

Artikel Penelitian

Efek Hipoksia Sistemik Kronik Terhadap Aktivitas Spesifik Enzim Kreatin Kinase dan Kadar Kreatinin Otot Rangka Tikus

Ninik Mudjihartini^{1*}, Dwi Harmelia², Sri Widia AJ¹

¹Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Indonesia

²Program Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Indonesia

*Corresponding author: ninikbiokim@gmail.com

ABSTRACT

Background: Hypoxia is the result of an imbalance between oxygen supply and oxygen demand. Under hypoxic conditions, skeletal muscles are required to produce sufficient amounts of ATP to maintain their function with limited O₂. Several diseases related to aging are often accompanied by hypoxic conditions, as well as diseases caused by heart and lung disorders. Chronic hypoxia often occurs in the elderly population due to ischemic injury that induces a number of adaptive responses to the microenvironment of cells. **Purposes:** to see how the phenomenon of changes in metabolism as an energy source in skeletal muscle in chronic systemic hypoxia, by measuring the specific activity of CK and creatinine levels of skeletal muscle in rats. **Methods:** Hypoxic rats were prepared by placing them in a hypoxia chamber which was fed with a mixture of 10% oxygen and 90% nitrogen. Specific CK activity was measured spectrophotometrically using the Creatine kinase N-acetyl-L-cysteine (Randox®) kit, creatinine levels were measured by the Folin method, while total muscle protein was measured by the Christian-Warburg method. **Results:** Specific CK muscle activity of rats in groups 1H, 3H, 5H, 7H, and 14H decreased significantly compared to group K (Kruskal-Wallis) ($P < 0.05$). Muscle creatinine levels in the 1H and 14H groups decreased significantly compared to the K group, while the 3H, 5H, and 7H groups increased significantly compared to the K group (Kruskal-Wallis) ($P < 0.05$). **Conclusion:** Chronic systemic hypoxia causes a decrease in the specific CK activity of rat muscles in all groups compared to controls. ATP to form creatine phosphate decreases causing free creatine to increase. The results of the oxidation of free creatine to creatinine increased as seen in groups 3H, 5H, and 7H.

Keywords: creatinine, hypoxia, rat skeletal muscle, specific activity of creatine kinase

ABSTRAK

Latar Belakang: Hipoksia adalah hasil dari ketidakseimbangan antara suplai oksigen dan kebutuhan oksigen. Pada kondisi hipoksia, otot rangka dituntut untuk menghasilkan ATP dalam jumlah yang cukup untuk mempertahankan fungsi kontraksi dengan O₂ yang terbatas. Beberapa penyakit terkait penuaan sering disertai dengan kondisi hipoksia, demikian juga penyakit yang disebabkan oleh kelainan jantung dan paru. Hipoksia kronik sering terjadi pada populasi lanjut usia oleh karena cedera iskemik yang menginduksi sejumlah respons adaptif terhadap lingkungan mikro selnya. **Tujuan:** Penelitian ini untuk melihat bagaimana fenomena perubahan metabolisme salah satu sumber energi pada otot rangka pada keadaan hipoksia sistemik kronik, dengan mengukur aktivitas spesifik CK dan kadar kreatinin otot rangka pada tikus. **Metode:** Tikus hipoksia dibuat dengan cara memasukkan tikus ke dalam *hypoxia chamber* yang dialiri campuran gas oksigen 10% dan nitrogen 90%. Aktivitas spesifik CK

diukur secara spektrofotometri menggunakan kit *Creatine kinase N-acetyl-L-cysteine* (Randox®), kadar kreatinin dengan metode Folin, sedangkan protein total otot tikus diukur dengan metode Christian-Warburg. **Hasil:** Aktivitas spesifik CK otot tikus kelompok 1H, 3H, 5H, 7H, dan 14H menurun secara bermakna dibandingkan dengan kelompok K (Kruskal-Wallis) ($P < 0,05$). Kadar kreatinin otot tikus kelompok 1H dan 14H menurun secara bermakna dibanding dengan kelompok K, sedangkan kelompok 3H, 5H, 7H meningkat secara bermakna dibanding dengan kelompok K (Kruskal-Wallis) ($P < 0,05$). **Simpulan:** Hipoksia sistemik kronik menyebabkan penurunan aktivitas spesifik CK otot tikus semua kelompok dibanding kontrol. ATP untuk membentuk kreatin fosfat menurun menyebabkan kreatin bebas meningkat. Hasil oksidasi kreatin bebas menjadi kreatinin meningkat terlihat pada kelompok 3H, 5H, dan 7H.

Kata kunci: aktivitas spesifik kreatin kinase, hipoksia, kreatinin, otot rangka tikus

PENDAHULUAN

Otot rangka merupakan otot yang menempel pada tulang, berfungsi sebagai alat gerak aktif untuk membantu proses pergerakan tulang (1). Proses pergerakan tulang ini membutuhkan energi berupa adenosin trifosfat (ATP). Dengan demikian ATP harus selalu disediakan agar kontraksi otot dapat terus berlanjut. ATP yang dibutuhkan untuk melakukan kontraksi otot didapatkan dari tiga jalur metabolisme, yaitu: 1) pemindahan fosfat berenergi tinggi dari kreatin fosfat ke adenosine difosfat (ADP) (sumber segera); 2) fosforilasi oksidatif (sumber utama apabila tersedia oksigen), jalur ini memerlukan glukosa yang berasal dari simpanan glikogen otot atau glukosa dan asam lemak yang tersedia di darah; dan 3) glikolisis anaerob (sumber utama apabila tidak tersedia oksigen).

Jumlah ATP yang tersedia di otot rangka hanya dapat menghasilkan energi untuk kontraksi selama lima belas detik, sehingga ATP harus terus menerus disediakan melalui salah satu atau lebih sumber di atas, bergantung pada kondisi metabolik (2). Ketika otot pertama kali berkontraksi, energi yang digunakan berasal dari simpanan kreatin fosfat. Lebih dari 90% total kreatin yang ada dalam tubuh terdapat di otot, 40% diantaranya dalam

bentuk kreatin bebas dan 60% dalam bentuk kreatin fosfat (2). Kreatin bebas di otot akan segera teroksidasi dalam bentuk kreatinin. Kreatin fosfat berperan dalam proses metabolisme energi secara anaerob untuk menghasilkan ATP (3). Apabila otot berkontraksi, maka kreatin fosfat akan dihidrolisis dan mengalami defosforilasi menjadi kreatin dan fosfat berenergi tinggi yang akan berikatan dengan adenosin difosfat (ADP) sehingga menghasilkan ATP (4). Sebagian kreatin akan mengalami fosforilasi kembali menjadi kreatin fosfat dan sebagian lagi akan mengalami oksidasi menjadi kreatinin. Proses defosforilasi dan fosforilasi kreatin fosfat dikatalisis oleh enzim kreatin kinase.

Kreatinin adalah produk akhir dari metabolisme kreatin yang dibentuk dengan cara non enzimatik di otot dan tidak dapat terfosforilasi lagi, sehingga dikeluarkan melalui urin. Jumlah kreatinin yang dihasilkan setara dengan massa otot yang dimilikinya (4–6). Penelitian Hultman dkk, memperlihatkan bahwa peningkatan ekskresi kreatinin urin sesuai dengan hilangnya kreatin di otot (6). Pemeriksaan yang lebih akurat tentang jumlah kreatinin di dapatkan dengan cara biopsi otot (7). Otot merupakan salah satu jaringan yang sering dihadapkan pada kondisi hipoksia,

contohnya pada saat atlit yang melakukan lari cepat (*sprint*) (8,9). Ketersediaan oksigen yang berkurang disebut hipoksia, dilaporkan dapat menginduksi adaptasi metabolik dan hilangnya massa otot rangka (10).

Organisme eukariotik mempunyai mekanisme adaptif untuk menjaga homeostasis dalam upaya mengatasi hipoksia baik pada tingkat sistemik maupun seluler (9). Otot termasuk salah satu jaringan yang mampu beradaptasi karena mempunyai mekanisme sendiri untuk melindungi diri. Meskipun demikian, apabila keadaan hipoksia berkelanjutan maka kondisi tersebut kemungkinan dapat mempengaruhi jaringan otot itu sendiri (11,12). Hasil penelitian pada otot hipoksia terjadi adaptasi yang dapat dilihat dengan menurunnya kapasitas oksidatif diikuti penurunan kapasitas kerja aerobiknya (9). Otot rangka yang terpapar hipoksia terus menerus akan memberi efek merugikan pada strukturnya. Hipoksia dapat menyebabkan penurunan diameter serat dan meningkatkan stres oksidatif yang mempengaruhi kinerja otot (11–13). Pada kondisi hipoksia pemenuhan energi untuk otot rangka berasal dari dua jalur, yaitu glikolisis anaerob dan kreatin fosfat. Glikolisis anaerob merupakan jalur metabolisme untuk menghasilkan ATP menggunakan simpanan glukosa yang sebagian besar dapat diperoleh dari glikogen otot, glukosa yang terdapat di dalam aliran darah, dan glukoneogenesis. Glukoneogenesis adalah proses pembentukan glukosa atau glikogen dari substrat selain karbohidrat seperti asam amino, laktat, gliserol dan propionat. Jumlah ATP yang dihasilkan oleh proses glikolisis anaerob sebanyak 2 ATP, jauh lebih sedikit dibandingkan dengan

glikolisis aerob yang menghasilkan 38 ATP (11,12,14).

Kreatin fosfat dibentuk melalui reaksi yang reversibel, dan dikatalisis oleh enzim kreatin kinase (CK) yang mempunyai peranan penting dalam proses metabolisme energi secara anaerobik di otot untuk menghasilkan ATP. Kreatin kinase ditemukan dalam sel yang memiliki kebutuhan energi tinggi antara lain di otot. Pada kondisi hipoksia, otot rangka dituntut untuk menghasilkan ATP dalam jumlah yang cukup untuk mempertahankan fungsi kontraksi dengan O₂ yang terbatas. Apabila otot rangka tersebut mengalami kondisi hipoksia sistemik yang berlangsung kronik maka aktivitas spesifik kreatin kinase dan kadar kreatinin kemungkinan akan terpengaruh pada kondisi tersebut. Beberapa penyakit terkait penuaan sering disertai dengan kondisi hipoksia, demikian juga pada penyakit yang disebabkan oleh kelainan jantung dan paru (15,16). Berangkat dari kenyataan tersebut penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana pengaruh hipoksia sistemik kronik terhadap aktivitas spesifik kreatin kinase dan kadar kreatinin pada otot rangka tikus.

METODE

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo* model hipoksia pada hewan percobaan. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus jantan (*Sprague dawley*) dengan berat 200 – 250 gram, dan umur 10 – 12 minggu. Hewan percobaan yang digunakan sebanyak 24 ekor. Bahan percobaan yang diambil adalah otot rangka ekstremitas bawah kanan.

Tikus jantan sejumlah 24 ekor dibagi secara acak menjadi 6 kelompok perlakuan. Kelompok K adalah kelompok kontrol tanpa perlakuan hipoksia, sedangkan

kelompok 1H, 3H, 5H, 7H dan 14H ditempatkan dalam bilik hipoksia (Gambar 1.) yang dialiri campuran gas (O_2 : 10% dan N_2 : 90%) dengan durasi waktu berturut turut 1, 3, 5, 7, dan 14 hari. Air dan makanan standar (*ad libitum*) disiapkan di dalam bilik hipoksia. Metode hipoksia ini mengikuti cara yang telah digunakan oleh peneliti sebelumnya, dan sudah dinyatakan bahwa perlakuan tersebut sesuai dengan kondisi hipoksia sistemik kronik (17).



Gambar 1. Bilik hipoksia.

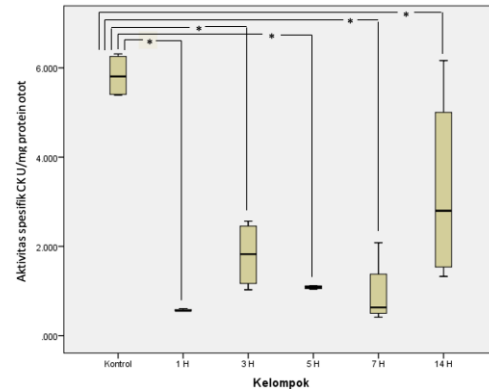
Kelompok 1H, 3H, 5H, 7H dan 14H ditempatkan dalam bilik hipoksia (Gambar 1.) yang dialiri campuran gas (O_2 : 10% dan N_2 : 90%) dengan durasi waktu berturut turut 1, 3, 5, 7, dan 14 hari secara bergantian.

Aktivitas total CK diukur secara spektrofotometri menggunakan kit *Creatine kinase N-acetyl L-cysteine* (Randox®), kadar kreatinin diukur dengan metode Folin, sedangkan protein otot tikus total diukur dengan metode Christian-Warburg (18). Aktivitas CK spesifik jaringan otot tikus (U/mg protein) didapat dengan cara membagi aktivitas CK total (U/L) dengan kadar protein otot (mg/L protein). Data yang didapat dianalisis menggunakan *software* SPSS 22.0. Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil sebaran tidak normal dan tidak homogen sehingga analisis statistik yang digunakan adalah uji Kruskal-Wallis, dan

dilanjutkan dengan uji Post Hoc Mann-Whitney untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Perbedaan antara variabel dinyatakan bermakna bila $P < 0,05$. Penelitian telah mendapatkan lolos kaji etik dengan nomor: 480/PT02.FK/ETIK/2010.

HASIL

1. Hasil pengukuran aktivitas spesifik kreatin kinase otot tikus masing-masing kelompok berturut-turut adalah sebagai berikut: Kelompok K (5.392-6.313) U/mg protein, 1H (0.555-0.608) U/mg protein, 3H (1.028-2.567) U/mg protein, 5H (1.045-1.116) U/mg protein, 7H 0.415-2.082 U/mg protein, dan 14H (1.327-6.163) U/mg protein. Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna (Kruskal-Wallis) ($P < 0,05$) antara kelompok K dengan kelompok 1H, 3H, 5H, 7H, dan 14H (Gambar 2.).

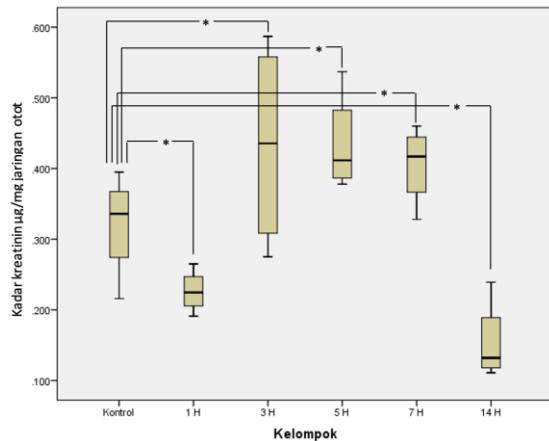


*berbeda bermakna

Gambar 2. Aktivitas spesifik kreatin kinase otot tikus kelompok K (normoksia) dan kelompok hipoksia (1H, 3H, 5H, 7H dan 14H)

2. Hasil pengukuran kadar kreatinin otot tikus masing-masing kelompok berturut-turut adalah sebagai berikut: K (0,216-0,395) $\mu\text{g}/\text{mg}$ otot, 1H (0,191-0,265) $\mu\text{g}/\text{mg}$ otot, 3H (0,275-0,587) $\mu\text{g}/\text{mg}$ otot, 5H (0,378-0,537) $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein, 7H (0,328-0,460) $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein, dan 14H (0,111-0,239) $\mu\text{g}/\text{mg}$

protein. Analisis statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna (Kruskal-Wallis) ($P < 0,05$) antara kelompok K dengan 1H, 3H, 5H, 7H dan 14H (Gambar 3.).



*berbeda bermakna

Gambar 3. Kadar kreatinin otot tikus kelompok K (normoksia) dan kelompok hipoksia (1H, 3H, 5H, 7H dan 14H)

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas spesifik CK otot rangka tikus yang terpapar hipoksia 1,3,5,7, dan 14 hari menurun secara bermakna dibandingkan dengan kontrol. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu suhu, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, dan pH. Enzim CK bekerja optimal pada pH 6-8, pada kondisi hipoksia terjadi penurunan pH (19). Selain itu penelitian Rahmawati S, pada otot rangka yang hipoksia terjadi peningkatan konsumsi glukosa, yang terlihat pada hipoksia 14 hari dan hipoksia 21 hari (20). Hal ini menunjukkan terjadinya pergeseran jalur metabolisme dari glikolisis aerob ke glikolisis anaerob dan mengakibatkan penurunan produksi ATP. Penurunan ATP berarti ketersediaan substrat menurun, sehingga aktivitas CK ke arah kiri ($\text{kreatin fosfat} + \text{ADP} \leftarrow \text{kreatin} + \text{ATP}$) membentuk kreatin fosfat juga menurun.

Pada glikolisis anaerob selain terjadi penurunan produksi ATP juga akan menyebabkan penurunan pH darah karena piruvat sebagai produk akhir akan diubah menjadi laktat (20). Pada kondisi hipoksia upaya perolehan energi dicapai juga dengan cara memecah triasilgliserol dan mengoksidasi asam lemak, sehingga akan menghasilkan benda keton. Penumpukan badan keton juga menyebabkan penurunan pH darah yang berakibat menurunnya aktivitas spesifik enzim CK.

Kadar kreatinin pada kelompok hipoksia 1 dan 14 hari mengalami penurunan dibanding dengan kontrol. Hal ini disebabkan karena kreatin hasil penguraian kreatin fosfat kembali diikat dengan fosfat menjadi kreatin fosfat sebagai cadangan energi dalam bentuk kreatin fosfat di otot. Oleh karena kreatin bebas menurun kreatinin hasil oksidasi kreatin di otot juga menurun, sehingga kadar kreatininnya lebih kecil dibanding dengan kontrol. Pembentukan kreatin fosfat ini merupakan respons adaptasi dalam upaya untuk memenuhi kebutuhan ATP dalam bentuk cadangan energi berupa kreatin fosfat.

Pada hipoksia 3 hari terjadi peningkatan aktivitas spesifik CK, walaupun tetap lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Hal ini disebabkan karena adanya proses adaptasi pada otot rangka tikus dalam upaya pemenuhan energi. Pada kondisi hipoksia sistemik yang berulang akan terjadi pengaktifan mekanisme adaptasi. Mekanisme adaptasi dalam kondisi hipoksia diatur oleh gen utama yang mengalami upregulasi yaitu *Hypoxia Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α) (21,22). Melalui aktivitas HIF-1 α , ekspresi sejumlah gen akan mengalami peningkatan guna mengurangi ketergantungan sel terhadap oksigen sekaligus meningkatkan

pasokan oksigen ke jaringan. Pada kondisi hipoksia terjadi akumulasi HIF-1 α dalam sitoplasma dengan cepat (19). Ekspresi beberapa gen terkait hipoksia termasuk HIF-1 α juga meningkat pada kondisi hipoksia di jaringan adiposa dari hewan model obes (23). Peningkatan aktivitas spesifik CK pada hipoksia 3 hari dapat dikatakan sebagai respons adaptasi untuk meningkatkan perolehan ATP yang akan digunakan untuk membentuk kreatin fosfat.

Otot yang mengalami hipoksia beradaptasi terhadap keadaan hipoksia yaitu terjadi penurunan kapasitas oksidatif (glikolisis aerob), sehingga berakibat meningkatnya kebutuhan glukosa untuk glikolisis anaerob (9). Hasil ini sejalan dengan penelitian Vogel dkk. bahwa paparan hipoksia selama 14 hari menyebabkan uptake glukosa basal meningkat pada sel multipoten dari sel punca jaringan adiposa (24). Glukosa yang digunakan merupakan hasil glukoneogenesis, substrat utamanya adalah asam amino glukogenik, laktat dan gliserol (1,20,21,25,26). Ketersediaan ATP dari hasil glikolisis anaerob menyebabkan kreatin fosfat dapat kembali dibentuk pada saat istirahat (27). Cadangan kreatin fosfat yang terbentuk tersimpan di otot dan siap digunakan kembali untuk menghasilkan ATP, maka akibatnya aktivitas CK kearah kanan (kreatin fosfat + ADP \rightarrow kreatin + ATP) kembali meningkat. Meskipun demikian ATP yang tersedia tidak cukup untuk mengikat semua kreatin bebas yang ada menjadi kreatin fosfat, sehingga kreatin bebas kadarnya meningkat dan didegradasi secara spontan menjadi kreatinin. Hal ini dapat terlihat pada kadar kreatinin hipoksia 3 hari yang mengalami peningkatan melebihi kontrol.

Pada hipoksia 5 hari, aktivitas spesifik CK kembali menurun dan terus

menurun pada hipoksia 7 hari dan terendah pada hipoksia 14 hari. Kondisi ini disebabkan karena kadar oksigen yang semakin sedikit sehingga jalur metabolisme pada hipoksia sistemik kronik beralih dari fosforilasi oksidatif menjadi glikolisis anaerobik. Setiap molekul glukosa akan menghasilkan 2 ATP bila dikatabolisme melalui jalur glikolisis anaerob, sehingga sel menurunkan proses metabolismenya dan menggunakan energi yang ada untuk proses bertahan (11,23,25,28,29). Dalam hal ini ATP yang dihasilkan lebih diutamakan untuk kerja organ vital antara lain jantung, juga otak. Ketersediaan oksigen yang terbatas menyebabkan jantung berupaya memompa darah lebih kuat agar oksigen sampai ke jaringan yang membutuhkan (19).

Kadar kreatinin pada hipoksia hari ke 5 paling tinggi dibanding kelompok lain. Pada hipoksia 5 hari, aktivitas CK semakin menurun karena ATP yang ada sudah tidak cukup lagi digunakan untuk membentuk kreatin fosfat sehingga kreatin bebas meningkat. Kreatin bebas akan mengalami oksidasi secara spontan membentuk kreatinin sehingga pada hipoksia 5 hari kadar kreatinin meningkat dan mencapai kadar tertinggi dibandingkan dengan kelompok hipoksia yang lain. Pada hipoksia 7 hari dan 14 hari, ketersediaan asam amino untuk pembentukan kreatin baru semakin sedikit karena asam amino hasil degradasi protein otot diutamakan untuk pembentukan glukosa melalui jalur glukoneogenesis. Sintesis kreatin makin menurun oleh karena keterbatasan ketersediaan asam amino dan ATP. Penurunan sintesis kreatin ini dapat diartikan bahwa substrat untuk reaksi ke kiri (yaitu: reaksi enzim CK semakin menurun, dan sebaliknya reaksi ke kanan enzim CK juga menurun oleh karena produk kreatin

fosfat tidak terbentuk. Keadaan ini mendukung bahwa pada hipoksia 14 hari hasil pengukuran aktivitas spesifik CK yang semakin rendah dan kadar kreatinin yang semakin sedikit dibandingkan dengan kreatinin kontrol.

Fenomena yang terjadi pada penelitian ini dapat menggambarkan keadaan otot rangka yang mengalami hipoksia pada beberapa penyakit terkait dengan penuaan, penyakit jantung dan paru.

SIMPULAN

Hipoksia sistemik kronik menyebabkan penurunan aktivitas spesifik CK otot tikus. Penurunan kadar kreatinin otot tikus pada kelompok 1H menunjukkan penurunan oksidasi kreatin bebas oleh karena ATP masih tersedia untuk membentuk kreatin fosfat sebagai cadangan energi di otot. Peningkatan kadar kreatinin kelompok 3H, 5H dan 7H menunjukkan peningkatan oksidasi kreatin bebas oleh karena ATP untuk membentuk kreatin fosfat semakin menurun, sedangkan penurunan kreatinin pada 14H sebagai akibat penurunan kreatin bebas oleh karena produk kreatin fosfat yang semakin menurun.

KONFLIK KEPENTINGAN

Penulis tidak memiliki konflik kepentingan dan tidak ada afiliasi dengan organisasi apa pun, yang dapat menimbulkan pertanyaan bias dalam naskah.

REFERENSI

1. Lieberman M, Peet A. Essentials of Medical Biochemistry - A Clinical Approach. Wolters Kluwer; 2009.
2. Sherwood L. Human Physiology: From Cells to Systems. Cengage Learning; 2015.
3. Guimarães-Ferreira L. Role of the phosphocreatine system on energetic

homeostasis in skeletal and cardiac muscles. Einstein (Sao Paulo). 2014;12(1):126–31.

4. Engl E, Garvert MM. A Prophylactic Role for Creatine in Hypoxia? J Neurosci Off J Soc Neurosci. 2015 Jun;35(25):9249–51.
5. Lutz PL, Prentice HM. Sensing and responding to hypoxia, molecular and physiological mechanisms. Integr Comp Biol. 2002 Jul;42(3):463–8.
6. Hultman E, Söderlund K, Timmons JA, Cederblad G, Greenhaff PL. Muscle creatine loading in men. J Appl Physiol. 1996 Jul;81(1):232–7.
7. Burke DG, Smith-Palmer T, Holt LE, Head B, Chilibeck PD. The effect of 7 days of creatine supplementation on 24-hour urinary creatine excretion. J strength Cond Res. 2001 Feb;15(1):59–62.
8. Wanandi SI, Dewi S, Paramita R. Ekspresi Relatif mRNA HIF-1 α Pada Jantung, Otak dan Darah Tikus Selama Induksi Hipoksia Sistemik. Makara J Sci. 2009;13(2):185–8.
9. Hoppeler H, Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia. J Exp Biol. 2001 Sep;204(Pt 18):3133–9.
10. Chaillou T. Skeletal Muscle Fiber Type in Hypoxia: Adaptation to High-Altitude Exposure and Under Conditions of Pathological Hypoxia. Front Physiol. 2018;9:1450.
11. Berton E, Antonucci R, Palange P. Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. Monaldi Arch chest Dis = Arch Monaldi per le Mal del torace. 2001 Oct;56(5):418–22.
12. Singer D. Metabolic adaptation to hypoxia: cost and benefit of being small. Respir Physiol Neurobiol.

- 2004 Aug;141(3):215–28.
13. Koolman J, Roehm KH. Color Atlas of Biochemistry. 2005.
 14. Jagoe RT, Engelen MPKJ. Muscle wasting and changes in muscle protein metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J Suppl.* 2003 Nov;46:52s-63s.
 15. Wei Y, Giunta S, Xia S. Hypoxia in Aging and Aging-Related Diseases: Mechanism and Therapeutic Strategies. *Int J Mol Sci.* 2022 Jul;23(15).
 16. Su Z, Liu Y, Zhang H. Adaptive Cardiac Metabolism Under Chronic Hypoxia: Mechanism and Clinical Implications. *Front cell Dev Biol.* 2021;9:625524.
 17. Mudjihartini, N.; Jusman, S.W.A.; Suyatna, F.D; Sadikin M. Stres oksidatif otak tikus pada induksi hipoksia sistemik kronik. *Neurona.* 2017;132–6.
 18. Warburg O, Christian W. Isolierung und Kristallisation des Gärungsferments Enolase. *Naturwissenschaften* [Internet]. 1941 Sep;29(39):589–90. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF01482279>
 19. Flora R, Freisleben H-J, Ferdinal F, Wanandi SI, Sadikin M. Correlation of hypoxia inducible factor-1 α and vascular endothelium growth factor in rat myocardium during aerobic and anaerobic exercise. *Med J Indones.* 2012 Aug 1;21(3):133–40.
 20. Achyat S. Perbandingan Konsumsi Glukosa, Aktivitas Dan Pola Elektroforesis Enzim Laktat Dehidrogenase (LDH) Pada Otot Tikus Normoksia, Hipoksia Dan Otot Penyu Hijau (*Chelonia mydas*). Universitas Indonesia; 2010.
 21. Luo W, Wang Y. Epigenetic regulators: multifunctional proteins modulating hypoxia-inducible factor- α protein stability and activity. *Cell Mol Life Sci.* 2018 Mar;75(6):1043–56.
 22. Sousa Fialho M da L, Abd Jamil AH, Stannard GA, Heather LC. Hypoxia-inducible factor 1 signalling, metabolism and its therapeutic potential in cardiovascular disease. *Biochim Biophys acta Mol basis Dis.* 2019 Apr;1865(4):831–43.
 23. Lempesis IG, van Meijel RLJ, Manolopoulos KN, Goossens GH. Oxygenation of adipose tissue: A human perspective. *Acta Physiol (Oxf).* 2020 Jan;228(1):e13298.
 24. Vogel MAA, Jocken JWE, Sell H, Hoebbers N, Essers Y, Rouschop KMA, et al. Differences in Upper and Lower Body Adipose Tissue Oxygen Tension Contribute to the Adipose Tissue Phenotype in Humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Oct;103(10):3688–97.
 25. Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine-kinase- and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *J Nutr Metab.* 2012;2012:960363.
 26. Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. Harper's Illustrated Biochemistry (31st Edition). Biochemical Education; 2018.
 27. McCorry LK. Essentials of Human Physiology for Pharmacy. Routledge; 2008.
 28. De Groote E, Deldicque L. Is Physical Exercise in Hypoxia an Interesting Strategy to Prevent the

Development of Type 2 Diabetes? A Narrative Review. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2021;14:3603–16.
29. Fitch CD, Sinton DW. A Study of

Creatine Metabolism In Diseases Causing Muscle Wasting. *J Clin Invest.* 1964 Mar;43(3):444–52.