaan secara biomolekuler tentang kemungkinan protein yang terbentuk dengan aktivitas tersebut. Peneliti berkeinginan melanjutkan penelitian ini pada penelitian berikutnya dengan tujuan menginvestigasi kondensasi khromatin tersebut.

3. Keterbatasan metode pemeriksaan. Pemeriksaan ELISA pada jaringan merupakan nilai kebaruan dalam penelitian ini dikarenakan sejauh pengetahuan peneliti, belum pernah menemukan penelitian dengan menggunakan metode pemeriksaan ELISA pada jaringan miokardium pada penelitian sebelumnya. Keterbatasan metode homogenisasi jaringan dengan manual dimana jaringan digerus di dalam mortir merupakan keterbatasan kemutakhiran sarana yang dikarenakan belum tersedianya homogenisator jaringan di laboratorium tempat pelaksanaan penelitian. Namun di bawah pengawasan pakar biomolekuler, hasil pengujian dengan penggerusan diyakini tidak menimbulkan bias pengukuran.

4. Keterbatasan perlakuan. Perlakuan yang diberikan terbatas pada *recovery* pasca berolahraga, dikarenakan peneliti meneliti tentang overtraining yang dosis pemulihannya kecil dalam latihan dan tidak proporsional dengan dosis pelatihannya. Model *recovery* lainnya akan dapat dijadikan sumber pengetahuan baru bagi penelitian berikutnya dalam penelitian biomolekuler di bidang kedokteran olahraga.

5. Keterbatasan metode penelitian. Hambatan teknis perlakuan yang tidak dimungkinkan secara etika penelitian biomedis untuk memberikan perlakuan overtraining pada manusia karena cenderung merugikan menjadikan perlakuan overtraining tidak memungkinkan dilakukan pada manusia. Penelitian ini belum dikonfirmasi pada manusia misalnya melalui pemeriksaan *echocardiography* pada manusia dikarenakan peneliti ingin melaksanakan penelitian berikutnya tentang kondisi jantung atlet melalui pemeriksaan yang lebih komprehensif.

