

Kode>Nama Rumpun Ilmu*: 372/Kebidanan

**LAPORAN HASIL
PENELITIAN DASAR**



**PENGARUH PENINGKATAN KADAR KORTIKOSTERON AKIBAT
STRES KRONIS TERHADAP PERUBAHAN BERAT BADAN PADA
*Rattus norvegicus***

TIM PENGUSUL

KETUA : RISYA SECHA PRIMINDARI, S.Keb., Bd., M.Kes

NIDN : 0727019301

UNIVERSITAS MUHAMMADDIYAH LAMONGAN

TAHUN 2021

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN DASAR**

Judul Penelitian : PENGARUH PENINGKATAN KADAR KORTIKOSTERON
AKIBAT STRES KRONIS TERHADAP PERUBAHAN
BERAT BADAN PADA *Rattus norvegicus*

Bidang Penelitian : Kebidanan

Ketua Peneliti

a. Nama lengkap : Risyasecha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes

b. NIDN : 0727019301

c. Jabatan Fungsional : -

d. Fakultas/Program Studi : S1 Profesi Bidan

e. Nomor HP : 085730583584

f. Alamat surel (email) : risyasecha@gmail.com

Tahun Pelaksanaan : 2021

Biaya Tahun Berjalan : -

Biaya Keseluruhan : -

Lamongan, 4 Maret 2022

Mengetahui,
Dekan

Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Muhammadiyah Lamongan



Ariyil Aris, S.Kep, Ns, M.Kes
NIK. 1978 0821 2006 01 015

Ketua Peneliti

Risyasecha Primindari, S.Keb., Bd., M.Kes.
NIDN. 0727019301

Kepala LPPM

Universitas Muhammadiyah Lamongan



Abdul Rokhman, S.Kep., Ns., M.Kep.
NIK. 19881020201211 056

RINGKASAN

Coronavirus 2019 (COVID-19) memengaruhi kesehatan mental global, sebagaimana dibuktikan dengan pembelian panik di seluruh dunia saat kasus melonjak. Tinjauan sistematis dan meta-analisis di antara populasi umum di Asia dan Eropa menunjukkan bahwa prevalensi stres sebesar 29,6%, kecemasan 31,9%, dan depresi 33,7%. Stres didefinisikan sebagai mekanisme homeostasis tubuh yang timbul untuk mendukung penyesuaian terhadap rangsangan dari lingkungan yang berpengaruh pada perkembangan dan stimulasi ekspresi yang diinduksi perubahan plastisitas pada fungsi otak dan tingkah laku. Paparan berulang terhadap stresor, dapat membawa beberapa gangguan fisiologis dan perilaku, gangguan metabolisme dan makan. Penurunan berat badan dihubungkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid akibat stress yang mempengaruhi pembakaran pada lemak coklat, sehingga kalori dapat terbakar. Tujuan penelitian ini adalah menganalisis pengaruh peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus norvegicus*. Pemberian stres kronis dalam penelitian ini menggunakan metode *Chronic Unpredictable Mild Stress* (CUMS). *Chronic Unpredictable Mild Stress* adalah pemberian berbagai perlakuan sebagai stresor dan menyerupai stresor kehidupan sehari – hari yang tidak terlalu berat namun terus menerus. Stres kronis ditandai dengan meningkatnya sintesis dan sekresi glukokortikoid (kortisol pada manusia dan kortikosteron pada hewan pengerat). Penelitian ini adalah menggunakan rancangan penelitian *true eksperimental* dengan desain *post test only control group*. Hasil pemeriksaan kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* kelompok perlakuan stres lebih tinggi (72.84 ± 64.03) dibandingkan kelompok kontrol (23.29 ± 8.42). Uji analisis statistik mendapatkan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Hasil pemeriksaan perubahan berat badan pada *Rattus norvegicus* kontrol (223.93 ± 18.58) lebih berat daripada kelompok perlakuan (205.54 ± 14.21). Uji statistik menunjukkan $p=0.000$ ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna perubahan berat badan antara kelompok kontrol dan perlakuan. Kesimpulan penelitian ini adalah stres kronis dapat meningkatkan kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus*. Peningkatan kadar hormon kortikosteron dapat menurunkan berat badan *Rattus norvegicus*.

Kata kunci : kortikosteron, stres kronis, berat badan, *Rattus norvegicus*, CUMS

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
RINGKASAN	ii
DAFTAR ISI.....	iii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Konsep Stres	5
2.1.1 Definisi stres	5
2.1.2 Penggolongan stres	5
2.1.3 Tahapan stres	6
2.1.4 Tingkatan stres	7
2.1.5 Stres akut dan stres kronis.....	8
2.1.6 Mekanisme stres.....	8
2.1.7 <i>Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS)</i>	9
2.2 Stres dan Peningkatan Hormon Kortisol.....	12
2.3 Stres dan Perubahan Berat Badan	14
2.4 Hewan Coba Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>).....	28
2.4.1 Taksonomi	16
2.4.2 Lingkungan hidup hewan coba	16
2.4.3 Pengambilan spesimen hewan coba.....	18
2.5 Hipotesis Penelitian	18
BAB 3 METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	19
3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian	19
3.3 Bagan Alur Penelitian	20
3.4 teknik Pengumpulan dan Analisis Data	21
3.4.1 Persiapan hewan coba.....	21
3.4.2 Sinkronisasi birahi	21
3.4.3 Perlakuan dengan paparan stresor.....	21
3.4.4 Terminasi	23
3.4.5 Pengambilan spesimen darah.....	23
3.4.6 Pemeriksaan kadar kortikosteron serum dengan metode ELISA.....	23
3.4.7 Pemeriksaan Berat Badan	23
3.4.8 Pengolahan Data	24
BAB 4 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN	
4.1 Karakteristik <i>Rattus norvegicus</i> secara umum.....	25

4.2 Kadar Kortikosteron	25
4.3 Perubahan berat badan <i>Rattus norvegicus</i>	26
BAB 5 PEMBAHASAN	
5.1 Pelaksanaan Penelitian.....	29
5.2 Peningkatan Kadar Kortikosteron.....	29
5.3 Perubahan Berat Badan.....	32
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	35
6.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	39

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Coronavirus 2019 (COVID-19) memengaruhi kesehatan mental global, sebagaimana dibuktikan dengan pembelian panik di seluruh dunia saat kasus melonjak. Tinjauan sistematis dan meta-analisis yang dilakukan oleh Salari et al. (2020) di antara populasi umum di Asia dan Eropa menunjukkan bahwa prevalensi stres sebesar 29,6%, kecemasan 31,9%, dan depresi 33,7%. Pada sebuah studi yang dilakukan Wang (2020) di China mendapatkan data sebanyak 8,1% stres sedang sampai berat, 28,8% kecemasan dan 16,5% depresi. Studi lain dilakukan di Filipina diketahui prevalensi 16,3% responden menilai dampak psikologis dari wabah tersebut sebagai sedang hingga parah, 16,9% melaporkan gejala depresi sedang hingga berat, 28,8% memiliki tingkat kecemasan sedang sampai berat, dan 13,4% memiliki tingkat stres sedang hingga berat (Tee, 2020).

Stres dapat meningkatkan risiko penyakit kronis dan masalah kesehatan lainnya, menghadapi kondisi kronis dan kesehatan yang buruk dapat meningkatkan jumlah stres yang dialami seseorang. Stres juga mempengaruhi perilaku yang mempengaruhi kesehatan. Pilihan diet, kebiasaan tidur, dan penggunaan narkoba adalah perilaku yang sering dipengaruhi secara negatif oleh stres. Survei APA 2011 menunjukkan bahwa 39% melaporkan melewatkan makan, dan 29% responden melaporkan makan berlebihan atau makan makanan tidak sehat karena stres. Selain itu, 44% dilaporkan terbangun di malam hari karena stress (Pagadala, 2019). Stres kronis secara langsung berhubungan dengan sistem endokrin stres dan mempengaruhi struktur otak individu, sistem kekebalan dan perilaku. Hal ini jelas menunjukkan bahwa individu yang terpapar stres kronis selama masa hidupnya memiliki risiko lebih tinggi terkena penyakit kardiovaskular, anoreksia, obesitas, kanker, gangguan kekebalan dan gangguan mental seperti depresi (Senanayake, 2019).

Stres didefinisikan sebagai respons tubuh yang tidak spesifik terhadap setiap stimulus yang di peroleh oleh tubuh. Respons ini diinduksi oleh setiap situasi baru (stressor kimia, fisik, lingkungan, emosional, dan psikososial) yang mengganggu

homeostasis dan menginduksi respons adaptif umum yang bertujuan untuk memulihkan homeostasis tubuh. Semua manifestasi dari respon adaptif bermanfaat bagi ketika terjadi dalam waktu terbatas, tetapi ketika durasi stres berlebihan akan berkontribusi pada perkembangan kondisi patologis (Jaime, 2016 ; Torres, 2019).

Stresor dalam kehidupan sehari-hari tidak dapat diprediksi dengan bentuk yang bermacam-macam, apabila individu tidak mampu mengatasi paparan stres, maka paparan yang terjadi secara terus menerus menimbulkan kondisi kronis. Pemberian stres kronis dalam penelitian ini menggunakan metode *Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS)*. *Chronic Unpredictable Mild Stress* adalah pemberian berbagai perlakuan sebagai stresor dan menyerupai stresor kehidupan sehari – hari yang tidak terlalu berat namun terus menerus (Maramis, 2015). Metode ini terbukti meningkatkan kadar kortikosteron (kortisol pada tikus) secara signifikan dalam waktu 20 hari (López-López *et al.*, 2016). Pada *Rattus*, sekresi kortisol digantikan oleh kortikosteron (Guillemin *et al.*, dalam Guyton, 2016). Stres kronis meningkatkan sintesis dan sekresi glukokortikoid (kortisol pada manusia dan kortikosteron pada hewan pengerat). Peningkatan glukokortikoid adalah biomarker untuk stres dan gangguan depresi (Joseph, 2017). Menurut Gong (2015), keberadaan kortisol dan kortikosteron pada serum tikus berbeda dan berkorelasi erat dengan dinamika kondisi fisiologis atau stres. Kortikosteron adalah biomarker terkait adaptasi kronis, sedangkan kortisol lebih merefleksikan stres akut yang berat.

Paparan berulang terhadap stresor, dapat membawa beberapa gangguan fisiologis dan perilaku, gangguan metabolisme dan makan (Torres, 2019). Penurunan berat badan dihubungkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran pada lemak coklat, sehingga kalori dapat terbakar (Symonds, 2016). Saat stres hormon kortikosteron akan menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh menghadapi stres dengan cara meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Pemecahan lemak (lipolisis) dibutuhkan sebagai bahan baku untuk glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan lemak. Adanya peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan

mengurangi pengangkutan glukosa yang dibutuhkan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida di dalam sel-sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, maka sel-sel lemak akan mulai melepaskan asam lemaknya. Adanya pemecahan cadangan asam lemak di dalam tubuh menyebabkan berat badan berkurang (Kyrou, 2009).

Sampai saat ini penelitian tentang pengaruh stres kronis terhadap perubahan berat badan belum memiliki hasil yang konstan untuk itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh perubahan hormon kortikosteron akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah untuk penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis mempengaruhi perubahan berat badan *Rattus novergicus*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Menganalisis pengaruh peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus novergicus*

1.3.2 Tujuan khusus

1. Menganalisis stres kronis dalam meningkatkan kadar kortikosteron pada *Rattus novergicus*.
2. Menganalisis peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan *Rattus novergicus*.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi dan rujukan bagi pengembangan ilmu pengetahuan terutama patofisiologi stres kronis terhadap perubahan berat badan. Disamping itu hasil penelitian ini sebagai pelengkap data penelitian – penelitian sebelumnya.

1.4.2 Manfaat praktis

Bagi praktisi, dalam jangka panjang hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan manajemen stres klien untuk masuk dalam pelayanan kesehatan yang komprehensif.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Konsep Stres

2.1.1 Definisi stres

Stres didefinisikan sebagai suatu proses yang menilai suatu peristiwa sebagai sesuatu yang mengancam maupun membahayakan. Individu yang mengalami stres akan merespon peristiwa tersebut pada level fisiologis, emosional, kognitif, dan perilaku (Richard, 2010). Stres juga dapat didefinisikan sebagai mekanisme homeostasis tubuh yang timbul untuk mendukung penyesuaian terhadap rangsangan dari lingkungan yang berpengaruh pada perkembangan dan stimulasi ekspresi yang diinduksi perubahan plastisitas pada fungsi otak dan tingkah laku (Bohus *et al.*, 1995). Stresor dapat berupa stresor fisik (neurogenik), psikologis (psikogenik) maupun kimiawi yang berasal dari internal maupun eksternal tubuh (Gusty, 2005).

Respon stres berdasarkan teori Selye yang dikenal sebagai *General Adaptation Syndrome* (GAS) diawali dengan reaksi waspada (*alarm reaction*) terhadap adanya ancaman, yang ditandai oleh proses adaptasi fisiologis tubuh seperti meningkatnya detak jantung kemudian diikuti reaksi penolakan terhadap stresor dan akan mencapai tahap kehabisan tenaga (*exhaustion*) apabila tidak mampu bertahan (Khrohne, 2002).

Respon tubuh terhadap stresor dapat menyebabkan terjadinya perubahan perilaku, neurokimiawi, dan imunologis tubuh sesuai kapasitas penyesuaian tubuh. Apabila penyesuaian diri tidak dapat dilakukan, maka stresor dapat dengan mudah melahirkan keadaan patologi (Pasiak, 2005).

2.1.2 Penggolongan stres

Bedasarkan Selye (1997 dalam Le Fevre, 2003) stres dapat digolongkan menjadi dua jenis :

1. *Distres* (stres negatif)

Merupakan jenis stres yang tidak sehat, negatif, tidak menyenangkan dan merusak. Distres merupakan bentuk stres yang melebihi kemampuan tubuh dan untuk mengatasinya akan terjadi masalah fisik maupun psikologis. Ketika

mengalami distres, individu cenderung mengalami rasa cemas, ketakutan, khawatir, atau gelisah, sehingga individu mengalami keadaan psikologi yang negatif, menyakitkan, dan timbul keinginan untuk menghindari.

2. *Eustres* (stres positif)

Merupakan stres yang bersifat sehat, positif, menyenangkan, dan konstruktif. *Eustres* merupakan bentuk stres yang mampu mendorong tubuh untuk beradaptasi sehingga meningkatkan kesiagaan mental, kewaspadaan, kognisi, dan kinerja individu. *Eustres* juga dapat meningkatkan motivasi individu untuk menciptakan sesuatu.

2.1.3 Tahapan stres

Tahapan awal stres timbul secara lambat sehingga gejala stres seringkali tidak disadari dan baru dirasakan pada tahap lanjut. Tahapan stres dirumuskan sebagai *General Adaptation Syndrome* (GAS) yaitu reaksi tubuh untuk mengatasi penyebab stres. Respon yang terlibat didalamnya adalah respon dari sistem saraf otonom dan sistem endokrin. GAS diuraikan dalam tiga tahap terdiri dari tiga tahapan (Le Felvre, 2003) :

1. *Alarm Reaction Stage*

Merupakan tahapan awal di mana tubuh bereaksi terhadap stresor yang dianggap sebagai ancaman yang ditandai dengan proses tubuh secara otomatis yaitu peningkatan adrenokortikal. Aktivi hormonal ini menyiapkan individu untuk melakukan respon melawan atau menghindar. Bila stresor menetap maka individu akan masuk ke dalam fase resistensi.

2. *Resistance Stage*

Merupakan tahap perlawanan tubuh terhadap stresor. Pada tahap ini gejala *alarm reaction* menghilang yang menandakan adaptasi organisme terhadap stresor. Tubuh berusaha menyeimbangkan kondisi fisiologis kembali ke keadaan normal dan tubuh mencoba mengatasi faktor-faktor penyebab stres. Apabila teratasi maka gejala stres akan menurun namun jika gagal maka individu tersebut akan jatuh pada tahap terakhir dari GAS.

3. *Exhaustion Stage*

Merupakan tahap akhir di mana kemampuan adaptasi terhadap jumlah stresor telah habis, timbul kerusakan jaringan yang *irreversible* dan apabila stimulus terus berlangsung, organisme akan mati.

2.1.4 Tingkatan Stres

Pembagian tingkatan stres berdasarkan Robert J. Van Amberg (Willy, 2016) dibagi dalam enam tingkatan.

1. Stres tingkat I (paling ringan), yaitu stres yang disertai perasaan nafsu bekerja yang besar dan berlebihan, mampu menyelesaikan tugas atau pekerjaan tanpa memperhitungkan tenaga yang dimiliki, disamping itu indera penglihatan menjadi tajam, merasa senang dengan pekerjaannya namun tanpa disadari cadangan energi menipis.
2. Stres tingkat II, yaitu stres yang semula menyenangkan mulai menghilang disertai keluhan seperti bangun pagi tidak segar atau letih, lekas capek menjelang sore, lekas lelah sesudah makan, tidak dapat rileks, lambung atau perut tidak nyaman, jantung berdebar, dan otot kaku. Hal ini terjadi karena cadangan tenaga tidak memadai.
3. Stres tingkat III, yaitu tahapan stres dengan keluhan yang semakin nyata dan mengganggu seperti defekasi tidak teratur (kadang diare), otot kaku, emosional, insomnia, mudah terjaga dan sulit tertidur kembali (*middle insomnia*), bangun pagi terlalu pagi dan sulit tidur kembali (*late insomnia*), koordinasi tubuh terganggu, dan rasa ingin pingsan.
4. Stres tingkat IV, yaitu tahapan yang menunjukkan keluhan seperti tidak mampu bekerja sepanjang hari, aktivitas yang terganggu yakni merasa sulit dan menjenuhkan, respon tidak adekuat, kegiatan rutin terganggu, pola tidur terganggu, sering menolak ajakan, konsentrasi dan daya ingat menurun serta timbulnya kecemasan dan ketakutan.
5. Stres tingkat V, yaitu tahapan stres yang ditandai dengan kelelahan fisik dan mental (*physical and physiological exhaustion*), ketidakmampuan menyelesaikan pekerjaan yang sederhana dan ringan, gangguan pencernaan berat, meningkatnya rasa takut dan cemas, bingung dan panik.

6. Stres tingkat VI (paling berat), yaitu tahapan stres yang ditandai jantung berdebar keras, sesak napas, badan gemetar, keluar keringat dingin, tidak ada tenaga dan sering jatuh pingsan.

2.1.5 Stres akut dan stres kronis

Persepsi terhadap stres berasal dari rasa takut atau marah. Perasaan ini dapat diekspresikan dalam sikap tidak sabar, frustrasi, iri, tidak ramah, depresi, cemas, khawatir atau apatis. Stres dibagi menjadi stres akut dan stres kronis. Stres akut berlangsung dalam waktu yang singkat namun cukup kuat, kemudian menghilang dengan cepat. Stres kronis merupakan stres yang muncul tidak terlalu kuat namun dapat bertahan dalam waktu lama dari hitungan hari hingga bulanan. Stres kronis yang dialami berulang kali dapat mempengaruhi kesehatan dan produktivitas individu (Putri, 2018). Tiga faktor yang berkontribusi diidentifikasi sebagai penyebab stres kronis yaitu, aktivasi berulang, adaptasi rendah atau lambat, dan keterlambatan atau kegagalan untuk kembali ke homeostasis. Dia mengusulkan bahwa stres kronis dan risiko kesehatan terkait terjadi ketika respons stres "terlalu sering" atau "terlalu lama", yang pada gilirannya menghasilkan efek berkelanjutan pada sistem biologis (Senanayake, 2019).

Stres kronis secara langsung berhubungan dengan sistem endokrin stres dan mempengaruhi struktur otak individu, sistem kekebalan dan perilaku. Hal ini jelas menunjukkan bahwa individu yang terpapar stres kronis selama masa hidupnya memiliki risiko lebih tinggi terkena penyakit kardiovaskular, obesitas, kanker, gangguan kekebalan dan gangguan mental seperti depresi (Senanayake, 2019).

2.1.6 Mekanisme stres kronis

Respon stres manusia melibatkan alur persinyalan yang kompleks antara neuron dan sel somatik. Mekanisme respon tubuh terhadap stres diawali dengan adanya stimulus yang dapat berasal dari internal maupun eksternal tubuh selanjutnya diteruskan pada sistem limbik sebagai pusat adaptasi. Hipotalamus saat stres akan mensekresikan *Corticotrophin Releasing Hormone* (CRH) yang memicu hipofisis anterior untuk memproduksi *Adenocorticotrophine Hormone* (ACTH) dan *Thyrotrophine Releasing Factor* (TRF). ACTH melalui aliran darah, mencapai kelenjar adrenal yang membuat kelenjar adrenal mensekresikan hormon glukokortikoid yakni kortisol. Dalam kondisi normal, kortisol akan memberikan

negative feedback dengan menekan sekresi CRH untuk mencegah respon stres yang berlebihan, namun hal ini tidak terjadi pada pada stres kronis di mana terjadi aktivasi hubungan Hipotalamus-Pituitari-Adrenal (HPA) secara terus menerus (López-López *et al.*, 2016).

Stres kronis terbukti dapat menurunkan jumlah sel piramidal CA3 di hipokampus (Taliaz *et al.*, 2011). Mekanisme atrofi apikal dendrit neuron sel piramidal CA3 hipokampus melibatkan glukokortikoid yang telah dihasilkan korteks adrenal dan meliputi proses neurokimia. Proses ini diawali glutamat yang merupakan neurotransmitter utama yang paling efektif di hipokampus dan banyak dikeluarkan saat stres. Konsentrasi glukokortikoid tinggi yang bekerja pada reseptor glukokortikoid akan meningkatkan keterlibatan akumulasi glutamat yang berlebihan di sinaps, akibatnya glutamat meracuni hipokampus. Pelepasan glutamat juga meningkat karena aktivitas reseptor presinaptik yang terlibat pada *Mossy Fibre Terminal* (MFT) dari lapisan lusidum hipokampus bersama – sama mitokondria, memicu perbanyakan vesikel (Taliaz *et al.*, 2011).

Empat neurotransmitter eksitatori glutamat menstimulasi produksi nitrit oxide (NO) yang mengakibatkan efek toksik melalui interaksi cepat dengan superoksida anion, membentuk peroksinitrim sebagai spesies reaktif yang menyebabkan atrofi neuron CA3. Radikal bebas yang berlebihan mengakibatkan stres oksidatif yang menghasilkan reaksi lipid peroksidase yang berbahaya pada otak karena otak tidak diperkaya dengan bahan – bahan protektif seperti enzim ataupun senyawa antioksidan. Sehingga apabila mengalami iskemik atau hipoksia, maka akan diproduksi radikal bebas yang berujung pada apoptosis sel (Taliaz *et al.*, 2011).

2.1.7 Chronic Unpredictable Mild Stress (CUMS)

Metode *Chronic Unpredictable Mild Stress* (CUMS) adalah cara memberikan berbagai perlakuan sebagai stresor yang dilakukan minimal selama tiga minggu (Maramis, 2015). CUMS terbukti meningkatkan kadar kortikosterone setelah 20 hari (López-López *et al.*, 2016). Tujuan dari pemberian CUMS untuk mendapatkan hewan model dengan stres kronik (depresi). Pemberian stresor secara acak dan berganti setiap hari serta tidak dapat diprediksi. Berbagai stresor ini menyerupai stresor kehidupan sehari – hari yang tidak terlalu

berat namun terus menerus. Bila stresor kehidupan tidak dapat diatasi dan tidak dapat beradaptasi, maka akan terjadi distress, lambat laun akan terjadi depresi (Maramis, 2015; López-López *et al.*, 2016).

Prosedur stres CUMS saat ini masih menjadi subyek banyak penelitian ilmiah dan masih mengalami banyak modifikasi. Modifikasi yang mungkin dilakukan adalah paparan stres kronis hewan laboratorium (mencit, tikus) terhadap berbagai stres sosial dan lingkungan yang dijadwalkan secara acak (Guan *et al.*, 2014). *Chronic Unpredictable Mild Stress* yang dilakukan pada hewan coba bertujuan untuk menghindari habituasi dan mengaktifkan mekanisme kerusakan seperti stres oksidatif dan peradangan kronis tingkat rendah. Perlakuan ini memungkinkan untuk pengamatan aspek stres fisio-patologi selama periode waktu yang lama, setidaknya 20 – 60 hari (López-López *et al.*, 2016).

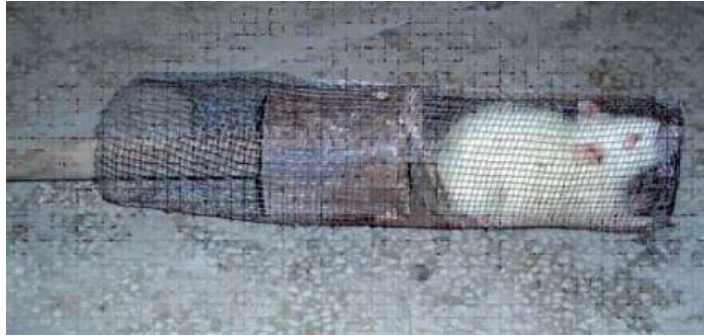
Terdapat beberapa bentuk stresor dalam CUMS yang bisa diberikan pada hewan coba mencit (*Mus musculus*) dan tikus (*Rattus norvegicus*), antara lain :

1. Stres elektrik (Sari dkk, 2014 **dalam** Puriastuti, 2018)

Alat yang digunakan untuk memicu stres ini disebut *rodent electrical stressor* (TW-0313) yang terdiri dari sebuah box dengan ruang untuk menempatkan hewan coba yang terhubung dengan sebuah generator syok. Hewan coba menerima satu seri stres elektrik 10 menit/hari berupa *foot shock* dengan intensitas 0,8 mA dan durasi 10 detik dengan interval 15 detik. Pemicu stres ini dilakukan secara kronis 28 hari.

2. *Restraint stress* (Amugongo dan Hlusko, 2013 **dalam** Putri, 2018)

Stres ini disebut juga stres imobilisasi yang dapat dipicu menggunakan *wire mesh restrainer* (pada gambar 2.1) selama 3 jam/hari dan diberikan selama 6 hari berturut-turut. Ukuran dari restrainer dibuat sedemikian rupa menyesuaikan ukuran hewan coba untuk menjamin hewan coba tidak dapat bergerak (immobilisasi).



Gambar 2.1 *Rattus norvegicus* dalam *wire mesh restrainer*
Sumber : Tabassum, 2010 **dalam** Putri, 2018

3. Stres sosial

Stres sosial dapat dilakukan dengan cara menempatkan dua tikus bunting bersama – sama dengan delapan tikus jantan dalam satu kandang yang berukuran 32 x 57 x 20 cm (Valetsky *et al.*, 1997 **dalam** Puriastuti, 2018).

4. Stres termal

Pemicu stres ini dilakukan dengan menggunakan box dengan lantai berbahan keramik yang dihubungkan dengan pemanas (Mufford *et al.*, 2014 **dalam** Puriastuti, 2018).

5. Stres cahaya (Willy, 2016)

Paparan cahaya yang diberikan dapat berupa lampu dengan kekuatan 300 – 400 lux yang diberikan selama 45 menit per sesi dan dilakukan sehari 2 kali. Apabila dikonversikan dalam watt, paparan dapat diberikan dengan lampu LED berkekuatan 4 watt.

6. Modifikasi (López-López *et al.*, 2016)

Modifikasi protokol CUMS yang telah dilakukan oleh Willner (2005) dan Lucca *et al.* (2009) yakni dengan memberikan paparan stres antara lain : pengurangan pangan (12 jam), pengurangan minum (12 jam), immobilisasi (1 – 3 jam), paparan lingkungan dingin (4°C, 3 jam), immobilisasi sekaligus paparan dingin (4°C, 1,5 – 2 jam), dicelupkan ke air dingin (15 °C, 15 menit), paparan sinar kontinyu (24 jam), isolasi (2 – 3 hari), benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm, 3 – 5 jam), pemiringan kandang (40°, 5 jam), *overcrowding* (15 ekor setiap kandang, 8 – 24 jam), alas kandang yang basah (5 – 24 jam), dan kebisingan (40 dB, 3 – 5 jam).

Pemberian stresor dilakukan secara random dengan frekuensi dan waktu yang bervariasi untuk menghindari habituasi. Pemaparan diaplikasikan pada awal fase cahaya antara pukul 9 pagi hingga 11 pagi. Untuk membuang efek stres akut, hewan coba dikorbankan dengan kapasitas 24 jam setelah pemberian stresor terakhir.

7. Modifikasi (Maramis,2015)

Paparan stresor yang diberikan untuk mengidentifikasi perubahan kemampuan kognitif antara lain : diikat ekor dengan benang (1 jam), treadmill dengan kecepatan rendah secara terus menerus (30 menit), berenang (5 menit), ditusuk ekornya sepanjang 2,5 cm (60 menit), predator kucing disertai suara kucing yang keras (4 jam), isolasi ruang sempit dan gelap (4 jam), intruder tikus yang lebih tua (4 jam), dan shock listrik selama 0,2 detik dengan arus 2mA 470 Volt setiap 2 detik (10 menit).

Dalam penelitian ini paparan stresor yang diberikan pada *Rattus norvegicus* menggunakan modifikasi antara paparan stresor yang diberikan oleh : Maramis (2015), Willy (2016), López-López *et al.* (2016), dan Puriastuti (2018).

2.2 Stres dan Peningkatan Hormon Kortisol

Glukortikoid adalah mediator respon stres sistemik, khususnya kortisol, merupakan mediator penting dalam banyak kejadian seluler seperti modulasi apoptosis, respons terhadap stres, metabolisme lipid dan karbohidrat, serta aktivitas mitokondria (da Costa *et al.*, 2017). Dalam kondisi normal, kortisol akan memberikan *negative feedback* dengan menekan sekresi CRH untuk mencegah respon stres yang berlebihan, namun hal ini tidak terjadi pada stres kronis di mana terjadi aktivasi hubungan Hipotalamus-Pituitari-Adrenal (HPA) secara terus menerus (López-López *et al.*, 2016).

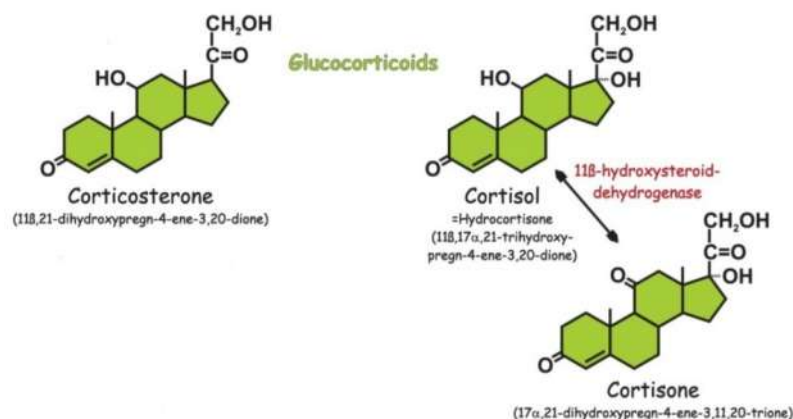
Pada keadaan stres terjadi gangguan pada aksis Hipotalamus – Pituitari – Gonad (HPG). Aktivitas *Corticotrophine Releasing Hormone* (CRH) yang berlebihan di hipotalamus, sebagai respon terhadap stres, menjadi mekanisme untuk supresi GnRH. Selanjutnya, sebagai usaha tubuh dalam beradaptasi dengan stres menyebabkan diproduksi suatu hormon glukokortikoid yaitu kortisol oleh kelenjar adrenal. Peningkatan kadar kortisol secara tidak langsung dapat

menimbulkan gangguan pada pulsasi GnRH sehingga menyebabkan penurunan jumlah hormon gonadotropin yang diproduksi oleh hipofisis anterior (Whirledge, 2017).

Peningkatan pelepasan dan sintesis glukokortikoid sebagai respon terhadap stres akut atau kronis merusak fungsi reproduksi pada berbagai spesies. Glukokortikoid juga terlibat dalam diferensiasi dan pematangan jaringan. Hormon glukokortikoid tetap dibutuhkan untuk perkembangan jaringan reproduksi serta pemeliharaan fungsinya. Oleh karena itu diperlukan pengaturan keseimbangan yang baik antara efek menguntungkan dan merugikan dari hormon ini. Aktivitas glukokortikoid intraseluler diatur oleh enzim jenis 11 β -hydroxysteroid dehidrogenase (HSD11B) 1 dan 2. Meskipun HSD11B memiliki aktivitas dua arah dalam mengaktifkan dan menonaktifkan konversi kortisol menjadi kortison (Scarlet *et al.*, 2017).

Dalam fungsi reproduksi, stres akan menghambat jalur Hipotalamus – Hipofisa – Gonad melalui penghambatan dan pelepasan hormon GnRH. Selanjutnya, ditingkat hipofisa terjadi penurunan produksi FSH karena efek sekunder kortisol yang menghambat sekresi GnRH (Setiyono, 2015).

Peningkatan glukokortikoid adalah biomarker untuk stres dan gangguan depresi (Joseph, 2017). Kortikosteron merupakan hormon glukokortikoid yang dominan pada hewan pengerat, sama halnya seperti kortisol pada manusia (Guillemin *et.al*, dalam Guyton, 2016) dengan rumus bangun yang juga tidak jauh berbeda, seperti tampak pada gambar berikut :



Gambar 2.2 Rumus bangun hormon glukokortikoid
Sumber : Palme, 2015

Menurut *Gonget.al* (2015), keberadaan kortisol dan kortikosteron pada serum tikus berbeda dan berkorelasi erat dengan dinamika kondisi fisiologis atau stres. Kortikosteron adalah biomarker terkait adaptasi kronis, sedangkan kortisol lebih merefleksikan stres akut yang berat.

2.3 Stres Kronis dan Perubahan Berat Badan

Paparan berulang terhadap stresor, dapat membawa beberapa gangguan fisiologis dan perilaku, gangguan metabolisme dan makan (Torres, 2019). Pengaturan pusat berat badan dan asupan makanan terjadi di hipotalamus, yang berisi beberapa sistem saraf yang memainkan peran penting dalam pengaturan homeostasis energi. Sistem ini melibatkan interaksi beberapa neuropeptida. Asupan makanan mencerminkan keseimbangan fungsional antara peptida *orexigenic* hipotalamus (seperti neuropeptida Y [NPY] dan protein terkait agouti [AgRP]) dan peptida anoreksigenik (seperti *pro-opiomelanocortin* [POMC] dan transkrip yang diatur kokain dan amfetamin [CART]). Selain itu, ghrelin, suatu peptida yang sebagian besar diproduksi oleh lambung, juga diekspresikan oleh hipotalamus dan mengatur sekresi hormon pertumbuhan, asupan makanan, dan homeostasis energi. Faktor lain yang mengatur asupan makanan dan homeostasis energi adalah leptin, suatu hormon anoreksigenik yang disekresikan oleh jaringan adiposa. Leptin terkenal karena peran penting dalam pengaturan asupan makanan pada mamalia dewasa. Lebih lanjut, leptin berpartisipasi dalam kontrol beberapa fungsi neuroendokrin, termasuk aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA). Pada stres kronis di mana terjadi aktivasi hubungan Hipotalamus-Pituitari-Adrenal (HPA) secara terus menerus sehingga kontrol pengaturan makan dan control berat badan akan terganggu (Jong, 2013; López-López *et al.*, 2016).

Penurunan berat badan dihubungkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran pada lemak coklat, sehingga kalori dapat terbakar (Symonds, 2016). Saat stres hormon kortikosteron akan menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh menghadapi stres dengan cara meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Pemecahan lemak (lipolisis) dibutuhkan

sebagai bahan baku untuk glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan lemak. Adanya peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan mengurangi pengangkutan glukosa yang dibutuhkan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida di dalam sel-sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, maka sel-sel lemak akan mulai melepaskan asam lemaknya. Adanya pemecahan cadangan asam lemak di dalam tubuh menyebabkan berat badan berkurang (Kyrou, 2009).

Efek stres pada nutrisi dan sistem gastrointestinal (GI) dapat diringkas dengan dua aspek fungsi GI. Pertama, stres dapat mempengaruhi nafsu makan, Efek ini terkait dengan keterlibatan area tegmental ventral (VTA), atau amigdala *melalui* reseptor glutamat N-metil-D-aspartat (NMDA). Namun, perlu juga dicatat bahwa pola nutrisi memiliki efek pada respons terhadap stress, dan ini menunjukkan interaksi bilateral antara nutrisi dan stres. Kedua, stres mempengaruhi fungsi normal saluran GI. Stres mempengaruhi proses penyerapan, permeabilitas usus, sekresi lendir dan asam lambung, fungsi saluran ion, dan peradangan GI. Stres juga meningkatkan respon sistem GI terhadap peradangan dan dapat mengaktifkan kembali peradangan sebelumnya dan mempercepat proses peradangan dengan sekresi mediator seperti substansi P. Akibatnya, terjadi peningkatan permeabilitas sel dan rekrutmen limfosit T. Agregasi limfosit menyebabkan produksi penanda inflamasi, mengaktifkan jalur kunci di hipotalamus, dan menghasilkan umpan balik negatif karena sekresi CRH, yang pada akhirnya menghasilkan munculnya penyakit inflamasi GI. Proses ini dapat mengaktifkan kembali silent colitis sebelumnya. Sel mast memainkan peran penting dalam efek yang diinduksi stres pada sistem GI, karena mereka menyebabkan neurotransmitter dan faktor kimia lainnya dilepaskan yang mempengaruhi fungsi sistem GI (Yaribeygi, 2017).

Penelitian yang dilakukan oleh Jaime (2016) mendapatkan adanya penurunan asupan sukrosa pada tikus yang dipapar stress dibandingkan tikus control yang tidak dipapar oleh stressor. Penurunan berat badan pada tikus yang terpapar stressor kronis adalah korelasi fisiologis yang ditimbulkan oleh perubahan di tingkat pusat. Respon stres dimediasi oleh 41-asam amino peptida *corticotrophin releasing factor* (CRF), yang disintesis dalam neuron inti

hipotalamus atau ekstrapitotalamus (yaitu, inti paraventrikular dan amigdala pusat, resp.). CFR berinteraksi dengan dua reseptor utama (CRF1 dan CRF2), yang diekspresikan secara berbeda dalam struktur otak dan jaringan perifer yang berbeda. Sejumlah besar penelitian menunjukkan bahwa administrasi pusat CRF mereplikasi tanda-tanda depresi dan kecemasan pada hewan pengerat, seperti berkurangnya eksplorasi, peningkatan keputusan, penurunan nafsu makan, gangguan tidur, dan penurunan berat badan.

Stres awal kehidupan merusak sistem penghambatan gairah yang mengarah ke respons yang ditingkatkan dan terus-menerus terhadap rangsangan baru, bermanfaat, dan sedikit mengancam, disertai dengan kenaikan berat badan yang lebih rendah. Berat badan adalah prediktor terbaik terjadinya stres kronis (Cordero, 2019).

2.4 Hewan Coba Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

2.5.1 Taksonomi

Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian karena memiliki keunggulan seperti siklus hidup, mudah diperoleh, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi, dan terkait homologi yang tinggi dengan manusia. Kemiripan ciri fisiologi dan biokimia dengan manusia, disebabkan tikus dan manusia berada dalam satu kingdom animalia dan kelas mamalia (Fidzarro, 2010). Hewan pengerat ini termasuk hewan nokturnal dan sosial sehingga tikus lebih aktif saat malam hari.

Klasifikasi biologi dari tikus putih sebagai berikut (Kusumawati, 2014) :

Kingdom : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Sub Filum : *Vertebrata*
Klas : *Mamalia*
Ordo : *Rodentia*
Sub Ordo : *Myoimorphia*
Famili : *Muridae*
Sub Famili : *Murinae*

Genus : *Rattus*

Spesies : *Rattus norvegicus*

Terdapat beberapa varietas dari tikus dan masing – masing memiliki ciri kekhususan. Antara lain galur *Sprague-Dawley* dengan ciri – ciri berwarna albino putih, berkepala kecil dan ekornya lebih panjang daripada badannya, sering digunakan dalam penelitian model kanker karena memiliki daya tahan tubuh yang rendah; *Wistar* dengan ciri – ciri kepala besar dan ekor yang lebih pendek, banyak digunakan dalam penelitian biologis, genetik, embriologi dan medis; *Long-Evans* memiliki ciri berwarna hitam pada kepala dan tubuh bagian depan serta ukuran lebih kecil daripada tikus putih, lebih sering digunakan untuk riset obesitas dan perilaku; *Lewis* memiliki daya tahan tubuh lebih rendah sehingga sering digunakan dalam penelitian transplantasi, diabetes dan induksi artritis;serta galur *inbred* dan *zucker* (Sudrajat, 2008).

Karakteristik biologis pada *Rattus norvegicus* dijabarkan dalam tabel 2.2 berikut :

Tabel 2.2 Karakteristik biologis *Rattus norvegicus*

Karakter	Jumlah
Lama hidup (tahun)	2,5 – 3
Bobot sapih (g/ekor)	35 - 40
Bobot dewasa betina (g/ekor)	200 - 250
Suhu tubuh (°C)	37,5 °C
Konsumsi makanan (g/ekor/hari)	5
Konsumsi air minum (ml/ekor/hari)	8 - 11
Aktivitas	Nokturnal

Sumber : Kusumawati, 2014

2.5.2 Lingkungan hidup hewan coba

Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembapan. Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19° C – 23° C, sedangkan kelembapan 40 – 70 % (Wolfenshon dan Llyod, 2013). Selain itu kenyamanan kandang juga dapat berpengaruh untuk mengurangi bias, kandang harus cukup kuat, tidak mudah rusak, terbuat dari bahan yang mudah dibongkar, mudah dibersihkan dan mudah dipasang kembali. Kandang juga harus tahan gigitan dan hewan tidak mudah lepas, tetapi mudah diamati dari luar. Alas kandang dijaga selalu kering dan tidak

berbau untuk mencegah gangguan respirasi, serta alat – alat dalam kandang dibersihkan 1 – 2 kali/minggu.

2.5.3 Pengambilan spesimen hewan coba

Pengambilan sampel darah pada tikus dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu intrakardial, sinus orbitalis, ekor dan cara dekapitasi. Cara intrakardial untuk menghasilkan darah lebih banyak dan dalam waktu yang singkat tetapi teknik ini sulit dan membutuhkan operator yang berpengalaman karena mudah menyebabkan kematian. Pengambilan darah melalui sinus orbitalis mudah dan hanya membutuhkan sedikit peralatan. Pengambilan darah melalui ekor lebih mudah dan hanya membutuhkan sedikit peralatan dengan amputasi ujung ekor dan darah yang mengalir dapat dikumpulkan dalam jumlah yang cukup besar, terutama bila menggunakan alat *vaccum*. Namun kerugiannya adalah terjadi bekuan darah sebelum volume yang dibutuhkan terpenuhi atau bahkan darah tidak mengalir dari luka (Kusumawati, 2014).

Dekapitasi dapat dilakukan pada *rodentia* yang lebih kecil dengan menggunakan gunting besar dengan harapan darah akan mengalir dari leher yang terpotong dan selanjutnya dikumpulkan ke dalam tabung. Kerugiannya adalah darah yang diambil akan terkontaminasi dengan sekresi trakhea ataupun saliva, pengumpulan darah dilakukan hanya sekali saja dan tidak dapat diulang (Kusumawati, 2014).

2.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dalam penelitian ini adalah :

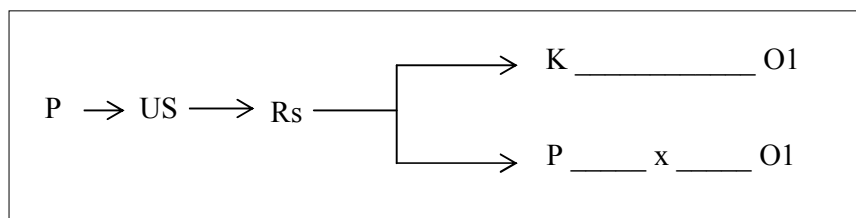
1. Stres kronis dapat meningkatkan kadar hormon kortikostteron pada *Rattus novergicus*
2. Stres kronis dapat menurunkan berat badan pada endometrium *Rattus novergicus*

BAB 3 METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental karena melakukan kegiatan percobaan menggunakan hewan coba tikus (*Rattus norvegicus*) betina yang diberikan perlakuan. Rancangan penelitian ini *True Eksperimental* dengan desain *Post Test Only Control Group*. Penelitian ini sebelumnya mendapatkan sertifikat kelaikan etik dari komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Rancangan penelitian ini dapat digambarkan dengan gambar 4.1 sebagai berikut:



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

Keterangan :

P = Populasi

x = Metode CUMS 20 hari

US = Unit Sampel

O = Setelah perlakuan

Rs = *Radomisasi*

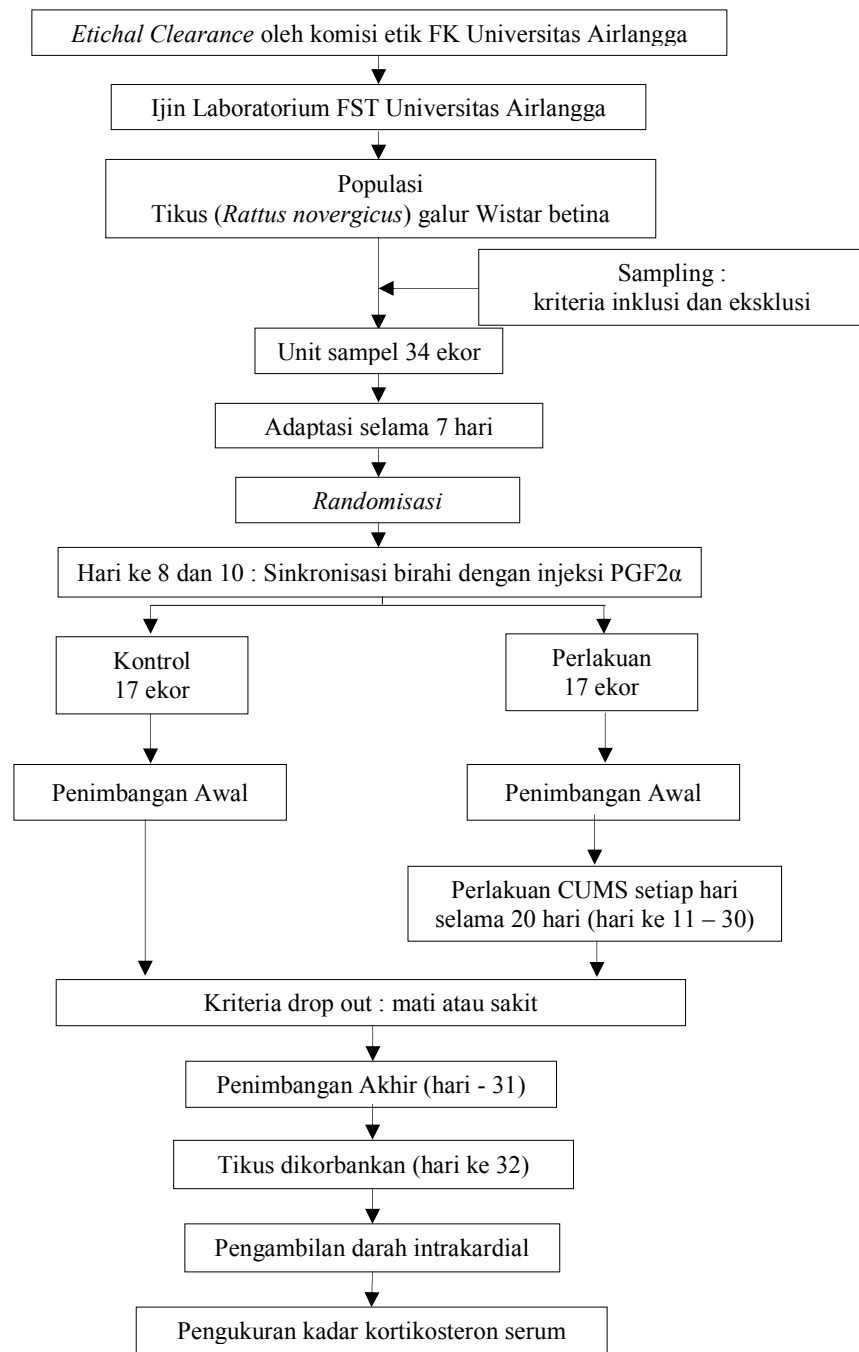
K : Kelompok perlakuan negatif atau kontrol negatif yakni tikus yang tidak diberi stresor

P : Kelompok perlakuan yakni tikus yang diberi stresor

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan perlakuan dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Selanjutnya pengumpulan data dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi , Laboratorium Departemen Biologi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan Laboratorium Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga pada Bulan April – Juni 2019.

3.3 Bagan Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

3.4 Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

3.4.1 Persiapan hewan coba

Seluruh tikus dilakukan adaptasi dan aklimatisasi selama tujuh hari di kandang percobaan Laboratorium Hewan Coba Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga minimal selama tujuh hari. Tikus ditempatkan di kandang dan berkoloni 2 – 3 ekor tikus dalam ruang penelitian yang sunyi, tenang dan berventilasi. Makan dan minum tikus dicatat setiap hari. Pencahayaan disesuaikan dengan cahaya luar pada pagi hari dan malam hari tanpa cahaya lampu. Tikus dijaga dari suasana yang membuat stres, terutama pada kelompok kontrol, maka tempat pemeliharaan untuk kelompok kontrol dibedakan dari kelompok perlakuan.

3.4.2 Sinkronisasi birahi

Sinkronisasi birahi dilakukan pada hari ke delapan dengan melakukan penyuntikan PGF2 α dengan dosis 25 μ g/g BB secara intraperitoneal. Tujuan dari sinkronisasi birahi yakni untuk penyamarataan dan mendapatkan fase diestrus pada saat dilakukan pembedahan.

3.4.3 Perlakuan dengan paparan stresor

Tikus dibagi menjadi dua kelompok secara acak, yakni kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Penandaan tikus dilakukan dengan membedakan kandangnya dan mewarnai rambut tikus dengan pewarna carmin sesuai lokasi penomoran. Perlakuan dilakukan pada hari ke-11 dengan metode CUMS selama 20 hari.

Berbagai jenis perlakuan yang diberikan tercantum dalam tabel 4.2 berikut :

Tabel 3.1 Berbagai stresor yang diberikan dengan metode CUMS

No	Perlakuan	Keterangan	Waktu Perlakuan (dalam sehari)
1.	Diikat ekornya dengan benang	Restraint	1 jam
2.	Immobilisasi dengan pipa paralon modifikasi		2 jam
3.	Ditusuk ekornya dengan jarum sepanjang \pm 2,5 cm	Nyeri	1 jam
4.	Berenang di air dingin	Termal	3 menit
5.	Isolasi di ruang sempit dan gelap	Sosial	24 jam
6.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>)		24 jam
7.	Benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm)		24 jam
8.	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	Cahaya	2 x 45 menit (pagi dan sore)

9.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	Kombinasi	24 jam 2 x 45 menit (pagi dan sore)
----	---	-----------	---

Sumber : Maramis, 2015; López-López *et.al*, 2016; Willy, 2016

Siklus pemberian perlakuan yang diberikan pada *Rattus norvegicus*, tercantum dalam tabel 4.3 berikut :

Tabel 3.2 Uraian perlakuan selama 20 hari

Hari ke-	Hari perlakuan	Stresor (waktu)	Hari ke-	Hari perlakuan	Stresor (waktu)
11	1	Benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm) (3jam)	22	12	Tanpa stresor
12	2	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) (24 jam)	23	13	Diikat ekornya dengan benang (1 jam)
13	3	Berenang di air dingin (3 menit)	24	14	Immobilisasi dengan <i>wire mesh restrainer</i> menggunakan pipa paralon yang telah dimodifikasi (2 jam)
14	4	Isolasi di ruang sempit dan gelap (24jam)	25	15	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) (24 jam)
15	5	Immobilisasi dengan <i>wire mesh restrainer</i> menggunakan pipa paralon yang telah dimodifikasi (2 jam)	26	16	Benda asing (bola plastik dengan diameter 10 cm) (3jam)
16	6	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari (45 menit)	27	17	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)
17	7	Tanpa stresor	28	18	Ditusuk ekornya dengan jarum sepanjang ± 2,5 cm (1 jam)
18	8	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus (<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	29	19	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt) dilakukan 2x sehari (45 menit)
19	9	Ditusuk ekornya dengan jarum sepanjang ± 2,5 cm (1 jam)	30	20	Berenang di air dingin (3 menit)
20	10	Isolasi di ruang sempit dan gelap (24jam)	31	-	Visualisasi vaginal plug dan Terminasi
21	11	Diikat ekornya dengan benang (1 jam)			

Perlakuan dengan metode CUMS dilakukan secara bersamaan pada seluruh tikus sesuai dengan hari yang tercantum pada tabel 3.2 dengan porsi dan jenis stresor yang sama.

3.4.4 Terminasi Sampel

Tikus dikorbankan 24 jam setelah perlakuan terakhir untuk menghindari efek stres akut. Tikus dikorbankan dengan pembiusan berlebih menggunakan eter. Metode ini dipilih daripada metode dislokasi os cervikalis karena sampel yang akan diambil adalah darah. Bila tikus dikorbankan dengan dislokasi os cervikalis, aliran darah seketika akan berhenti. Tikus yang telah mati ditandai dengan tanda : mata redup, reflek pupil negatif, dan denyut jantung negatif. Sesuai SOP Laboratorium Biologi Kedokteran Universitas Airlangga, sisa hewan coba pasca terminasi akan di kumpulkan dan di ambil oleh pihak ketiga.

3.4.5 Pengambilan spesimen darah

Pengambilan sampel darah yakni dengan mengambil dari jantung (intrakardial) menggunakan spuit ukuran 5 ml. Kemudian disimpan dalam tabung darah berlabel dan didiamkan selama 1 jam terlebih dahulu agar terpisah antara serum dan komponen darah lain. Apabila sampel tidak langsung diperiksa, disimpan dalam freezer dengan suhu 0 s.d -4 °C, sedangkan selama transportasi sampel harus disimpan di dalam termos bersuhu 4 °C.

3.4.6 Pemeriksaan kadar kortikosteron serum dengan metode ELISA

Pemeriksaan kadar kortikosteron serum menggunakan darah yang diambil secara intrakardial. Sampel darah yang didapatkan kemudian di sentrifugasi dingin (4°C) dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 – 15 menit. Serum yang telah terpisah dipindahkan ke dalam tabung eppendorf berlabel untuk dilakukan pemeriksaan dengan metode ELISA di Laboratorium Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga.

3.4.7 Pemeriksaan Berat Badan

Berat badan diukur menggunakan timbangan digital yang memiliki akurasi hingga 10^{-2} gram. Pengukuran berat badan semua kelompok penelitian dilakukan 2 kali selama penelitian dilakukan. Pengukuran dilakukan pada hari pertama penelitian, dan pengukuran kedua dilakukan menjelang terminasi.

3.4.8 Pengolahan Data

Setelah pengambilan data selesai, data yang diperoleh diolah dengan cara :

1. *Editing dan coding*

Pada tahap ini dilakukan pemeriksaan terhadap kelengkapan data, kesinambungan dan kesesuaian data hasil penelitian.

2. *Entry*

Tahap selanjutnya yakni memasukan data yang telah diperoleh ke dalam master tabel atau database komputer.

3. *Tabulating*

Data yang telah dikumpulkan dianalisis dan diinterpretasikan dalam bentuk grafik dan tabel sehingga dapat diketahui pengaruh stres kronis peningkatan kortikosteron dan perubahan bert badan.

4. *Analisis Data*

Analisis data menggunakan komputerisasi yaitu menggunakan program SPSS 21. Data yang diperoleh terlebih dahulu diuji normalitas dengan uji *Kolmogoroff-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, *Independent T-Test*.

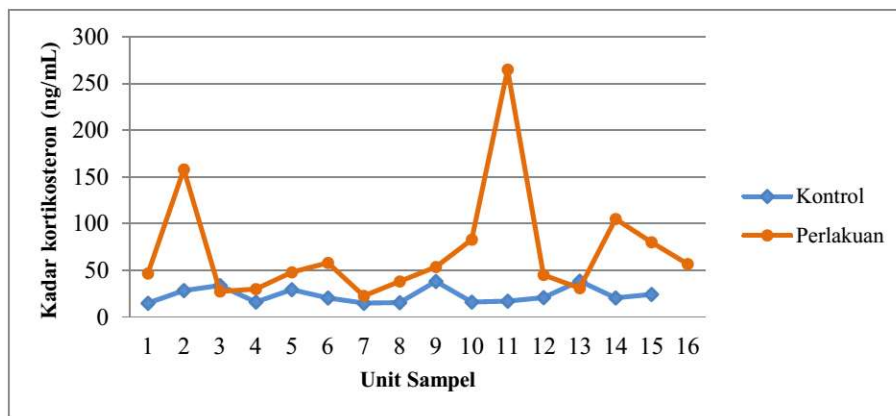
BAB 4 HASIL DAN ANALISIS PENELITIAN

4.1 Karakteristik *Rattus norvegicus* secara umum

Subyek penelitian dalam penelitian ini adalah 34 ekor *Rattus norvegicus* yang terbagi menjadi dua kelompok, yakni kelompok kontrol (17 ekor) dan perlakuan (17 ekor). Pada kelompok kontrol didapatkan 2 unit sampel yang pada pemeriksaan ELISA tidak terdeteksi kadar kortikosteron sehingga dilakukan eksklusi. Pada kelompok perlakuan, terdapat satu ekor *Rattus norvegicus* drop out karena mati sebelum perlakuan selesai diberikan. Sehingga, jumlah akhir unit sampel masing – masing kelompok kontrol adalah 15 ekor dan kelompok perlakuan 16 ekor. Jumlah tersebut sesuai dengan jumlah sampel minimal dalam penelitian ini (15 ekor).

4.2 Kadar Kortikosteron

Pengukuran kadar hormon kortikosteron dengan metode *Enzyme Linked Immunoassay* (ELISA). Kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor dapat dilihat dalam gambar 4.1 dan tabel 4.1 berikut :



Gambar 4.1 Kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Berdasarkan gambar 4.1 dapat diketahui bahwa pada kelompok perlakuan memiliki kadar kortikosteron serum lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol.

Tabel 4.1 Rerata dan standar deviasi kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok	n	Mean ± SD (ng/mL)	Minimal (ng/mL)	Maksimal (ng/mL)
K Kontrol	15	23.29 ± 8.42	15.004	38.604
P Perlakuan	16	72.84 ± 64.03	22.700	264.949

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa hasil rerata kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor pada kelompok perlakuan (72.84 ± 64.03) lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (23.29 ± 8.42).

Tabel 4.2 Hasil uji normalitas dan uji beda kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stressor

Kelompok	n	Shapiro-Wilk	Uji Mann Whitney
		Nilai p	Nilai p
K Kontrol	15	0.024	
P Perlakuan	16	0.000	0.000*

* Berbeda bermakna $p < 0.05$

Berdasarkan tabel 4.2 diketahui bahwa hasil uji normalitas kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stressor, berdistribusi tidak normal baik pada kelompok kontrol ($p = 0.024$, $p > 0.05$) maupun kelompok perlakuan ($p = 0.000$, $p > 0.05$). Analisis statistik untuk mencari perbedaan dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann Whitney*. Hasil dari uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan bermakna antara kadar hormon kortikosteron serum *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$).

4.3 Perubahan berat badan *Rattus norvegicus*

Berat badan diukur menggunakan timbangan digital yang memiliki akurasi hingga 10^{-2} gram. Pengukuran berat badan semua kelompok penelitian dilakukan 2 kali selama penelitian dilakukan. Pengukuran dilakukan pada hari pertama penelitian, dan pengukuran kedua dilakukan menjelang terminasi. Data berat badan unit sampel sebelum dan setelah penelitian di tunjukkan dalam tabel 4.3 berikut :

Tabel 4.3 Karakteristik sampel *Rattus norvegicus* berdasarkan rerata berat badan sebelum dan setelah pemberian stresor

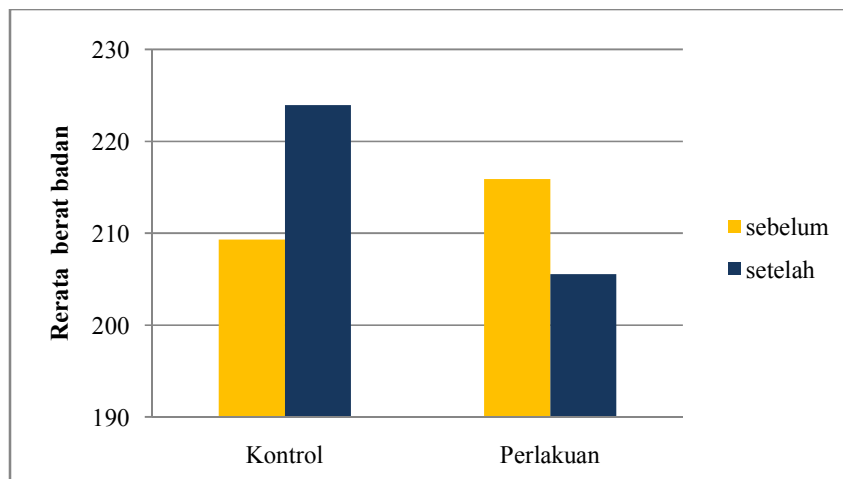
Kelompok	n	Sebelum perlakuan (g)	Setelah perlakuan (g)
		Mean ± SD	Mean ± SD
Kontrol	15	209.31 ± 15.47	223.93 ± 18.58
Perlakuan	16	215.88 ± 15.99	205.54 ± 14.21

Tabel 4.3 menunjukkan rerata berat badan *Rattus norvegicus* sebelum dan setelah pemberian stresor selama 20 hari. Sebelum perlakuan dimulai diketahui rerata berat badan hewan coba pada kelompok perlakuan (215.88 ± 15.99) lebih berat daripada kelompok kontrol (209.31 ± 15.47). Setelah pemberian stresor diberikan selama 20 hari didapatkan rerata berat badan hewan coba pada kelompok kontrol (223.93 ± 18.58) lebih berat daripada kelompok perlakuan (205.54 ± 14.21).

Perubahan berat badan sebelum dan setelah pemberian stresor diberikan selama 20 hari dapat dilihat pada gambar 4.2. Pada kelompok kontrol terlihat semua *Rattus norvegicus* mengalami peningkatan berat badan dengan nilai yang bervariasi. Pada kelompok perlakuan terlihat lebih banyak *Rattus norvegicus* yang mengalami penurunan berat badan.

Tabel 4.4 Rerata perubahan berat badan *Rattus norvegicus* badan sebelum dan setelah pemberian stresor

Kelompok	n	Mean ± SD (ng/mL)	Minimal (ng/mL)	Maksimal (ng/mL)
K Kontrol	15	14.62 ± 4.98	6.98	23.45
P Perlakuan	16	-10.33 ± 11.24	-25.33	7.50



Gambar 4.2 Rerata berat badan *Rattus norvegicus* pada kelompok kontrol dan perlakuan sebelum dan setelah pemberian stresor 20 hari

Berdasarkan tabel 4.2 diketahui bahwa hasil rerata perubahan berat badan *Rattus norvegicus* sebelum dan setelah setelah 20 hari pemberian stresor pada kelompok kontrol (14.62 ± 4.98) lebih tinggi di bandingkan kelompok perlakuan (-10.33 ± 11.24). Kelompok kontrol mengalami peningkatan berat badan paling banyak sebesar 23.45 gram dan kelompok perlakuan hanya mengalami peningkatan berat badan paling besar 7.50 gram. Kelompok perlakuan di ketahui terjadi penurunan berat badan hingga 25.33 gram.

Tabel 4.5 Hasil uji normalitas dan uji beda perubahan berat badan *Rattus norvegicus* setelah 20 hari pemberian stresor

Kelompok		n	<i>Shapiro-Wilk</i> Nilai p	Uji <i>Independent T-test</i> Nilai p
K	Kontrol	15	0.538	0.000
P	Perlakuan	16	0.393	

Uji normalitas dilakukan terlebih dahulu menggunakan *Shapiro Wilk* dengan hasil semua data berdistribusi normal ($p>0.05$). Pada perubahan berat badan *Rattus norvegicus* dilakukan uji statistik *Independent t-test* menunjukkan $p=0.000$ ($p<0.05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan perlakuan. Berdasarkan tabel 4.5 dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan mengalami penurunan berat badan setelah mendapatkan pemberian stresor 20 hari.

BAB 5

PEMBAHASAN

5.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian studi eksperimental laboratorium ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh kadar kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus* akibat stres kronis terhadap perubahan berat badan. Metode *Chronic Unpredictable Stress* (CUMS) dilakukan untuk mendapatkan kondisi stres kronis pada sampel.

Selama penelitian didapati satu ekor *Rattus norvegicus* mati di kelompok perlakuan. Kematian *Rattus norvegicus* terjadi pada hari ke 16 diberikannya perlakuan. Setelah dilakukan pemeriksaan kadar kortikosteron serum menggunakan metode ELISA di dapatkan 2 sampel pada kelompok kontrol tidak terdeteksi sehingga dilakukan eksklusi.

5.2 Peningkatan Kadar Kortikosteron

Kadar kortikosteron antara kedua kelompok terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p = 0.000$ ($p < 0.05$) dimana kadar kortikosteron kelompok perlakuan lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan Zhao (2013) dimana ditemukan adanya peningkatan signifikan pada kadar kortikosteron tikus setelah 8 jam inisiasi restrain stres. Wang (2019) dalam penelitiannya pada model tikus stres akut menemukan peningkatan secara signifikan konsentrasi kortikosteron serum. Ditemukan juga adanya penurunan secara signifikan FSH, LH, progesteron dalam serum. Shafiei (2017) dalam penelitiannya menemukan adanya penurunan FSH dan LH dan peningkatan kortikosteron, pada tikus betina dewasa yang terpapar dengan stres kebisingan, pada kelompok eksperimen dibandingkan dengan kelompok kontrol. Stres kebisingan dapat mengurangi gonadotropin dan hormon seks pada waktu implantasi.

Stres kronis meningkatkan sintesis dan sekresi glukokortikoid (kortisol pada manusia dan kortikosteron pada hewan pengerat). Peningkatan glukokortikoid adalah biomarker untuk stres dan gangguan depresi (Joseph, 2017). Kortikosteron

merupakan hormon glukokortikoid yang dominan pada hewan pengerat, sama halnya seperti kortisol pada manusia (Guillemin *et.al*, dalam Guyton, 2016).

Dalam kondisi normal, glukokortikoid akan memberikan *negative feedback* dengan menekan sekresi CRH untuk mencegah respon stres yang berlebihan, namun hal ini tidak terjadi pada stres kronis dimana terjadi aktivitas HPA aksis secara terus menerus (Lopez-Lopez *et al*, 2016). Peningkatan glukokortikoid ini juga memengaruhi HPO aksis secara langsung dengan melepas pelepasan GnRH dari hipotalamus dan menekan pelepasan hormon gonadotropin dari hipofisis yang dapat mengganggu berbagai mekanisme yang terjadi di ovarium sehingga dapat mengarah ke gangguan reproduksi (Whirledge dan Cidlowski, 2017).

Terdapat banyak teori yang menyajikan mekanisme stres kronis terhadap perubahan fungsi reproduksi. Selain karena aktivitas CRH dan glukokortikoid, yang akan dibahas berikutnya bersama pengaruh terhadap hormon gonadotropin, siklus sirkadian yang terganggu turut menjadi mekanisme yang digunakan dalam penelitian ini. Unit sampel dalam penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* yang merupakan hewan nokturnal (Kusumawati, 2014), sedangkan seluruh kegiatan perlakuan dilakukan pada pagi – siang hari sehingga merubah siklus sirkadian *Rattus norvegicus*. Pada penelitian ini, hewan coba dibiarkan terjaga selama perlakuan. Perlakuan dimulai pukul 09.00 pagi dan lama dari perlakuan bervariasi. Gangguan pola tidur yang diberlakukan pada hewan coba menyebabkan gangguan irama sirkadian pada pusat pengaturan irama sirkadian yang ada di hipotalamus yaitu *Supra Chiasmatic Nucleus* (SCN). Irama sirkadian adalah jam biologis tubuh selama 24 jam dalam sehari. Sistem ini mengatur sekresi hormon, dan proses fisiologis salah satunya siklus tidur terjaga (Zee, 2013). Hawari (2016) menyatakan bahwa gangguan pola tidur yang tidak di upayakan penanggulangannya akan jatuh pada kondisi stres psikososial. Selain stres fisik yang diberikan, perubahan irama sirkadian juga memberikan dampak stres psikologis pada hewan coba sehingga memperparah stres yang ada. Menurut Gamble *et al* (2013), siklus sirkadian merupakan bagian pengaturan integral dari sistem reproduksi, ketika program 24 jam ini tidak teratur maka sistem endokrin dapat terganggu. Tingginya kadar kortikosteron pada *Rattus norvegicus* dalam penelitian ini sejalan dengan penelitian Lopez-Lopes *et al.*, (2016) yang

menyatakan bahwa CUMS dapat meningkatkan kadar kortikosteron dengan minimal pemberian perlakuan selama 20 hari.

Pemberian treatment kortikosteron pada tikus menyebabkan hilangnya ekspresi KISS 1 di hipotalamus selama lonjakan LH yang menginduksi estradiol dan penurunan fungsi neuron KISS 1. Glukokortikoid, yakni kortisol dan deksametason, juga telah terbukti menurunkan kadar LH induksi *steroidogenic acute regulatory protein* (StAR) dan kadar progesteron pada sel granulosa tikus dan manusia. Perbedaan ini mencerminkan perbedaan dosis dalam tiap tahap perkembangan folikel. Peningkatan kadar glukokortikoid karena stres restrain merusak potensi perkembangan oosit pada evaluasi penelitian *ex vivo* (Whirledge dan Cidlowski, 2017). Glukokortikoid melalui pembuluh darah perifer masuk ke jaringan ovarium dan berikatan dengan CBP yang ada di dalam folikel. Selanjutnya merangsang berbagai mekanisme termasuk efek langsung steroidogenesis yang mempengaruhi kualitas oosit (Setiyono, 2015; da Costa *et al.*, 2017). Glukokortikoid secara diferensial menginduksi dan menekan steroidogenesis di ovarium. Penurunan kadar progesteron akibat tingginya kadar glukokortikoid pada akhirnya akan berdampak negatif pada perkembangan endometrium.

Stres berdampak pada poros reproduksi pada tingkat hipotalamus dan kelenjar hipofisis diatur oleh poros hipotalamus-hipofisis-ovarium (HPO). Pada penelitian yang dilakukan Wang (2019) tentang dampak stimulasi kortikosteron akibat stres akut pada pelepasan progesteron dan kerusakan endometrium menemukan bahwa stres akut mengakibatkan disintegrasi pada endometrium. Konsentrasi kortikosteron dalam serum meningkat secara signifikan karena stres akut dan FSH, LH serta kadar progesteron dalam serum menurun secara signifikan. Pemeriksaan histologi endometrium menunjukkan bahwa implan progesteron dapat menyelamatkan penurunan progesteron yang disebabkan oleh stres akut dan memblokir kerusakan endometrium. PCR *real-time* dan *western blot* menunjukkan bahwa mRNA dan ekspresi protein CYP11A1 (sitokrom P450, keluarga 11, subfamili A, polipeptida 1) dan protein regulator akut steroidogenik (StAR) yang merupakan dua enzim pembatas laju untuk sintesis progesteron dalam ovarium menurun setelah stres akut. Secara keseluruhan penelitian ini

mengungkapkan bahwa stres akut menghasilkan peningkatan kortikosteron, yang dapat menghambat pelepasan LH dan FSH dalam serum dan ekspresi CYP11A1 dan StAR di ovarium, yang akhirnya mengarah pada kerusakan endometrium.

Stres juga mengganggu siklus ovarium. Stres memunculkan aktivasi aksis hipotalamus-hipofisis-adrenal (HPA) yang mengarah pada peningkatan sirkulasi glukokortikoid serta gangguan sekresi gonadotropin dan siklus ovarium. Sebuah studi menguji peningkatan glukokortikoid akibat stres mengganggu siklus ovarium dengan mengganggu urutan preovulasi kejadian endokrin yang diperlukan untuk lonjakan LH menemukan bahwa kortikosteron menahan siklus diestrus. Analisis hibridisasi *in situ* nukleus periventrrikular anteroventral mengungkapkan bahwa kortikosteron dengan kuat menekan persentase sel KISS1 dan jumlah KISS1 mRNA per sel dibandingkan dengan ekspresi pada kontrol. Kortikosteron menumpulkan ekspresi hipofisis dari gen yang mengkode reseptor GnRH dan LH β , menunjukkan penghambatan gonadotrop selama penyumbatan lonjakan LH. Peningkatan kortikosteron mengganggu siklus ovarium melalui gangguan mekanisme umpan balik positif pada tingkat hipotalamus dan hipofisis yang diperlukan untuk menghasilkan lonjakan LH preovulasi (Luo, 2015).

5.3 Perubahan Berat Badan

Perubahan berat badan dan kenaikan hormon kortikosteron digunakan sebagai parameter unit sampel penelitian telah mengalami stres kronis. Rerata perubahan berat badan selama perlakuan pada kelompok perlakuan yang mendapatkan paparan CUMS selama 20 hari berbeda signifikan dengan kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan tampak kecenderungan mengalami penurunan berat badan selama penelitian. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Cordero (2019), dimana hasil penelitian pada kelompok CUMS mengalami penurunan berat badan dibanding kelompok kontrol.

Jeong (2013) dalam penelitiannya mendapatkan hasil yang serupa dengan penelitian ini. Jeong mendapatkan hasil bahwa stres mempengaruhi berat badan dan asupan makanan pada tikus. Pengurangan berat badan pada tikus yang mengalami restrain stres disebabkan oleh pengurangan asupan makanan harian pada awal penelitian melalui modifikasi gen yang mengatur asupan makanan.

Perbedaan berat badan secara berkelanjutan antara kelompok restrain stres dan kontrol dimungkinkan karena adanya pengaruh dari ekspresi gen dan regulasi respon tubuh terhadap stress melalui regulasi hormone kortikosteron (Jeong, 2013). Pada penelitian lainnya yang dilakukan Torres (2019) menunjukkan adanya hubungan antara stres kronis dan gangguan makan. Ditemukan adanya perbedaan aktifitas saluran cerna antara tikus yang dipapar stressor kejut listrik dengan tikus yang tidak di papar. Ukuran kotoran menunjukkan bahwa tikus yang dikejutkan memiliki volume kotoran yang lebih banyak daripada tikus kontrol.

Perubahan berat badan merupakan salah satu bentuk perubahan sistem tubuh yang semula normal, saat ini menjadi terganggu. Stres dapat berkontribusi dalam perubahan perilaku makan yang menyebabkan perubahan berat badan. Kondisi ini menyebabkan adanya dua kemungkinan dalam perubahan berat badan saat stres. Masing-masing individu mempunyai respon yang berbeda terhadap stres. Penurunan berat badan dihubungkan dengan peningkatan hormon glukokortikoid yang mempengaruhi pembakaran pada lemak coklat, sehingga kalori dapat terbakar (Symonds, 2016). Paparan berulang terhadap stressor dapat membawa beberapa gangguan fisiologis dan perilaku, gangguan metabolisme dan makan (Torres, 2019).

Saat stres hormon kortikosteron akan menggeser keseimbangan metabolisme tubuh melalui proses katabolik. Tubuh menghadapi stres dengan cara meningkatkan ketersediaan gula dalam darah melalui glikolisis dan glukoneogenesis. Pemecahan lemak (lipolisis) dibutuhkan sebagai bahan baku untuk glukoneogenesis. Lipolisis meningkatkan mobilisasi asam lemak dari jaringan lemak. Adanya peningkatan proses oksidasi asam lemak dalam sel akan mengurangi pengangkutan glukosa yang dibutuhkan untuk penyimpanan dan mempertahankan jumlah trigliserida di dalam sel-sel lemak. Jika bahan ini tidak ada, maka sel-sel lemak akan mulai melepaskan asam lemaknya. Adanya pemecahan cadangan asam lemak di dalam tubuh menyebabkan berat badan berkurang (Kyrou, 2009).

Tetapi menurut Harding *et al.*(2014) stres psikososial berhubungan positif dengan kenaikan berat badan tetapi bukan penurunan berat badan. Efek stres psikologis secara kronis lebih bervariasi, Harris (2015) berasumsi diperlukan studi

lebih lanjut mengenai perbedaan fenotip antara manusia dan hewan coba dalam merespon stres kronik dan akut.

BAB 6

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian peningkatan kadar kortikosteron serum akibat stres kronis dengan pemberian stressor metode CUMS selama 20 hari pada *Rattus norvegicus* untuk mengetahui efek pada perubahan berat badan disimpulkan :

1. Stres kronis dapat meningkatkan kadar hormon kortikosteron pada serum *Rattus norvegicus*
2. Peningkatan kadar hormon kortikosteron dapat menurunkan berat badan *Rattus norvegicus*

6.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih mendalam mengenai dampak stres kronis dengan metode CUMS terhadap perubahan berat badan dalam merespon stres kronik dan akut.
2. Stres dalam kehidupan sehari – hari memang tidak dapat dihindari, sehingga diperlukan manajemen stres untuk mencegah dampak negatif. Diharapkan adanya manajemen stres yang komprehensif di pusat pelayanan kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Cordero, AS, A Salas B, J Fornaguera, JC Brenes, 2019. Behavioural characterisation of chronic unpredictable stress based on ethologically relevant paradigms in rats. *Scientific Reports*. 9 : 17403.
- Da Costa, N. N., Karynne N. L. B, 2016. 'Effect of cortisol on bovine oocyte maturation and embryo development in vitro'. *Theriogenology*.85 : 323 – 329
- Gong, S, Miao, Y. L, Jialoo, G. Z, Sun, M. J, Li, H, Li, J., 2015. 'Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice'. *PLOS ONE*. 20 : 1 – 14.
- Gong, S, Miao, Y. L, Jialoo, G. Z, Sun, M. J, Li, H, Li, J., 2015. 'Dynamics and correlation of serum cortisol and corticosterone under different physiological or stressful conditions in mice'. *PLOS ONE*. 20 : 1 – 14.
- Gusty, R. P., 2005. *Efek Pemberian Epinefrin Berulang Dosis Terapeutik Maksimal Terhadap Jumlah Folikel Ovarium Mencit Betina (Mus Musculus)* [Tesis]. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Hall, J. E. 1., 2016. *Guyton and Hall textbook of medical physiology* 13th edition. Philadelphia, PA: Elsevier.
- Harding, JL, Kathryn B, Emily DW, Anna P, Adrian JC, 2014. Psychosocial stress is positively associated with body mass index gain over 5 years: evidence from the longitudinal AusDiab study. *Obesity*. 22 : 277-286.
- Harris, RA, Patricia AJ, Deirdre AK, Rachel MA, Mark TG, 2015. Promoting Stress Management and Wellbeing in Educators: Feasibility and Efficacy of a School-Based Yoga and Mindfulness Intervention. *Mindfulness*. 7: 143-154.
- Hawari, D. 2016. *Manajemen Stres Cemas dan Depresi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Jaime, HP, Benitez CV, Jimenez RG, Hernandez HOT, Martinez ML, 2016. Young-Adult Male Rats' Vulnerability to Chronic Mild Stress Is Reflected by Anxious-Like instead of Depressive-Like Behaviors. *Neuroscience Journal*. 2016 : 12.
- Jeong, JY, Dong HL, Sang SK, 2013. Effect of chronic restrain stress on body weight, food intake, and hypothalamic gene expressions in mice. *Endocrinology and Metabolism*. 28 (4) : 288-296.
- Joseph, D. N., Shannon, W, 2017. 'Stress and the HPA axis: balancing homeostasis and fertility'. *Molecular Science*. 18 : 2224-2239.

- Joseph, D. N., Shannon, W., 2017. 'Stress and the HPA axis: balancing homeostasis and fertility'. *Molecular Science*. 18 : 2224-2239.
- Krohne, H.W. 2002. 'Stress and coping theories In : N. J. Smelser and P. B. Baltes (Ed)'. *The International Encyclopedia of The Social and Behavioural Sciences*. Elsevier. Oxford.
- Kusumawati, D., 2014. *Bersahabat dengan Hewan Coba Edisi Keempat*. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Kyrou, Ioannis, Constantine T., 2009. Stress hormones: physiological stress and regulation of metabolism. *Current Opinion in Pharmacology*. 9 [6] : 787-793.
- Le Fevre, M., Matheny, J., Kolt, G., 2003. 'Eustress, distress, and intrepitation in occupational stress'. *Managing Psychology*. 18 [7] : 726 – 744.
- López-López, A. L., Herlinda B. J., María, D. C. E. V., Mailinalli, B. P., Gonzalo V. P., Fransisco, J. A. A., 2016. 'Chronic unpredictable mild stress generates oxidative stress and systemic inflammation in rats'. *Physiology & Behavior*. 161 : 15-23
- Maramis, M. M., 2015. *Mekanisme Gangguan Fungsi Memori Kerja Spasial dan Fleksibilitas Kognitif Melalui HSP70, IL-6,5-HT,BDNF dan pCREB Pada Model Tikus Putih (Rattus norvegicus) Depresi* [Disertasi]. Program Pascasarjana Universitas Airlangga. Surabaya.
- Pagadala, P, Vnutha S, Karthiyanee K, 2019. Feeding behaviour and its association with stress: a review. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*. 3 : 1-5.
- Putri, A. B. R., 2018. *Pengaruh stres kronis terhadap ekspresi bone morpholenetic Protein-15 (BMP-15) dan apoptosis sel granulosa folikel antral pada Rattus norvegicus* [Tesis]. Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Salari, N, Amin HF, Rostam J, Aliakbar VR, 2020. Prevalence of stress, anxiety, depression among the general population during the COVID-19 pandemic: a systematic review and meta-analysis. *Globalization and Health*. 16 : 57.
- Scarlet, D., Ille, R., Ertl, B.G., Alves, G.D.A., Gastal, S.O., 2017. 'Glucocorticoid metabolism in equine follicles and oocytes'. *Domestic Animal Endocrinology*. 59 : 11 – 12.
- Senanayake, GB, Carukshi A, 2019. Understanding chronic stress : a narrative review of literature. *Journal of the College of Community Physicians of Sri Lanka*. 25 (1).
- Symonds, J., Hargreaves L, 2016. Emotional and Motivational Engagement at School Transition: A Qualitative Stage Environment Fit Study. *Journal of Early Adolescence*. 36 : 54-85.

- Taliaz, D., Assaf, L., Roman G., Sharon, H., 2011. 'Resilience to chronic stress is mediated by hippocampal brain-derived neurotrophic factor'. *The Journal of Neuroscience*. 31 [12] : 4475 – 4483.
- Tee, ML, Cherica AT, Joseph PA, Katrina JGA, 2020. Psychological impact of COVID-19 pandemic in the Philippines. *Journal of Affective Disorders*. 277 : 379-391.
- Torres, MLG, Cristiano VS, 2019. Uncontrollable chronic stress affects eating behavior in rat. *The International on the Biology Stress*. 22 : 501-508.
- Wang, C, Riyu P, Xiaoyang W, Yilin T, 2020. A longitudinal study on the mental health of general population during the COVID-19 epidemic in China. *Brain, Behavior, and Immunity*. 87 : 40-48.
- Whirledge, S., Dana N. J. 2017. 'Stress and the HPA axis : balancing homeostasis and fertility'. *International Journal of Molecular Science*. 18 [2224].
- Whirledge, S., John, A. C., 2010. 'Glucocorticoids, stress, and fertility'. *National Institute of Health. Minerva endocrinol*. 35[2]:109-25.
- Willy, R., 2016. *Pengaruh Frekuensi Paparan Stresor Cahaya Saat Kebuntingan Terhadap Jumlah dan Indeks Apoptosis Sel Neuron Otak Mencit (Mus musculus) Baru Lahir* [Tesis]. Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Willy, R., 2016. *Pengaruh Frekuensi Paparan Stresor Cahaya Saat Kebuntingan Terhadap Jumlah dan Indeks Apoptosis Sel Neuron Otak Mencit (Mus musculus) Baru Lahir* [Tesis]. Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Universitas Airlangga. Surabaya.
- Wolfenshon & Lloyd. 2013. *Handbook of laboratory animal management and welfare*, 4th ed. Sussex : Wiley-Blackwell.
- Yaribeygi, H., Yunes P, Hedayat S, Thomas PJ, Amirhossein S, 2017. The impact of stress on body function : A review. *Experimental and Clinical Sciences*. 16 : 1057-1072.
- Zee, PC, Hrayr Attarian, Aleksandar Videnovic, 2013. Circadian Rhythm Abnormalities. *Continuum (Minneapolis)*. 19 : 132-147.

Lampiran 1

HASIL ANALISIS STATISTIK

ANALISIS KADAR KORTIKOSTERON SERUM

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Perlakuan	15	93.8%	1	6.3%	16	100.0%
Kontrol	15	93.8%	1	6.3%	16	100.0%

Descriptives

		Statistic	Std. Error	
Perlakuan	Mean	72.84273	16.533445	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	37.38202	
		Upper Bound	108.30345	
	5% Trimmed Mean	64.95587		
	Median	47.91500		
	Variance	4100.322		
	Std. Deviation	64.033758		
	Minimum	22.700		
	Maximum	264.949		
	Range	242.249		
	Interquartile Range	51.881		
	Skewness	2.282	.580	
	Kurtosis	5.618	1.121	
Kontrol	Mean	23.29833	2.176524	
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	18.63015	
		Upper Bound	27.96651	
	5% Trimmed Mean	22.90881		
	Median	20.61300		
	Variance	71.059		
	Std. Deviation	8.429640		
	Minimum	15.004		
	Maximum	38.604		
	Range	23.600		
	Interquartile Range	13.279		
	Skewness	.801	.580	
	Kurtosis	-.714	1.121	

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Perlakuan	.258	15	.008	.722	15	.000
Kontrol	.207	15	.084	.860	15	.024

a. Lilliefors Significance Correction

Mann-Whitney Test

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
kortikosteron	kontrol	15	9.23	138.50
	perlakuan	16	22.34	357.50
	Total	31		

Test Statistics^a

	kortikosteron
Mann-Whitney U	18.500
Wilcoxon W	138.500
Z	-4.013
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^b

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

ANALISIS RERATA PERUBAHAN BERAT BADAN *Rattus norvegicus*

Case Processing Summary

	Kelompok	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
perubahanBB	kontrol	15	100.0%	0	0.0%	15	100.0%
	perlakuan	16	100.0%	0	0.0%	16	100.0%

Descriptives

	Kelompok	Statistic	Std. Error	
perubahanBB	kontrol	Mean	14.6213	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	11.8621
			Upper Bound	17.3806
		5% Trimmed Mean	14.5554	
		Median	15.1400	

		Variance	24.826		
		Std. Deviation	4.98259		
		Minimum	6.98		
		Maximum	23.45		
		Range	16.47		
		Interquartile Range	8.76		
		Skewness	-.137	.580	
		Kurtosis	-.756	1.121	
	perlakuan	Mean	-13.2925	2.06515	
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	-17.6943	
			Upper Bound	-8.8907	
		5% Trimmed Mean	-13.4650		
		Median	-14.8300		
		Variance	68.237		
		Std. Deviation	8.26059		
		Minimum	-25.33		
		Maximum	1.85		
		Range	27.18		
		Interquartile Range	13.28		
		Skewness	.493	.564	
		Kurtosis	-.794	1.091	

Tests of Normality

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perubahanBB	kontrol	.119	15	.200*	.951	15	.538
	perlakuan	.175	16	.200*	.943	16	.393

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

T-Test

Group Statistics

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
perubahanBB	kontrol	15	14.6213	4.98259	1.28650
	perlakuan	16	-13.2925	8.26059	2.06515



Independent Samples Test




	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means
--	---	------------------------------

		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
perubahan BB	Equal variances assumed	5.115	.031	11.295	29	.000	27.91383	2.47124	22.85958	32.96809
	Equal variances not assumed			11.473	24.886	.000	27.91383	2.43309	22.90163	32.92604



Lampiran 2


DOKUMENTASI PENELITIAN

No.	Jenis Perlakuan	Intensitas dan Durasi	Waktu	Operasional
1.	Diberi benda asing pada kandang	24 jam (pukul 09.00-09.00)		<p>Setiap kandang diberi 2 buah bola plastik dengan diameter 10cm.</p> 
2.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 – 6 ekor tikus (<i>overcrowding</i>)	24 jam (pukul 09.00 – 09.00)		<p>Kandang dengan ukuran standar diisi 5 – 6 ekor tikus. Jumlah pakan dan botol minum disesuaikan dengan jumlah tikus yang ada dalam 1 kandang.</p> 
3.	Berenang di air dingin	1 x sehari selama 3 menit	Pagi hari (pukul	Air ditampung dalam ember ukuran sedang dan menggunakan air PDAM yang diberi es kering dengan suhu 4°C. ketinggian air ± 10 cm dari dasar

			09.00)	<p>ember, diperkirakan setinggi dada – leher tikus saat ia berusaha berdiri.</p> 
4.	Isolasi di ruang sempit dan gelap	24 jam (pukul 09.00 – 09.00)		<p>Kandang ukuran standar diberi sekat dari kayu tripleks sehingga menjadi 4 ruang. Pada masing – masing ruang diisi 1 ekor tikus. Kandang tersebut di tutup menggunakan kardus tebal untuk mendapatkan efek gelap. Jumlah pakan dan botol minum disesuaikan untuk perekor.</p>  

5.	Imobilisasi	1 x sehari selama 2 jam	Pagi hari (pukul 09.00)	<p>Setiap satu ekor tikus dimasukkan ke dalam <i>wire mesh restrainer</i> yang dimodifikasi (pipa paralon yang diberi lubang udara dan kedua ujungnya di tutup kassa kawat). Ukuran paralon yang digunakan adalah 1 ½ dim, yang diperkirakan sesuai dengan ukuran tubuh tikus sehingga tikus tidak dapat berputar, maju dan mundur.</p> 
6.	Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)	2x sehari selama 45 menit	Pagi (pukul 09.00) dan sore (pukul 15.30)	<p>Lampu LED berkekuatan 4 watt yang diletakkan pada lampu duduk diatur dengan ketinggian 30 cm dan disorotkan ke kandang rattus. Kandang standar berisi 2 – 3 ekor tikus.</p> 
7.	Dipadatkan dalam satu kandang berisi 5 ekor tikus	2x sehari selama 45 menit	Pagi (pukul 09.00) dan	<p>Lampu LED berkekuatan 4 watt yang diletakkan pada lampu duduk diatur dengan ketinggian 30 cm dan disorotkan ke kandang rattus. Kandang dengan ukuran standar diisi 5 – 6 ekor tikus. Jumlah pakan</p>

	(<i>overcrowding</i>) dan Paparan sinar terang 300 – 400 lux (4 watt)		sore (pukul 15.30)	dan botol minum disesuaikan dengan jumlah tikus yang ada dalam 1 kandang. 
8.	Ditusuk ekornya dengan jarum	1 x sehari selama 1 jam	Pagi hari (pkl. 09.00)	Ekor tikus ditusuk menggunakan jarum sepanjang ± 2,5 cm. 

9.	Diikat ekornya dengan benang	1 x sehari selama 1 jam	Pagi hari (pkl. 09.00)	<p>Ekor tikus diikat di 1/3 bagian panjang ekor dari pangkal. Pengikatan dilakukan dengan kuat tanpa mengganggu vaskularisasi ekor tikus. Apabila ekor tampak kebiruan, maka ikatan akan dilonggarkan atau dilepaskan terlebih dahulu. Benang yang digunakan adalah jenis benang wol yang tebal namun tidak kaku, sehingga tidak licin jika diikatkan pada ekor tikus.</p> 
----	------------------------------	-------------------------	------------------------	--