

## Korelasi Antara *Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$* Dengan Aktivitas Enzim *Creatine Kinase* Jaringan Otot Jantung Tikus Pada Aktivitas Fisik Aerobik dan Anaerobik

### Correlation of Hypoxia Inducible Factor-1 $\alpha$ and Creatine Kinase Enzyme Activity in Rat Myocardium in Aerobic and Anaerobic Exercise

---

Rostika Flora

---

Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya.

Alamat Korespondensi: [rostikaflora@gmail.com](mailto:rostikaflora@gmail.com)

#### Abstrak

Aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat dapat mengakibatkan terjadinya hipoksia dan perubahan histopatologi pada otot jantung. Kondisi hipoksia berkorelasi terhadap perubahan histopatologi pada otot jantung. Untuk mengetahui apakah kondisi hipoksia ini juga berkorelasi dengan indikator kerusakan jaringan otot jantung, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui korelasi antara hipoksia yang terjadi pada otot jantung akibat pembebanan aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat dengan aktivitas enzim CK jaringan otot jantung. Jaringan otot jantung berasal dari tikus yang diberi aktivitas fisik aerobik dan anaerobik menggunakan *treadmill* selama 1,3,7 dan 10 hari tanpa hari istirahat. Kemudian dilakukan pengukuran kadar HIF-1 $\alpha$  sebagai parameter hipoksia dan aktivitas enzim CK sebagai parameter terjadinya kerusakan sel otot jantung. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, terdapat korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK jaringan pada kelompok anaerobik ( $r=0,91$ ,  $p<0,05$ ), sedangkan pada kelompok aerobik terdapat korelasi yang sedang ( $r=0,48$ ,  $p<0,05$ ). Kondisi hipoksia pada otot jantung yang terjadi akibat aktivitas fisik aerobik dan anaerobik yang dilakukan selama 10 hari tanpa hari istirahat berkorelasi sangat kuat dengan indikator kerusakan jaringan pada kelompok anaerobik dan berkorelasi sedang pada kelompok aerobik.

**Kata kunci:** aktivitas fisik anaerobik, aktivitas fisik aerobik, HIF-1 $\alpha$ , creatine kinase

#### Abstract

Aerobic and anaerobic physical activities performed for 10 days without any rest-day can lead to hypoxia and histopathological changes in the heart muscle. Hypoxic conditions correlated to histopathological changes in the heart muscle. To determine whether these hypoxic conditions also correlated with indicators of tissue damage to the heart muscle, further research needs to be done. This study aims to determine the correlation between hypoxia that occurs in the heart muscle due to the imposition of aerobic and anaerobic physical activity without a day of rest with CK enzyme activity of cardiac muscle tissue. Heart muscle tissue derived from rats fed aerobic and anaerobic physical activity using a treadmill for 1,3,7 and 10 days without a day of rest. Then measuring the levels of HIF-1 $\alpha$  as a parameter hypoxia and CK enzyme activity as a parameter cardiac muscle cell damage. The results showed that there was a very strong correlation between the concentration of HIF-1 $\alpha$  with tissue CK activity in anaerobic group ( $r = 0.91$ ,  $p < 0.05$ ), whereas the aerobic group correlation being ( $r = 0,48$ ,  $p < 0.05$ ). The condition of hypoxia on the heart muscle caused by aerobic and anaerobic physical activity carried out for 10 days without a day of rest strongly correlate with indicators of tissue damage in groups of anaerobic and aerobic groups were correlated.

**Keywords:** anaerobic activity, aerobic activity, HIF-1 $\alpha$ , creatine kinase

## Pendahuluan

Aktivitas fisik baik aerobik maupun anaerobik mengakibatkan terjadinya ketidakseimbangan antara tingginya kebutuhan oksigen dengan suplai oksigen. Ketidakseimbangan ini menyebabkan terjadinya hipoksia pada jaringan.<sup>1</sup> Kondisi hipoksia mengakibatkan terjadinya akumulasi HIF-1 $\alpha$  dalam sitoplasma terjadi dengan cepat. Setelah mengalami fosforilasi, HIF-1 $\alpha$  translokasi ke inti sel untuk dimerisasi dengan pasangannya HIF-1 $\beta$ , membentuk faktor transkripsi HIF-1. Melalui aktivasi HIF-1, ekspresi sejumlah gen yang menyandi enzim, faktor pertumbuhan dan transporter seperti enzim glikolitik, *vascular endothelial growth factor* (VEGF), glukosa transporter dan eritropoetin ditingkatkan untuk mengurangi ketergantungan sel terhadap oksigen dan sekaligus meningkatkan pasokan oksigen ke jaringan.<sup>2,3</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Flora *et al*<sup>4</sup> menunjukkan bahwa, terjadi peningkatan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  jaringan otot jantung tikus yang diberi beban aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat. Selain itu pula penelitian Flora *et al*<sup>5</sup> juga menyebutkan bahwa aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat mengakibatkan terjadinya perubahan histopatologi pada otot jantung. Untuk menegakkan diagnosa apakah aktivitas fisik aerobik dan anaerobik yang dilakukan setiap hari dapat mengakibatkan kerusakan otot jantung perlu dilakukan pemeriksaan indikator kerusakan jaringan. Salah satu indikator yang dapat digunakan sebagai tanda terjadinya kerusakan jaringan adalah *creatine kinase* (CK), hal ini dikarenakan CK merupakan enzim pertama kali yang dikeluarkan saat di dalam tubuh terjadi kerusakan jaringan.<sup>7</sup> Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui korelasi antara hipoksia yang terjadi pada otot jantung akibat beban aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat dengan aktivitas enzim CK jaringan otot jantung. Penggunaan hewan coba berupa tikus diperlukan agar mekanisme yang mendasari terjadinya kerusakan otot jantung yang diberi beban aktivitas fisik aerobik dan anaerobik tanpa hari istirahat dapat diketahui dengan jelas.

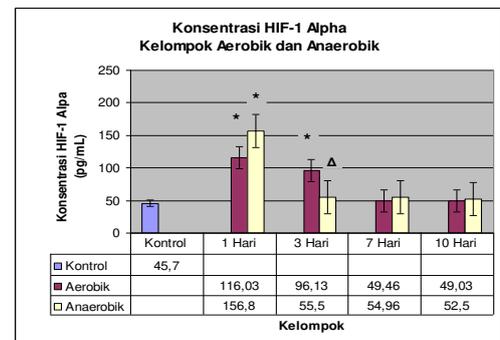
## Metode

Penelitian ini merupakan eksperimen *in vivo*, menggunakan hewan percobaan tikus jantan. Pada penelitian ini tikus dibagi dalam 9 kelompok. Kelompok 1 adalah kelompok tanpa perlakuan atau kontrol, selanjutnya disebut sebagai kelompok P1. Delapan kelompok lainnya, adalah kelompok perlakuan yang diberi aktivitas fisik aerobik dan anaerobik, disebut sebagai kelompok P2-P9

Aerobik dan P2-P9 Anaerobik. Aktivitas fisik aerobik dan anaerobik dilakukan menggunakan *treadmill* selama 1,3,7 dan 10 hari tanpa hari istirahat. Setelah selesai perlakuan dilakukan anestesi dengan menggunakan *eter*, dalam kondisi tikus tidak sadar dilakukan pengambilan organ jantung. Otot jantung diambil untuk pengukuran konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dan kadar CK jaringan. Pengukuran konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dalam jaringan otot jantung dengan metode ELISA *sandwich* menggunakan kit *Surveyor™ IC Human/Mouse Total HIF-1 $\alpha$  Immunoassay* (kat. SUV 1935, R&D Systems). Kadar CK diukur dengan menggunakan kit *CK NAC-activated* (CK-NAC, kat. CK 110, Randox). Data diolah dengan menggunakan *software* SPSS 17.0. Untuk mengetahui adanya korelasi dilakukan uji Spearman dengan tingkat signifikansi ( $p$ ) <0,05.

## Hasil

### 1. Rerata konsentrasi HIF-1 $\alpha$



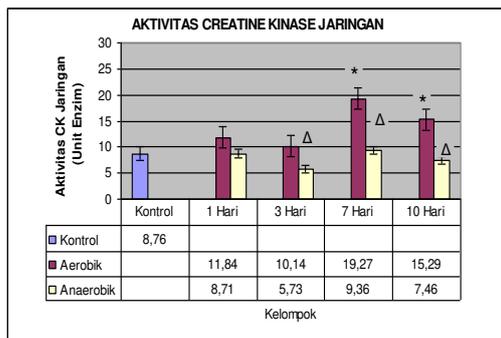
\* = perbedaan bermakna dibanding kontrol ( $p < 0,05$ )

Δ = perbedaan bermakna dibanding aerobik ( $p < 0,05$ )

**Grafik 1. Rerata konsentrasi HIF-1 $\alpha$  jaringan otot jantung tikus wistar (Flora *et al*, 2012)**

Hasil pengukuran rerata konsentrasi HIF-1 $\alpha$  didapatkan bahwa, terjadi peningkatan konsentrasi HIF-1  $\alpha$  pada kelompok aerobik dan anaerobik dibandingkan dengan kelompok kontrol mulai hari pertama sampai dengan hari ke-10 perlakuan (Grafik 1). Peningkatan konsentrasi HIF-1  $\alpha$  tertinggi terjadi pada kelompok 1 hari aerobik dan anaerobik, setelah itu terjadi penurunan hingga hari ke-10. Rerata konsentrasi HIF-1 $\alpha$  tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 1 hari. Pada kelompok perlakuan berikutnya terjadi penurunan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  baik pada kelompok aerobik maupun anaerobik. Pada kelompok perlakuan 10 hari konsentrasi HIF-1 $\alpha$  tampak tidak begitu berbeda dibandingkan dengan kelompok kontrol (Flora *et al*, 2012).

## 2. Aktivitas CK Jaringan Otot Jantung



\* = perbedaan bermakna dibanding kontrol ( $p < 0,05$ )

$\Delta$  = perbedaan bermakna dibanding aerobik ( $p < 0,05$ )

**Grafik 2. Rerata Aktivitas CK Jaringan Otot Jantung Tikus Wistar**

Pengukuran aktivitas enzim creatin kinase (CK) jaringan otot jantung dilakukan pada suhu 25-30°C dan absorbansinya dibaca pada menit pertama, kedua dan ketiga dengan menggunakan spektrofotometer. Hasil pengukuran aktivitas CK dinyatakan dalam unit enzim dan ditampilkan pada Grafik 2. Grafik 2 menunjukkan terjadinya peningkatan aktivitas CK pada kelompok aerobik dibandingkan dengan kelompok kontrol, sedangkan pada kelompok anaerobik, peningkatan aktivitas CK hanya terjadi pada hari ke-7. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa, terdapat perbedaan aktivitas CK yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok aerobik hari ke-7 dan ke-10 dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok anaerobik.

## 3. Korelasi Konsentrasi HIF-1 $\alpha$ dengan Aktivitas CK Jaringan

Untuk mengetahui apakah terdapat korelasi antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK jaringan pada kelompok aerobik dan anaerobik dilakukan uji korelasi. Hasil uji korelasi disajikan dalam Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK jaringan pada kelompok anaerobik, sedangkan pada kelompok aerobik terdapat korelasi yang sedang.

**Tabel 1. Korelasi Konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan Aktivitas CK Jaringan Otot Jantung Tikus Wistar**

Kelompok	Hasil Uji Korelasi (r)	Nilai p ( $p < 0,05$ )	Tingkat Korelasi
Aerobik	0,48	0,05	Sedang
Anaerobik	0,91	0,00	Sangat kuat

### Pembahasan

Hasil pengukuran konsentrasi HIF-1 $\alpha$  pada otot jantung (Grafik 1), menunjukkan bahwa terjadi peningkatan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  yang bermakna ( $p < 0,05$ ) pada kelompok aktivitas fisik aerobik dan anaerobik dibandingkan dengan kelompok kontrol ( $45.7 \pm 4.72$  vs  $116.03 \pm 5.66$  vs  $156.8 \pm 33.1$ ) pada

hari pertama perlakuan (Flora *et al*, 2012). Peningkatan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  terjadi karena tingginya kebutuhan oksigen selama aktivitas fisik untuk memenuhi kebutuhan energi, sehingga terjadinya hipoksia pada jaringan otot. Penyediaan oksigen tidak terlepas dari peran otot jantung. Selama hidup jantung selalu berkontraksi. Untuk mempertahankan fungsinya dalam menghadapi berbagai beban, maka perlu tersedia oksigen dan substrat terus menerus. Peningkatan kebutuhan oksigen selama aktivitas fisik, akan berakibat pula pada peningkatan hantaran oksigen di jantung.<sup>5,10</sup>

Selain itu hasil pengukuran konsentrasi HIF-1 $\alpha$  menunjukkan bahwa terjadi peningkatan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  pada hari pertama yang lebih tinggi pada kelompok anaerobik dibandingkan kelompok aerobik ( $156.8 \pm 33.1$  vs  $116.03 \pm 5.66$ ) Peningkatan konsentrasi HIF-1 $\alpha$  yang lebih tinggi pada kelompok anaerobik disebabkan oleh sistem metabolisme yang terjadi pada aktivitas fisik anaerobik adalah metabolisme anaerob. Kondisi anaerob akan memicu akumulasi HIF-1 $\alpha$  dan aktivasi HIF-1 (Flora *et al*, 2012).

Hasil pengukuran aktivitas CK di jaringan otot jantung menunjukkan, terjadinya peningkatan aktivitas CK di jaringan pada kelompok aerobik, sedangkan pada kelompok anaerobik terjadi penurunan. Aktivitas CK kelompok aerobik berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok anaerobik pada hari ke-7 dan ke-10 (Grafik 1). Pada hari ke-3 kelompok aerobik aktivitas CK jaringan mengalami penurunan. Diduga, aktivitas fisik aerobik yang dilakukan setiap hari tanpa hari istirahat mengakibatkan kelelahan otot. Kelelahan otot berdampak terhadap kerusakan jaringan, sehingga CK yang berada di jaringan keluar ke sirkulasi.

Pada kelompok anaerobik, terjadi penurunan aktivitas CK mulai hari pertama, ke-3 dan ke-10. Hasil pengukuran aktivitas CK pada kelompok anaerobik lebih rendah dibandingkan kelompok aerobik. Dalam keadaan anaerobik, CK diperlukan untuk mengkatalisis fosfokreatin (PCr) yang tersimpan di dalam otot menjadi kreatin dan Pi (pospat inorganik). Pi yang dihasilkan melalui proses pemecahan PCr ini melalui proses fosforilasi dapat mengikat molekul ADP untuk kemudian kembali membentuk molekul ATP yang diperlukan sebagai sumber energi. Selain itu, aktivitas fisik anaerobik memiliki beban kerja yang lebih berat dibandingkan dengan aktivitas fisik aerobik. Kondisi hipoksia dan kelebihan beban kerja otot mengakibatkan penurunan aktivitas CK di jaringan.

Hasil penelitian yang sama juga ditemukan dari beberapa penelitian yang mengevaluasi perubahan aktivitas CK setelah aktivitas fisik. Terdapat perbedaan aktivitas CK yang nyata sesuai

dengan tingkat aktivitas fisik. Pada aktivitas fisik yang membutuhkan kontraksi otot isometrik puncak aktivitas serum CK terjadi lebih dini, yaitu 24 - 48 jam setelah aktivitas fisik,<sup>144,145</sup> sedangkan pada aktivitas fisik yang membutuhkan kontraksi otot eksentrik puncak aktivitas serum CK terjadi 3 - 7 hari setelah aktivitas fisik.<sup>146-148</sup> Pada penelitian ini didapatkan bahwa pada kelompok aerobik dan anaerobik penurunan terbesar kadar CK terjadi pada hari ke-3. Pada kelompok anaerobik pada hari ke-10 terjadi kembali penurunan kadar CK. Hal ini kemungkinan disebabkan aktivitas anaerobik yang diberikan tanpa periode hari istirahat menimbulkan kelebihan beban kerja otot. Di bidang olahraga, CK digunakan sebagai petanda untuk mendeteksi cedera dan kelebihan beban kerja otot.<sup>148-150</sup>

Hasil korelasi antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK menunjukkan adanya hubungan yang sedang ( $r = 0,48$ ;  $p < 0,05$ ) pada kelompok aerobik (Tabel 1). Pada kelompok anaerobik didapatkan korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK jaringan. Pada hari pertama anaerobik, konsentrasi HIF-1 $\alpha$  meningkat tajam tetapi tidak diikuti dengan penurunan aktivitas CK jaringan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa, walaupun tubuh harus menghadapi beban berat selama aktivitas fisik tetapi beban kerja tersebut masih dapat ditoleransi oleh tubuh. Pada hari ke-10 aktivitas fisik anaerobik konsentrasi HIF-1 $\alpha$  turun dan aktivitas CK jaringan juga mengalami penurunan. Diduga, aktivitas fisik anaerobik selama 10 hari tanpa hari istirahat mengakibatkan penurunan kemampuan tubuh untuk mengatasi beban kerja berat yang harus dihadapi secara terus menerus. Beban kerja otot yang berlebihan mengakibatkan CK yang berada di jaringan otot memasuki sirkulasi. Selain itu, dalam suasana anaerobik CK sangat diperlukan dalam proses penyediaan energi.<sup>29</sup>

Dari hasil pengukuran aktivitas CK jaringan dapat disimpulkan bahwa pada kelompok anaerobik terjadi penurunan aktivitas CK jaringan otot jantung, sedangkan pada kelompok aerobik tidak terjadi penurunan. Pada aktivitas fisik anaerobik CK sangat diperlukan dalam proses penyediaan energi, untuk mengkatalisis fosfokreatin (PCr) yang tersimpan di dalam otot menjadi kreatin dan Pi (pospat inorganik). Sebaliknya, pada aktivitas fisik aerobik CK tidak diperlukan dalam proses penyediaan energi.

Hasil korelasi antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK menunjukkan adanya hubungan yang sedang ( $r = 0,48$ ;  $p < 0,05$ ) pada kelompok aerobik (Tabel 1). Pada kelompok anaerobik didapatkan korelasi yang sangat kuat antara konsentrasi HIF-1 $\alpha$  dengan aktivitas CK

jaringan. Pada hari pertama anaerobik, konsentrasi HIF-1 $\alpha$  meningkat tajam tetapi tidak diikuti dengan penurunan aktivitas CK jaringan yang bermakna. Hal ini menunjukkan, bahwa walaupun tubuh harus menghadapi beban berat aktivitas fisik, tetapi beban kerja tersebut masih dapat ditoleransi oleh tubuh. Pada hari ke-10 aktivitas fisik anaerobik konsentrasi HIF-1 $\alpha$  turun dan aktivitas CK jaringan juga mengalami penurunan. Diduga, aktivitas fisik anaerobik selama 10 hari tanpa hari istirahat mengakibatkan penurunan kemampuan tubuh untuk mengatasi beban kerja berat yang harus dihadapi secara terus menerus. Beban kerja otot yang berlebihan mengakibatkan CK yang berada di jaringan otot memasuki sirkulasi. Selain itu, dalam suasana anaerobik CK sangat diperlukan dalam proses penyediaan energi.<sup>29</sup>

Dari hasil pengukuran aktivitas CK jaringan dapat disimpulkan bahwa pada kelompok anaerobik terjadi penurunan aktivitas CK jaringan otot jantung, sedangkan pada kelompok aerobik tidak terjadi penurunan. Pada aktivitas fisik anaerobik CK sangat diperlukan dalam proses penyediaan energi, untuk mengkatalisis fosfokreatin (PCr) yang tersimpan di dalam otot menjadi kreatin dan Pi (pospat inorganik). Sebaliknya, pada aktivitas fisik aerobik CK tidak diperlukan dalam proses penyediaan energi.

#### Daftar Pustaka

1. Feilim MG, James WJ, Aleksander SP, VEGF gradients, receptor activation and sprout guidance in resting and exercise skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2007; 102: 722-34.
2. Semenza GL. Hydroxylation of Hif-1 $\alpha$  : Oxygen sensing at the molecular level. *Physiology*. 2004; 19:176-82.
3. Zagorska A and Dulak J. Hif-1 : the knowns and unknowns of hypoxia sensing. *Acta Biochemia Polonica* 2004; 51 (3):563-78
4. Flora R, Freisleben H-J, Ferdinal F, Wanadi SI, Sadikin M. Correlation of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelium growth factor in rat myocardium during aerobic and anaerobic exercise. *Med J Indones*. 2012; 21(3):133-40.
5. Flora R, Freisleben H-J, Ferdinal F, Bethy S, Wanadi SI, Sadikin M Myocardial damage in rats at continuous aerobic and anaerobic exercise. *Med J Indones*. 2013; 22(4):209-14.
6. Baird MF, Scott MG, Julien SB, and Gordon FB. Creatine-Kinase- and Exercise-Related Muscle Damage Implications for Muscle Performance and Recovery. *Journal of Nutrition and Metabolism*. Volume 2012 (012)
7. Wang GL, Jiang BH, Semenza GL, Effect of protein kinase and phosphatase inhibitors on expression of hypoxia-inducible factor-1. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995; 216:669-75.

8. Foss ML, Keteyian SJ. Physiological basis for exercise and sport, Mc. Graw Hill New York.2006: 59-64
9. Mooren FC, Volker K. Human Kinetics. Molecular and Cellular Exercise Physiology. USA; 2005.
10. Kirwan JP, Clarkson M, Graves JE, Litchfield PL,Byrnes WC. Levels of serum creatine kinase and myoglobin in women after two isometric exercise conditions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*.1986;55(3):330-33.
11. Graves JE, Priscilla MC, Paul L, John PK,James PN. Serum creatine kinase activity following repeated bouts of isometric exercise with different muscle groups.*Eur J Appl Physiol Occup Physiol*.1987;56: 6, 657-61
12. Smith LL, Fulmer MG, Holbert D, McCammon MR, Houmard JA, Frazer DD, Nsien E, Israel RG. The impact of a repeated bout of eccentric exercise on muscular strength, muscle soreness and creatine kinase. *Br J Sports Med*. 1994;28:267–71.
13. Nosaka K, Clarkson PM. Relationship between post-exercise plasma CK elevation and muscle mass involved in the exercise. *Int J Sports Med*. 1992;13:471–75.
14. Clarkson PM, Tremblay I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in humans. *J Appl Physiol*. 1988; 65:1–6.
15. Houmard JA, Costill DL, Mitchell JB, Park SH, Fink WJ, Burns JM. Testosterone, cortisol, and creatine kinase levels in male distance runners during reduced training. *Int J Sports Med*.1990; 11:41–45.
16. Totsuka M, Naganuma S, Suzuki K, Nakaji S, Sato K, Sugawara K. Rapid adaptation of creatine kinase responses to repeated daily endurance exercise. *J Phys Fit Nutr Immunol*. 1996; 6:187–190.
17. Bessman SP, Geiger PJ. Transport of energy in muscle : the phosphorylcreatine shuttle. *Science*. 1981; 211:448-52.