DAFTAR ISI

Halaman Judul ……..……..... i
Halaman Pengesahan ……... ii
Identitas Dan Uraian Umum ..…….…… iii
DAFTAR ISI 1
RINGKASAN PROPOSAL 2
BAB 1. PENDAHULUAN 3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA 6
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN 9
BAB 4. JADWAL PENELITIAN 14
BAB 5. RENCANA ANGGARAN BIAYA (RAB) 15
DAFTAR PUSTAKA 16
LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN 18
LAMPIRAN 2. SURAT KESEDIAAN BERKOMITMEN 20

RINGKASAN PROPOSAL

Latar Belakang: Latihan daya tahan memberikan banyak manfaat kesehatan, termasuk peningkatan kapasitas kardiovaskular dan metabolisme energi. Namun, latihan ini juga dapat menyebabkan kerusakan otot yang diukur dengan peningkatan kadar CK-MM dalam darah. Sirtuin, terutama SIRT1 dan SIRT3, berperan dalam metabolisme energi dan regenerasi sel otot, sehingga ekspresi mRNA-nya dapat terkait dengan respons adaptif tubuh terhadap kerusakan otot setelah latihan intensif.

Metode Penelitian: Penelitian ini menggunakan desain observasional dengan pendekatan pre-test dan post-test. Subjek penelitian adalah pria sehat usia 18-30 tahun yang jarang berolahraga. Ekspresi mRNA SIRT1 dan SIRT3 serta kadar CK-MM diukur sebelum dan setelah subjek melakukan latihan daya tahan. Teknik qPCR digunakan untuk mengukur ekspresi mRNA Sirtuin, sementara kadar CK-MM dianalisis menggunakan teknik ELISA.

Luaran Penelitian: Penelitian ini diharapkan menghasilkan publikasi ilmiah pada jurnal terakreditasi nasional (S2) serta menghasilkan luaran dalam bentuk hak cipta poster terkait metode latihan yang efektif dan aman. Penelitian ini juga akan berkontribusi pada pengembangan biomarker untuk pemantauan latihan fisik dan optimasi program latihan di masa mendatang.

Kaitan dengan Roadmap Penelitian: Penelitian ini mendukung roadmap peneliti yang berfokus pada pengembangan biomarker dalam bidang kedokteran presisi dan kesehatan olahraga. Selain itu, penelitian ini juga relevan dengan roadmap Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti dalam pengembangan instrumen diagnostik berbasis marker biologis.

Kata Kunci :
Sirtuin*; Creatine Kinase Muscle* (CK-MM), Latihan daya tahan, mRNA, ekspresi Biomarker

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Latihan daya tahan (endurance) merupakan salah satu bentuk latihan fisik yang memberikan manfaat signifikan bagi kesehatan, termasuk meningkatkan fungsi kardiovaskular, kapasitas aerobik, serta metabolisme energi. Latihan ini sering direkomendasikan untuk meningkatkan kebugaran fisik secara keseluruhan dan menurunkan risiko penyakit kardiovaskular. Namun, meskipun memberikan manfaat yang besar, latihan daya tahan juga memiliki risiko terkait dengan kerusakan otot. Salah satu indikator kerusakan otot adalah peningkatan kadar enzim Creatine Kinase Muscle (CK-MM), yang dilepaskan ke dalam aliran darah akibat kerusakan serat otot. CK-MM sering digunakan sebagai penanda untuk mengukur tingkat kerusakan otot setelah aktivitas fisik intensif atau berkepanjangan, sehingga pemantauan kadar CK-MM pasca-latihan sangat penting untuk mengevaluasi tingkat kerusakan otot yang terjadi selama latihan daya tahan [1,2].

Penelitian lain menunjukkan bahwa latihan kekuatan (resistance) cenderung menyebabkan peningkatan kadar CK-MM yang lebih tinggi dibandingkan dengan latihan daya tahan. Hal ini disebabkan oleh kerusakan serat otot yang lebih signifikan selama latihan kekuatan, terutama ketika dilakukan hingga gagal otot. Latihan kekuatan, terutama dengan intensitas tinggi, diketahui dapat memicu kerusakan otot yang lebih parah dan peningkatan CK-MM yang lebih besar dibandingkan dengan latihan daya tahan. Sebagai contoh, sebuah penelitian menemukan bahwa latihan kekuatan yang dilakukan hingga titik kelelahan otot menghasilkan peningkatan CK-MM yang lebih tinggi dibandingkan latihan yang tidak mencapai titik kelelahan [3].

Meskipun CK-MM lebih dominan meningkat pada latihan kekuatan, latihan daya tahan tetap digunakan dalam pemantauan CK-MM dalam penelitian ini karena karakteristik latihan daya tahan yang lebih umum dilakukan oleh berbagai populasi, termasuk mereka yang terlibat dalam aktivitas aerobik seperti lari jarak jauh, berenang, dan bersepeda. Selain itu, latihan daya tahan memiliki risiko kerusakan otot yang moderat, tetapi lebih mudah dipantau dalam jangka panjang dan tidak menimbulkan risiko kerusakan jaringan yang ekstrem seperti yang sering ditemukan pada latihan kekuatan. Sebuah studi baru menunjukkan bahwa latihan daya tahan dengan intensitas tinggi juga dapat meningkatkan konsentrasi penanda kerusakan otot seperti CK dan myoglobin, terutama dalam kondisi normoksia, yang memperkuat alasan penggunaan latihan daya tahan dalam penelitian ini [4].

Sirtuin, terutama SIRT1 dan SIRT3, adalah kelompok protein deacetylase yang berperan penting dalam regulasi metabolisme energi, respons terhadap stres oksidatif, dan biogenesis mitokondria, yang semuanya berperan dalam adaptasi tubuh terhadap latihan fisik. Studi terbaru menunjukkan bahwa SIRT1 dan SIRT3 memiliki peran protektif dalam melindungi sel otot dari kerusakan akibat stres fisik melalui aktivasi jalur metabolisme yang meningkatkan efisiensi energi dan memperbaiki kerusakan seluler [2,5]. Hubungan antara ekspresi mRNA SIRT1 dan SIRT3 dengan kadar CK-MM setelah latihan daya tahan masih jarang diteliti, meskipun keduanya berperan dalam respons adaptif tubuh terhadap kerusakan otot dan pemulihan [4,6].

Pria di kelompok usia 18-30 tahun berada dalam fase puncak kemampuan fisik dan metabolisme, yang membuat mereka ideal untuk studi tentang adaptasi otot terhadap latihan fisik intensif [1,7]. Pada usia ini, tubuh pria masih mampu menunjukkan perubahan metabolik dan adaptasi otot yang signifikan tanpa adanya variabilitas yang besar yang biasanya muncul pada kelompok usia yang lebih tua. Selain itu, penelitian yang melibatkan kelompok usia ini dapat memberikan wawasan yang lebih spesifik terkait dengan pencegahan cedera otot pada populasi yang aktif secara fisik [4,7].

Penelitian ini bertujuan untuk memberikan wawasan baru mengenai bagaimana Sirtuin dapat memediasi kerusakan dan regenerasi otot yang diinduksi oleh latihan intensif, dan bagaimana pemantauan biomarker ini dapat berperan dalam mengembangkan program latihan yang lebih aman dan efektif. Penelitian ini juga memberikan pendekatan molekuler dalam memahami adaptasi otot selama latihan daya tahan, yang dapat menjadi dasar pengembangan metode latihan yang lebih personal dan terarah [5,6].

Oleh karena itu, penelitian ini berfokus pada latihan daya tahan untuk mengukur kadar CK-MM pasca-latihan, dengan harapan dapat mengevaluasi tingkat kerusakan otot yang lebih moderat namun signifikan. Pemilihan latihan daya tahan juga memungkinkan evaluasi kerusakan otot dalam situasi yang lebih representatif terhadap aktivitas fisik yang umum dilakukan dalam kehidupan sehari-hari, sehingga hasil penelitian dapat lebih bermanfaat secara praktis.

1.2. Perumusan Masalah

Bagaimana hubungan antara ekspresi mRNA Sirtuin (SIRT1 dan SIRT3) dengan kadar CK-MM pada pria sehat setelah melakukan latihan daya tahan?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum

Mengeksplorasi interaksi dan potensi penggunaan gen SIRT1 dan SIRT2 sebagai kandidat biomarker untuk ketepatan latihan daya tahan seseorang.

Tujuan khusus

- Mengukur dan menilai ekspresi mRNA Sirtuin (SIRT1 dan SIRT3) pada pria sehat usia 18-30 tahun setelah melakukan latihan daya tahan.
- Mengukur dan menilai kadar CKMM pada pria sehat usia 18-30 tahun setelah melakukan latihan daya tahan.
- Menganalisa hubungan antara ekspresi mRNA SIRT1 dan SIRT3 dengan kadar CKMM pada pria sehat usia 18-30 tahun setelah melakukan latihan daya tahan.

1.4. Batasan Penelitian

Penelitian ini hanya melibatkan subjek pria usia 18-30 tahun, sehingga hasilnya mungkin tidak dapat digeneralisasikan pada populasi wanita atau usia yang lebih tua. Pengukuran ekspresi mRNA Sirtuin dan kadar CK-MM dilakukan hanya sebelum dan setelah program latihan, tanpa pemantauan jangka panjang atau pada titik waktu lain selama latihan. Variabel lain yang dapat mempengaruhi kadar CK-MM dan ekspresi Sirtuin, seperti pola makan, genetika, dan status kesehatan secara keseluruhan, tidak dianalisis dalam penelitian ini. Penelitian ini menggunakan jenis latihan daya tahan tertentu, sehingga hasil penelitian mungkin tidak mencerminkan respon tubuh terhadap jenis latihan fisik lainnya.

1.5. Kaitan Penelitian dengan Road Map Penelitian Pribadi dan Road Map Penelitian Fakultas

Penelitian ini sejalan dengan roadmap penelitian yang berfokus pada precision medicine dan kesehatan olahraga, terutama dalam mencari biomarker yang dapat digunakan untuk memantau dan mengoptimalkan performa atlet. Penelitian ini juga terkait erat dan mendukung roadmap tim peneliti FK Trisakti, yang memiliki tujuan akhir untuk terwujudnya kedokteran presisi, serta sesuai dengna road map penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti yang berfokus pada pada penelitian

Biomedik dan Perilaku Kesehatan sub-topik instrument diagnostik dengan memanfaatkan marker diagnostik dalam sel.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

Latihan Daya Tahan dan Dampak Kerusakan Otot

Latihan daya tahan (*endurance training*) adalah bentuk aktivitas fisik yang dilakukan untuk meningkatkan efisiensi sistem aerobik, metabolisme energi, dan kesehatan kardiovaskular secara keseluruhan. Latihan ini sangat penting bagi individu yang ingin meningkatkan kapasitas fisik, seperti atlet dan individu yang menjalani program peningkatan kebugaran fisik jangka panjang. Namun, meskipun bermanfaat, latihan daya tahan juga dapat menyebabkan kerusakan otot, terutama jika dilakukan secara intensif dan terus menerus tanpa waktu pemulihan yang memadai.

Exercise-Induced Muscle Damage (EIMD) atau kerusakan otot yang diinduksi oleh latihan, merupakan fenomena umum yang terjadi setelah latihan fisik intensif, termasuk latihan daya tahan. Salah satu penanda yang digunakan untuk mengukur kerusakan otot adalah peningkatan kadar enzim Creatine Kinase Muscle (CK-MM) di dalam darah. CK-MM dilepaskan ke dalam aliran darah ketika serat otot skeletal mengalami kerusakan akibat latihan yang intens, sehingga dapat diukur untuk mengevaluasi tingkat keparahan kerusakan otot. Penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi intensitas latihan, semakin besar kemungkinan peningkatan kadar CK-MM dalam darah [1,2]. Selain itu, individu yang tidak terbiasa dengan aktivitas fisik intens sering mengalami peningkatan kadar CK-MM yang lebih tinggi dibandingkan dengan individu yang sudah terlatih [3]. Pemantauan kadar CK-MM pasca-latihan juga sangat penting untuk menilai kebutuhan pemulihan dan menentukan apakah tubuh mampu menahan beban latihan lebih lanjut [4].

Kerusakan otot yang terjadi akibat latihan daya tahan sering kali disebabkan oleh stres mekanik dan metabolik yang dialami oleh otot selama aktivitas fisik yang berkepanjangan. Mekanisme ini melibatkan kerusakan serat otot, peningkatan permeabilitas membran otot, serta pelepasan ion kalsium yang menyebabkan aktivasi enzim proteolitik yang merusak protein otot [5]. Oleh karena itu, pemahaman tentang faktor-faktor yang dapat meminimalkan kerusakan otot menjadi sangat penting dalam merancang program latihan yang efektif dan aman, serta mengoptimalkan waktu pemulihan.

Sirtuin dan Adaptasi Seluler pada Latihan Daya Tahan

Sirtuin adalah kelompok enzim deacetylase yang berperan penting dalam regulasi metabolisme energi, respons terhadap stres oksidatif, dan homeostasis mitokondria. Dari tujuh subtipe sirtuin yang diketahui, SIRT1 dan SIRT3 adalah yang paling relevan dalam konteks adaptasi seluler terhadap latihan fisik. Sirtuin memainkan peran dalam mempertahankan keseimbangan energi di tingkat seluler, terutama dengan mengoptimalkan penggunaan sumber energi selama kondisi stres seperti latihan fisik intensif [6,7].

SIRT1, sebagai deacetylase yang bergantung pada NAD+, memainkan peran penting dalam regulasi biogenesis mitokondria melalui interaksi dengan PGC-1α (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha). PGC-1α dikenal sebagai faktor utama yang mengatur metabolisme oksidatif dan biogenesis mitokondria. Melalui interaksi ini, SIRT1 membantu meningkatkan kapasitas mitokondria otot, yang penting dalam meningkatkan efisiensi metabolisme selama latihan daya tahan [8]. Selain itu, aktivasi SIRT1 juga berperan dalam memperbaiki kerusakan DNA dan melindungi otot dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan selama aktivitas fisik intens [9]. Penelitian menunjukkan bahwa individu dengan ekspresi SIRT1 yang lebih tinggi memiliki adaptasi yang lebih baik terhadap latihan fisik, termasuk peningkatan kapasitas oksidatif otot dan pengurangan kerusakan otot setelah latihan [10].

SIRT3, yang juga merupakan deacetylase yang bergantung pada NAD+, terutama berlokasi di mitokondria dan berperan dalam mengatur fungsi mitokondria selama kondisi stres oksidatif. SIRT3 berperan dalam menjaga homeostasis mitokondria dengan mengatur enzim-enzim yang

terlibat dalam siklus asam sitrat, rantai transpor elektron, dan detoksifikasi radikal bebas [11]. Melalui aktivitasnya ini, SIRT3 membantu mengurangi stres oksidatif yang sering kali meningkat selama latihan daya tahan intensif [12]. Selain itu, SIRT3 juga diketahui berperan dalam menginduksi aktivitas antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase 2 (SOD2), yang melindungi sel dari kerusakan oksidatif [13]. Dengan demikian, SIRT3 memberikan perlindungan tambahan terhadap kerusakan sel otot dan mitokondria selama latihan daya tahan [14].

Hubungan antara Sirtuin dan CK-MM dalam Latihan Daya Tahan

Meskipun telah banyak penelitian yang menjelaskan peran Sirtuin dalam adaptasi metabolik terhadap latihan, hubungan langsung antara ekspresi mRNA Sirtuin (terutama SIRT1 dan SIRT3) dan kadar CK-MM setelah latihan daya tahan masih memerlukan kajian lebih lanjut. Diketahui bahwa Sirtuin memiliki potensi untuk mengurangi kerusakan otot yang diindikasikan oleh peningkatan kadar CK-MM. Aktivasi jalur Sirtuin melalui latihan daya tahan dapat meningkatkan efisiensi metabolisme otot, mengurangi produksi radikal bebas, dan meningkatkan kapasitas antioksidan, yang semuanya berkontribusi pada penurunan kerusakan otot [15,16].

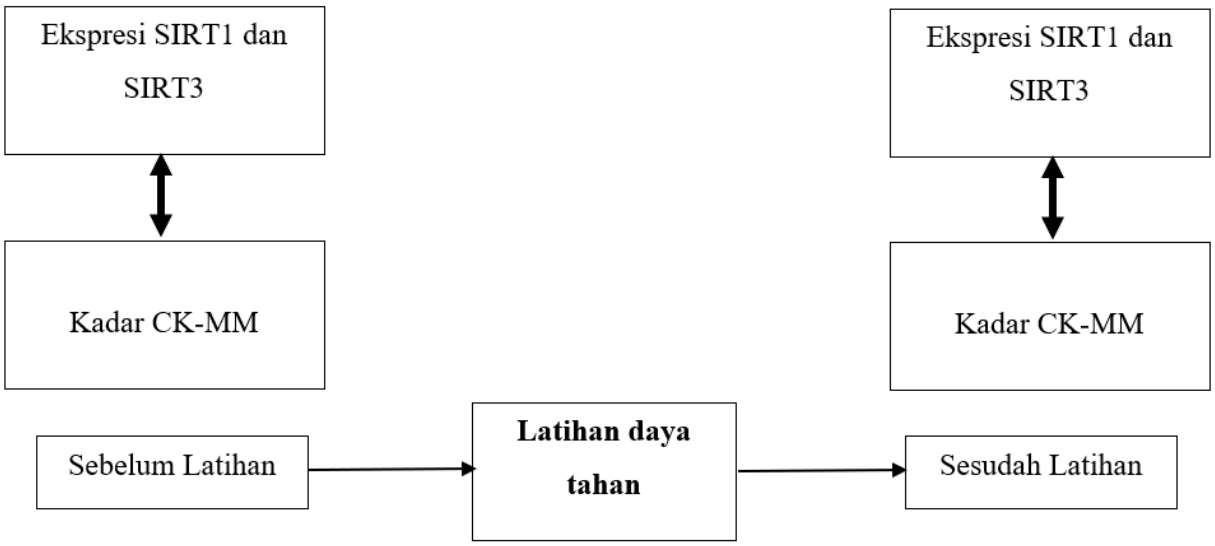
Penelitian awal menunjukkan bahwa individu dengan aktivitas Sirtuin yang lebih tinggi menunjukkan adaptasi otot yang lebih baik setelah latihan intensif, termasuk peningkatan kapasitas regenerasi otot dan penurunan kadar CK-MM pasca-latihan [17]. Dalam hal ini, ekspresi Sirtuin diyakini memainkan peran penting dalam memediasi stres oksidatif dan meningkatkan kapasitas regeneratif otot setelah latihan yang intens. Hal ini didukung oleh studi yang menemukan bahwa peningkatan aktivitas SIRT1 dan SIRT3 berhubungan dengan peningkatan kapasitas mitokondria dan perlindungan seluler terhadap kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh latihan daya tahan [18].

Sirtuin dan Adaptasi Molekuler pada Latihan Daya Tahan

Selain peran mereka dalam memperbaiki kerusakan otot, Sirtuin juga berfungsi dalam memperpanjang usia sel melalui mekanisme yang melibatkan perbaikan DNA dan peningkatan aktivitas antioksidan. SIRT1 dan SIRT3 diaktivasi oleh peningkatan NAD+ yang dihasilkan selama latihan daya tahan, dan keduanya memainkan peran penting dalam regulasi homeostasis energi, metabolisme lipid, dan pemeliharaan mitokondria [19]. Peningkatan aktivitas Sirtuin selama latihan tidak hanya meningkatkan kapasitas metabolik otot, tetapi juga memberikan perlindungan terhadap kerusakan oksidatif dan perbaikan seluler yang diperlukan untuk pemulihan optimal [20].

Selain itu, aktivasi Sirtuin berkontribusi pada peningkatan ketahanan seluler terhadap stres, yang pada gilirannya dapat memperbaiki kinerja otot dan mengurangi risiko cedera selama latihan intensif. Studi yang meneliti efek latihan daya tahan pada ekspresi Sirtuin menunjukkan bahwa aktivasi Sirtuin dapat mengurangi tanda-tanda penuaan seluler dan meningkatkan efisiensi metabolisme, terutama dalam konteks latihan yang berulang dan berkepanjangan [10,16].

Kerangka Konsep


Ekspresi SIRT1 dan SIRT3
Kadar CK-MM
Ekspresi SIRT1 dan SIRT3
Kadar CK-MM
Sebelum Latihan
Latihan daya tahan
Sesudah Latihan

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan sejak bulan November 2024 hingga Juli tahun 2025.

Tempat penelitian:

Peneltian ini akan dilaksanakan di Fakultas Kedokteran Universitas Triksakti, Kampus B, Jakarta Barat, DKI Jakarta, Indonesia. Pengerjaan sampel akan dilakukan di Laboratorium Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Jakarta Barat, DKI Jakarta, Indonesia.

3.2. Metode Penelitian

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain observasional eksperimental dengan pendekatan pre-test dan post-test. Subjek akan menjalani pengukuran sebelum dan sesudah intervensi berupa latihan daya tahan hingga mencapai denyut nadi latihan (*training heart rate*).

Subyek penelitian

Subjek yang akan digunakan pada penelitian ini akan harus memenuhi kriteria inklusi dan ekslusi, sebagai berikut:

Kriteria Inklusi:

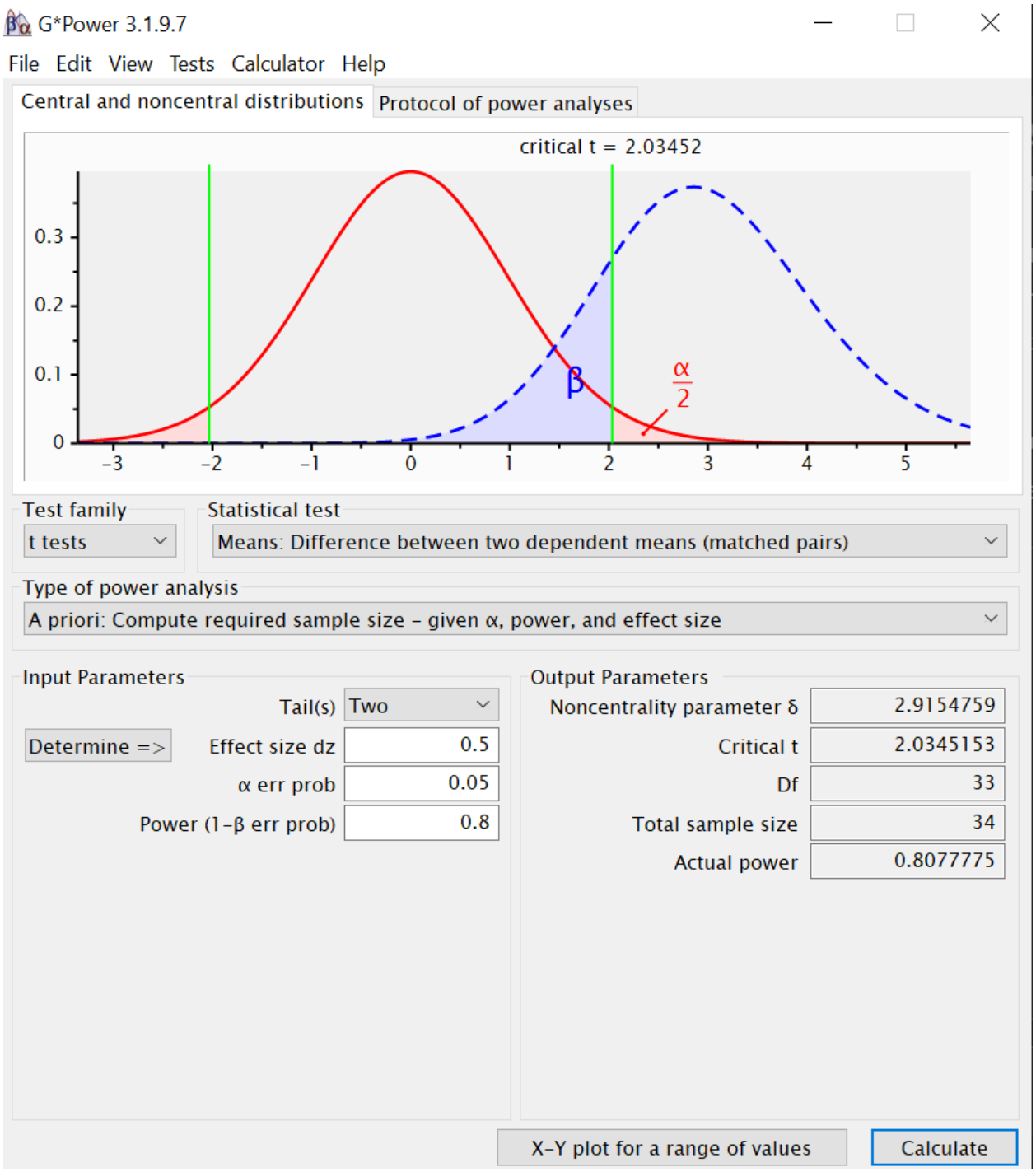
- Berjenis kelamin laki-laki
- Berusia 18-30 tahun
- Subjek bersedia menjadi subjek penelitian
- Subjek yang memiliki tingkat kebugaran paling sangat kurang – rendah berdasarkan Harvard step test.

Kriteria Ekslusi:

- Mengonsumsi alkohol
- Menerima vaksinasi dengan pemberian injeksi intramuskular, seperti vaksin hepatitis, influenza, HPV dan pemberian injeksi intramuskular, seperti antibiotik, antipirektik, analgesik dalam waktu 12 jam sebelum penelitian
- Konsumsi obat-obatan tertentu (kortikosteroid, antibiotik, gol. Statin, anti depresan)

Besar sampel penelitian

Metode pemilihan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Consecutive Sampling*. Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung menggunakan aplikasi G Power versi 3.1.9.7



Gambar 1 Perhitungan Sampel Penelitian Menggunakan Aplikasi G Power

Berdasarkan perhitungan sampel tersebut, jumlah sampel yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah 34 sampel. Dengan memperkirakan drop out sebesar 15%, maka jumlah minimal sampel yang dibutuhkan adalah 40 sampel.

Setelah ditambahkan dengan perhitungan *drop-out* 15%, maka pada penelitian ini jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 40 sampel.

Protokol Latihan Daya Tahan

1. Subjek akan menjalani sesi pemanasan ringan selama 10 menit.
2. Subjek kemudian menjalani latihan naik turun tangga dengan intensitas yang ditingkatkan secara bertahap sampai mencapai 70%-85% dari denyut nadi maksimal. Denyut nadi akan dipantau menggunakan alat oximeteryang dipasang pada jari telunjuk subyek.
   Denyut nadi maksimal dihitung berdasarkan rumus berikut:

   Denyut nadi maksimal = 220 – usia

3. Latihan akan berlangsung selama 10 menit setelah subjek mencapai denyut nadi latihan.
4. Subjek akan menjalani sesi pendinginan setelah latihan selama 10 menit.

Prosedur Pengumpulan Data

1. Sebelum latihan Pengambilan darah dilakukan untuk mengukur ekspresi SIRT1 dan 3 serta kadar Creatine Kinase Muscle (CK-MM) sebagai baseline.
2. Intervensi Subjek melakukan latihan sesuai protokol hingga mencapai 70 – 85 % denyut nadi maksimal.
3. Setelah Latihan Pengambilan darah dilakukan kembali setelah 72 jam pasca-latihan untuk mengukur perubahan ekspresi SIRT1 dan 3 serta kadar CK-MM.

Persiapan sampel

1. Darah disentrifugasi pada 3000x g selama 10 menit untuk memisahkan plasma dari sampel darah vena
2. Selanjutnya plasma disimpan di dalam freezer dengan suhu - 800C

Pemeriksaan CKMM dengan ELISA Reader

Persiapan sampel

Dilusikan sampel 1: 400 menjadi 1X diluent N dan assay. Sampel sisanya dapat disimpan hingga 3 bulan pada suhu -80°C.

Persiapan reagen

Keluarkan Kit Elisa dari freezer dan diamkan terlebih dahulu pada suhu ruang (20-25°C) selama 20 menit.

Prosedur .

- Hapus strip pelat mikro yang berlebih pada bingkai pelat dan kembalikan ke kantong foil dengan terdapat bahan pengering di dalamnya. Tutup kembali kantong dengan aman untuk meminimalisir paparan uap air dan simpan dalam desikator vakum.
- Tambahkan 50 µL per sumur. Tutupi sumur dengan selotip dan inkubasi selama dua jam.
- Cuci dengan 200 µL 1X Wash Buffer. Balikkan pelat setiap kali dan tuangkan isinya kemudai ketuk 4-5 kali kertas penyerap untuk menghilangkan cairan sepenuhnya.
- Tambahkan 50 µL dari 1X Biotinylated CKMM antibody ke masing-masing sumur dan inkubasi selama satu jam dengan suhu 37°C
- Aspirasi dan cuci pelat mikro sebanyak 3 kali
- Tambahkan 50 µL dari 1X RP Conjugate Diluent ke setiap sumur dan inkubasi dengan suhu 37°C selama 30 menit. Nyalakan alat pembaca pelat mikro.
- Aspirasi dan cuci pelat mikro sebanyak 5 kali

- Tambahkan 50 µL Substrate Reagent per sumur dan inkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit atau hingga warna biru optimal terbentuk.
- Ketuk pelat dengan lembut untuk memastikan campuran sudah tercampur secara menyeluruh dan pecahkan gelembung di dalam sumur dengan ujung pipet.
- Tambahkan 50 µL Stop Solution ke setiap sumur.
- Baca nilai absorbansi pada pembaca pelat mikro pada panjang gelombang 450 nm.

Ekspresi SIRT1 dan SIRT 3

Isolasi RNA

Masukan RNA lysis buffer ke dalam sampel darah dengan perbandingan volume (1:1). Campurkan secara merata dengan pipet dengan teknik "up and down". Lanjutkan proses purifikasi RNA dengan transfer campuran ke spin-wayTM Filter di dalam collection tube dan di centrifugasi untuk menghilangkan genomik DNA. Tambahkan etanol (95-100%) dengan volume (1:1) lalu di pindahkan ke Zymo-SpinTM IIICG Column dalam collection tube yang baru dan di centrifugasi. Lakukan proses DNase dengan menambahkan 400 µl RNA Wash Buffer dan dicentrifugasi. Dalam nuclease-free tube tambahkan 5 µl (1U/ µl), 75 µl DNA digestion buffer dan campurkan. Setelah itu tambahkan campuran ke dalam column matrix dan di inkubasi di suhu ruangan (20-30°C) selama 15 menit. Masukan 400 µl RNA Prep Buffer ke dalam kolum dan dicentrifugasi. Selanjutnya tambahkan 700 µl ke dalam kolum dan di centrifugasi. Lalu masukan 400 µl RNA wash buffer dan centrifugasi kolum selama 1 menit. Setelah itu, pindahkan kolum ke dalam nuclease-free tube secara hati-hati dan tambahkan 100 µl DNase/RNase-free water secara langsung pada matriks kolum dan disentrifugasi.

Sintesis cDNA

Siapkan sampel yang akan di gunakan di dalam kotak es. Lalu vortex solusi dan di centrifugasi sebelum digunakan. Lakukan pengenceran sampel dengan menambahkan 4 µl transamp buffer, 1 µl reverse transcriptase dan DNase/RNase free-water hingga 20 µl. Campurkan secara perlahan dengan pipet. Atur thermal cycler 25°C selama 10 menit untuk primer annealing, 42°C selama 15 menit untuk reverse transcription dan jika perlu dapat diatur 48°C selama 15 menit khusus highly-structured RNA. Setelah itu atur suhu 85°C selama 5 menit untuk inaktivasi dan 4°C untuk pendinginan.

Pembacaan sampel di qPCR

Disiapkan campuran yang akan digunakan dalam PCR. Pertama tambahkan reagen 2x SensiFAST SYBR® No-ROX Mix sebanyak 10 µl digunakan 1x saja. Lalu tambahkan 10 µM forward primer sebanyak 0,8 µl dengan konsentrasi final 400nM. Setelah itu masukan 10 µM reverse primer (Tabel 1) sebanyak 0,8 µl dengan konsentrai 400nM. Tambahkan DNA cetakan sampai 8,4 µl serta air hingga volume akhir mencapai 20 µl. Lakukan 3-step sikling pada PCR dengan silus pertama untuk proses aktivasi polimerasi dalam waktu 2 menit di suhu 95°C. setelah itu lakukan proses denaturasi selama 5 detik di suhu 95°C, proses penganilan selama 10 detik di suhu 60-65°C dan proses ekstensi dalam wakut 5-20 detik pada suhu 72°C. Proses denaturasi, penganilan dan ekstensi dilakukan selama 40 siklus.

3.3. Metode Analisis

- Uji Paired T-test digunakan untuk membandingkan perubahan kadar CK-MM dan ekspresi mRNA Sirtuin (SIRT1 dan SIRT3) sebelum dan setelah latihan.
- Uji Korelasi Pearson digunakan untuk mengevaluasi hubungan antara ekspresi mRNA Sirtuin dan kadar CK-MM.

3.4. Indikator Capaian Penelitian

No	Indikator Kinerja Kegiatan	Target	Keterangan
1	Sampel terkumpul yang siap untuk dianalisis	100%	Sampel diambil dari subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi
2	Data ekspresi SIRT1 dan 3 serta *Creatinine Kinase Muscle* (CK-MM) tersedia dan siap untuk dianalisa	100%	Data didapatkan dari hasil isolasi protein serta plasma dari sampel darah
3	Analisis data lengkap tersedia	100%	Analisis statistik dari hasil data yang dihasilkan pada langkah sebelumnya
4	Pembuatan laporan dan luaran	100%	• Laporan lengkap selesai • Bukti sertifikat Hak Cipta Poster • Manuscript dengan status submitted pada jurnal terindex Sinta (S2)

BAB 4. JADWAL PENELITIAN

Lama Penelitian : 10 bulan

Kegiatan	Mulai	Sampai
Pengusulan proposal oleh pelaksana	10/09/2024	10/10/2024
Rencana persiapan pelaksanaan	11/10/2024	31/10/2024
Rencana pelaksanaan	01/11/2024	31/05/2025
Rencana monev	01/03/2025	01/04/2025
Rencana pengumpulan luaran	01/06/2025	30/06/2025
Rencana pengumpulan laporan akhir	01/07/2025	31/07/2025

BAB 5. RENCANA ANGGARAN BIAYA (RAB)

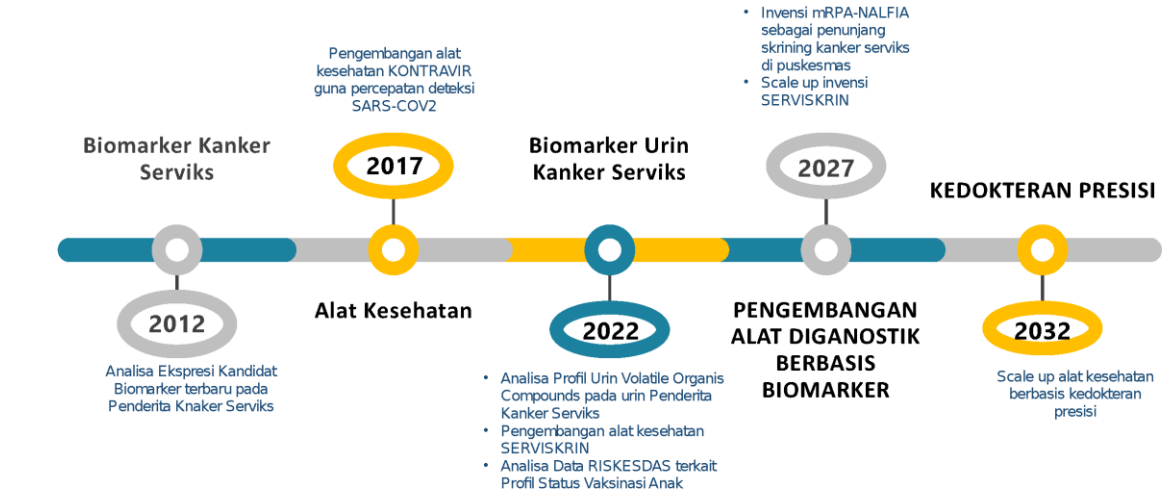
No	Komponen	Total
I.	**Biaya Langsung**	
A	Tenaga Ahli dan Tenaga Penunjang	9.000.000
B.1	Biaya bahan habis, peralatan, sewa peralatan	81.800.000
B.2	Perjalanan dan transport lokal	2.025.000
	Sub Total	92.825.000
II.	**Biaya Tidak Langsung**	
A	Laporan, Seminar, dan Publikasi	200.000
B	Forum Group Disscusion	0
	Sub Total	200.000
	TOTAL	**93.025.000**

DAFTAR PUSTAKA

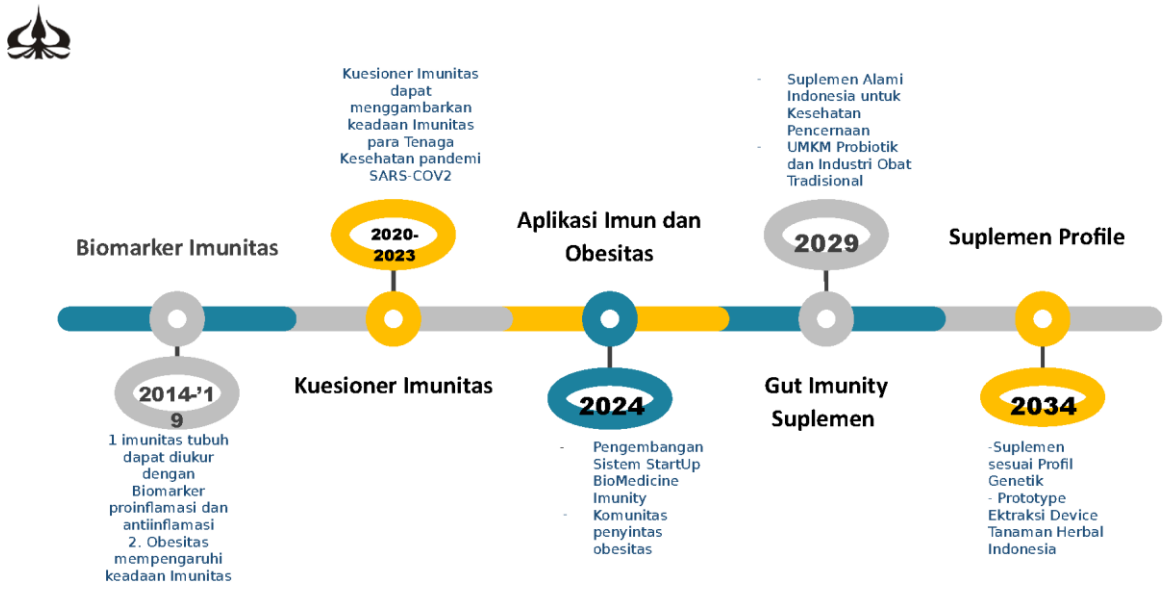
1. Ryan A, Li G. Sex differences in muscle SIRT1 and SIRT3 and exercise + weight loss effects on muscle sirtuins. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2023;15353702221142619. doi:10.1177/15353702221142619
2. Zehsaz F, Safabakhsh A, Farhangi N, Keynezhad N, Monfaredan A, Ghahramani M. Do ACE and CKMM gene variations have potent effects on physical performance in inactive male adolescents?. *Mol Biol Rep*. 2019;46(2):1835-1843. doi:10.1007/s11033-019-04636-7
3. Frandsen J, Sahl R, Rømer T, et al. Extreme duration exercise affects old and younger men differently. *Acta Physiol (Oxf)*. 2022;235:e13816. doi:10.1111/apha.13816
4. Hooshmand-Moghadam B, Eskandari M, Golestani F, Rezae S, Mahmoudi N, Gaeini A. The effect of 12-week resistance exercise training on serum levels of cellular aging process parameters in elderly men. *Exp Gerontol*. 2020;141:111090. doi:10.1016/j.exger.2020.111090
5. Jafari A, Etemadian F, Malekirad A, Baradaran B. The effect of two-month concurrent training with and without calorie restriction on Sirtuin-1 activity and content in the peripheral blood mononuclear cells of inactive men. J Sports Biom. 2020;12:329-345. doi:10.22059/JSB.2020.308308.1422
6. Wojciak G, Szymura J, Szyguła Z, Gradek J, Więcek M. The effect of repeated whole-body cryotherapy on Sirt1 and Sirt3 concentrations and oxidative status in older and young men performing different levels of physical activity. *Antioxidants*. 2020;10(1):37. doi:10.3390/antiox10010037
7. Hendrickse P, Venckunas T, Platkevicius J, et al. Endurance training-induced increase in muscle oxidative capacity without loss of muscle mass in younger and older resistance-trained men. *Eur J Appl Physiol*. 2021;121(12):3161-3172. doi:10.1007/s00421-021-04768-4
8. Svensson K, Tahvilian S, Martins V, et al. Combined overexpression of SIRT1 and knockout of GCN5 in adult skeletal muscle does not affect glucose homeostasis or exercise performance in mice. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2019. doi:10.1152/ajpendo.00370.2019
9. Wasserfurth P, Nebl J, Rühling MR, et al. Impact of dietary modifications on plasma sirtuins 1, 3 and 5 in older overweight individuals undergoing 12-weeks of circuit training. *Nutrients*. 2021;13:3824. doi:10.3390/nu13113824
10. Hooshmand-Moghadam B, Eskandari M, Golestani F, et al. The effect of 12-week resistance exercise training on serum levels of cellular aging process parameters in elderly men. *Exp Gerontol*. 2020;141:111090. doi:10.1016/j.exger.2020.111090
11. Brun JF, Drapier E, Chérif A, et al. Long term (3 years) weight loss after low intensity endurance training targeted at the level of maximal muscular lipid oxidation. *Obes Diabetes Res*. 2018;4(1):201. doi:10.15761/IOD.1000201
12. Kazemi-Pordanjani M, Banitalebi E, Roghani M, et al. Involvement of SIRT1-eNOS axis in vascular senescence responses to ursolic acid and exercise training in aged type 2 diabetes model of rats. *J Diabetes Res*. 2021. doi:10.21203/rs.3.rs-631236/v1
13. Donniacuo M, Urbanek K, Nebbioso A, et al. Cardioprotective effect of a moderate and prolonged exercise training involves sirtuin pathway. *Life Sci*. 2019;222:140-147. doi:10.1016/j.lfs.2019.03.001

14. Stocks B, Ashcroft S, Joanisse S, et al. Nicotinamide riboside supplementation does not alter whole-body or skeletal muscle metabolic responses to a single bout of endurance exercise. *bioRxiv*. 2020. doi:10.1101/2020.06.23.143446
15. Lee S, Lee J, Lee HY, et al. Sirtuin signaling in cellular senescence and aging. *BMB Rep*. 2019;52:24-34. doi:10.5483/BMBRep.2019.52.1.290
16. Alavi S, Joukar S, Rostamzadeh F, et al. Involvement of sirtuins and klotho in cardioprotective effects of exercise training against waterpipe tobacco smoking-induced heart dysfunction. *Front Physiol*. 2021;12:680005. doi:10.3389/fphys.2021.680005
17. Dehbashi M, Fathi M, Attarzadeh-Hosseini SR, et al. The effect of eight weeks endurance training, somatropin injection, and its lipolytic fragment (AOD9604) on cytokeratin-18 and liver enzymes of mice induced liver damage due to a high-fat diet. *Horizon Med Sci*. 2021;27(4):3513. doi:10.32598/hms.27.4.3513.1
18. Ghiasi R, Naderi R, Sheervalilou R, et al. Swimming training by affecting the pancreatic SIRT1 and oxidative stress, improves insulin sensitivity in diabetic male rats. Horm Mol Biol Clin Invest. 2019;40. doi:10.1515/hmbci-2019-0011
19. Pordanjani MK, Banitalebi E, Roghani M, et al. Involvement of SIRT1-eNOS axis in vascular senescence responses to ursolic acid and exercise training in aged type 2 diabetes model of rats. *J Diabetes Res*. 2021.
20. Lamb DA, Moore JH, Mesquita PHC, et al. Resistance training increases muscle NAD+ and NADH concentrations as well as NAMPT protein levels and global sirtuin activity in middle-aged, overweight, untrained individuals. *Aging (Albany NY)*. 2020;12:9447-9460.

LAMPIRAN 1. ROAD MAP PENELITIAN

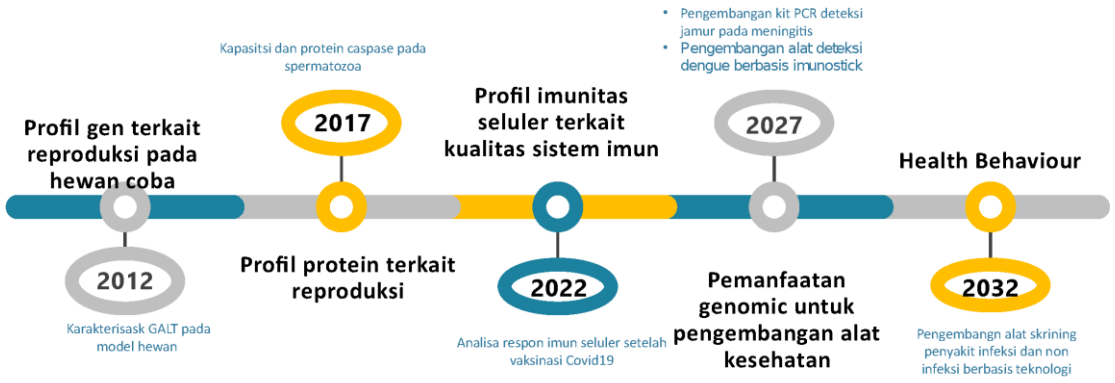


PETA JALAN PENELITIAN <dr. Monica Dwi Hartanti, M.Biomed, Ph.D>



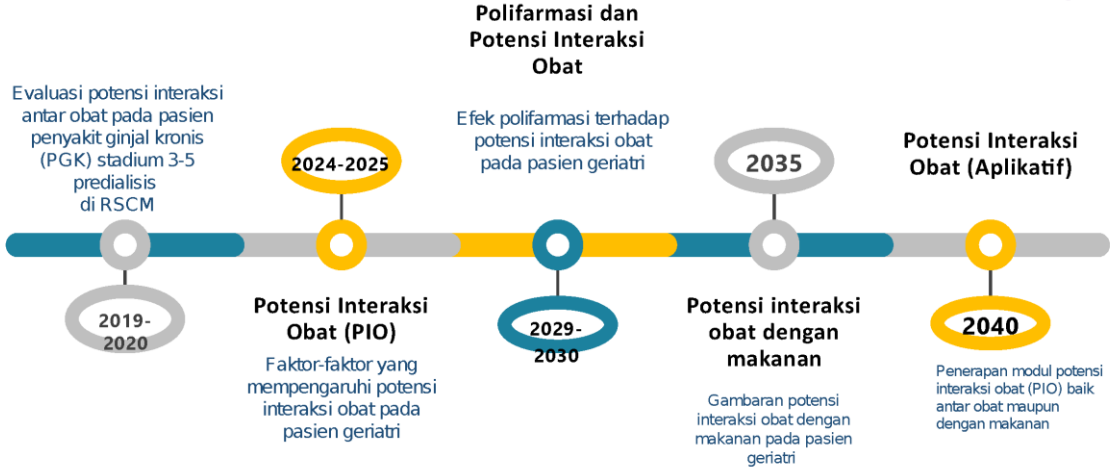
***ROAD MAP* PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

<*Yani Kurniawan*>, <*3910*>, <->



PETA JALAN PENELITIAN <dr. Sisca, M.Biomed>

Pilih salah satu :
Medicine/Drug



***ROAD MAP* PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**
<*dr. Triasti Khusfiani, Sp.FK*>, <*3908*>, <*NIDN:-*>

LAMPIRAN 2. SURAT KESEDIAAN BERKOMITMEN

SURAT PERNYATAAN BERKOMITMEN
PELAKSANAAN PENELITIAN TH. AKAD. 2024/2025

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama	: dr. Monica Dwi Hartanti, M.Biomed., Ph.D.
NIK/NIDN/NIDK	: 2903 / 0301067604
Judul Penelitian	: Hubungan Ekspresi mRNA Sirtuin dengan Kadar Creatine Kinase Muscle (CK-MM) pada Latihan Daya Tahan pada Pria Usia 18-30 Tahun
No. rekening BNI	: 0116975217

Menyatakan

Bersedia/Berkomitmen

untuk menyusun dan menyerahkan Laporan Kegiatan Penelitian dengan Luaran sebagai berikut:

1. Hak Kekayaan Intelektual - Hak Cipta
2. Artikel Ilmiah – Jurnal Nasional Terakreditasi
3. Bahan Ajar - Materi Paparan Format Powerpoint

Demikian, pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya dengan penuh tanggung jawab.

Jakarta, 24 Oktober 2024

Mengetahui Ketua DRPM Fakultas	Yang menyatakan Ketua Peneliti
(Dr. dr. Verawati Sudarma, M.Gizi, Sp.GK)	(dr. Monica Dwi Hartanti, M.Biomed., Ph.D.)