

LAPORAN AKHIR TAHUN
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)



PERBEDAAN AKTIVITAS *MYOKINE*, *MICRO-RNA* DAN *STEM CELL* ENDOGEN
PADA PBMC LAKI-LAKI DEWASA MUDA SEHAT DENGAN POLA HIDUP
SEDENTARY DIBANDINGKAN LAKI-LAKI DEWASA MUDA SEHAT DENGAN
POLA HIDUP AKTIF

TAHUN KE – 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dr. DAMAYANTI TINDUH, dr., Sp.KFR-K	8889900016
Dr. SM MEI WULAN, dr., Sp.KFR-K	8871010016
PATRICIA MARIA K, dr., Sp.KFR-K	0021116206
I PUTU ALIT PAWANA, dr., SpKFR	8894800016

DIBIYAI OLEH:

DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2IH/PTNBH/DRPM/2018

UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018

**LAPORAN AKHIR TAHUN
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
(PDUPT)**



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

**PERBEDAAN AKTIVITAS *MYOKINE*, *MICRO-RNA* DAN *STEM CELL* ENDOGEN
PADA PBMC LAKI-LAKI DEWASA MUDA SEHAT DENGAN POLA HIDUP
SEDENTARY DIBANDINGKAN LAKI-LAKI DEWASA MUDA SEHAT DENGAN
POLA HIDUP AKTIF**

TAHUN KE – 1 DARI RENCANA 2 TAHUN

Dr. DAMAYANTI TINDUH, dr., Sp.KFR-K	8889900016
Dr. SM MEI WULAN, dr., Sp.KFR-K	8871010016
PATRICIA MARIA K, dr., Sp.KFR-K	0021116206
I PUTU ALIT PAWANA, dr., SpKFR	8894800016

**DIBIYAI OLEH:
DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN
KEPADA MASYARAKAT
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOVEMBER 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : Perbedaan Aktivitas Myokine, Micro-RNA dan Stem Cell Endogen di PBMC Orang Dewasa dengan Pola Hidup Sedentary Dibandingkan Orang Dewasa dengan Pola Hidup Aktif

Peneliti/Pelaksana
Nama Lengkap : Dr. dr. DAMAYANTI TINDUH, S.Ked, Sp.K.F.
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
NIDN : 8889900016
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi
Nomor HP : 081703293335
Alamat surel (e-mail) : damayanti.tinduh@fk.unair.ac.id

Anggota (1)
Nama Lengkap : dr. SRI MARDJIATI MEIWULAN S.Ked, Sp.K.F.,
Sp.K.F.
NIDN : 8871010016
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)
Nama Lengkap : dr. PATRICIA MARIA K Sp.K.F.
NIDN : 0021116206
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (3)
Nama Lengkap : dr. I PUTU ALIT PAWANA S.Ked, Sp.K.F.
NIDN : 8894800016
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Institusi Mitra (jika ada)
Nama Institusi Mitra : -
Alamat : -
Penanggung Jawab : -
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun
Biaya Tahun Berjalan : Rp 120,000,000
Biaya Keseluruhan : Rp 306,050,000

Mengetahui,
Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran



(Prof. Dr. Ni Made Mertaniasih, dr., M.S.,
Sp.MK)
NIP/NIK 195703071984032001

Kota Surabaya, 12 - 11 - 2018
Keang,



(Dr. dr. DAMAYANTI TINDUH, S.Ked,
Sp.K.F.)
NIP/NIK 197102122006042031

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi



(Prof. Drs. Hery Purnobasuki, M.Si., Ph.D)
NIP/NIK 196705071991021001

RINGKASAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Aktivitas fisik regular merupakan faktor yang dapat mengurangi kejadian Penyakit Tidak Menular (PTM) yang terkait dengan pola hidup *sedentary* (Dias et al, 2014; Nascente et al, 2016). Menurut panduan aktivitas fisik, aktivitas fisik sedang hingga berat paling sedikit 30 menit sehari, 5 hari dalam seminggu dibutuhkan untuk mempertahankan kesehatan (Nascente et al, 2016). Aktivitas fisik akan menyebabkan aktivasi sistem energi yang memengaruhi kualitas sistem neuromuskuloskeletal dan kardiorespirasi. Latihan intensitas sedang hingga berat akan meningkatkan kadar *myokine* (IL-6, irisin, BDNF, Klotho), perubahan pada ekspresi 34 *microRNA* yang bersirkulasi dan aktivitas *stem cell* di sirkulasi perifer (*peripheral blood mononuclear cell*/PBMC). Perubahan pada *microRNA* melibatkan paling sedikit 12 jalur genetik, termasuk *TGF- β and MAPK signaling*. Latihan keseimbangan fisiologis singkat dengan intensitas tinggi mengubah profil *microRNA* dalam *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) (Radom-Aizik, 2012). Tingkat mobilisasi *stem cell* ini dipengaruhi oleh tingkat kebugaran dasar, yang ditentukan oleh perilaku aktivitas fisik sehari-hari.

Sejalan dengan upaya pengembangan *roadmap* penelitian Universitas Airlangga pada bidang prioritas kesehatan dan obat, maka sesuai dengan tema riset pengembangan *stem cell*, tim peneliti menitik beratkan riset ini pada pengamatan pada aktivitas *stem cell* endogen di PBMC pada kelompok orang dewasa yang memiliki pola hidup *sedentary* dibandingkan pola hidup aktif. Diduga terdapat perbedaan *microRNA* khusus pada dinamika aktivitas *stem cell* endogen pada kedua kelompok ini. *Myokine* merupakan faktor pencetus ekspresi dari berbagai *microRNA* khusus yang terkait dengan aktivitas *stem cell* dalam PBMC.

Penelitian ini terdiri dari 2 tahap (tahun). Penelitian tahun 1 menggunakan desain *cross sectional* pada 2 kelompok laki-laki dewasa, kelompok pola aktivitas *sedentary* dan pola aktivitas aktif. Penetapan kelompok orang dewasa sebagai subyek penelitian didasarkan pada urgensi untuk menemukan formula latihan umum yang memadai untuk menjaga kualitas fisik dan kualitas hidup sebagai pijakan untuk mencapai tingkat kesehatan yang baik berdasarkan pola hidup sehat yang memadai. Pada tahun ke-2 penelitian ini akan dikembangkan menjadi *experimental research* dengan desain *pretest-posttest control study* dengan memberikan perlakuan terapi latihan berdosisi tertentu pada kelompok *sedentary* (sebagai kelompok perlakuan).

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan kekuatan, hikmat dan pemahaman bagi kami dalam pelaksanaan penelitian ini. Kami juga berterima kasih pada Kementrian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi yang memberikan kesempatan pada kami untuk mendapatkan pendanaan bagi penelitian dasar ini. Di samping pendanaan ini memungkinkan pengembangan fasilitas riset yang lebih canggih, pendanaan ini juga bermanfaat mendorong terlaksananya penelitian thesis peserta Program Pendidikan Dokter Spesialis 1 Program Studi Ilmu Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi, yaitu dr. Budiyanto Uda'a dan dr. Stefani.

Penelitian ini dilaksanakan pada subyek penelitian laki-laki sehat berusia antara 26-40 tahun yang memiliki gaya hidup *sedentary* dan aktif. Penelitian 2 tahap ini terdiri dari tahap evaluasi kondisi basal dan tahap eksperimental dengan memberikan latihan khusus pada kelompok *sedentary*. Saat ini telah terkumpul 20 subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Pada laporan kemajuan ini dipaparkan data *baseline* pembeda antara kelompok *sedentary* dan aktif. Ada beberapa parameter yang masih dalam pengerjaan dan akan disusulkan dalam pelaporan berikutnya, terkait dengan kesiapan fasilitas pendukung.

Semoga laporan ini dapat memberikan informasi tentang perkembangan penelitian yang didanai Ristekdikti ini. Kami berterima kasih atas semua pihak yang berkontribusi pada pelaksanaan rangkaian tahapan penelitian ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
BAB 1 PENDAHULUAN	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	10
BAB 4 METODE PENELITIAN	11
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI	17
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	22
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN : Bukti Proses Review Manuskrip	26



DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Karakteristik Umum Subyek Penelitian	17
Tabel 5.2 Komposisi Tubuh dan Kepadatan Tulang Subyek Penelitian	18
Tabel 5.3 Level Kebugaran Subyek Penelitian	18
Tabel 5.4 Performa Keseimbangan Subyek Penelitian	19
Tabel 5.5 Irisin, BDNF dan IL-6 serum Subyek Penelitian	20
Tabel 5.6 Korelasi antara Kebugaran, Irisin, BDNF dan IL-6 serum seluruh Subyek Penelitian	20
Tabel 5.7 Korelasi antara Kebugaran, Irisin, BDNF dan IL-6 serum per Kelompok Pengamatan	21

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan struktur demografi Indonesia menunjukkan pertumbuhan yang tinggi pada kelompok usia produktif. Fakta menunjukkan bahwa perubahan struktur demografi ini juga diikuti oleh peningkatan pola penyakit tidak menular (PTM) yang mengancam produktivitas kelompok usia ini (Hadiat, 2015; Nila, 2015), yang berkontribusi sebesar 60% dari kematian di dunia per tahun, terutama di negara berkembang. WHO menyebutkan bahwa fenomena ini sebagai “*triple threat of disease*”. Sejak tahun 2010, penyebab terbesar kesakitan dan kematian adalah stroke, jantung, dan kencing manis (Anung, 2017).

Aktivitas fisik regular merupakan faktor yang dapat mengurangi kejadian PTM yang terkait dengan pola hidup *sedentary* (Dias et al, 2014; Nascente et al, 2016). Menurut panduan aktivitas fisik, aktivitas fisik sedang hingga berat paling sedikit 30 menit sehari, 5 hari dalam seminggu dibutuhkan untuk mempertahankan kesehatan (Nascente et al, 2016). Aktivitas fisik akan menyebabkan aktivasi sistem energi yang memengaruhi kualitas sistem neuromuskuloskeletal dan kardiorespirasi. Gerakan, peningkatan suhu dan kondisi hipoksia sesaat yang ditimbulkan pada saat latihan intensitas sedang hingga berat akan meningkatkan aktivitas *myokine*, perubahan pada ekspresi berbagai *microRNA* dan aktivitas *stem cell* di sirkulasi perifer (Febbraio dan Pedersen, 2002; Lyngso *et al.*, 2002; Ethier dan Simmons, 2007; Pedersen dan Febbraio, 2008; Schmidt *et al.*, 2009; Radom-Aizik, 2012).

Latihan juga sangat penting dalam pemeliharaan homeostasis rawan sendi (Maly dan Robbins 2014), hanya mekanisme secara rinci yang terjadi pada rawan sendi sehat masih belum jelas (Blazek et al., 2016). Rawan sendi memiliki kemampuan menahan beban dinamik aktivitas sehari-hari seperti berjalan, tetapi beban sehari-hari dengan frekuensi tertinggi dari aktivitas seperti loncat, olahraga pivot dapat memberi *overloading* pada matriks ekstraseluler yang diikuti dengan hilangnya *aggrecan* yang meningkatkan risiko terjadinya osteoarthritis (Bricca et al., 2017).

Myokine adalah satu dari banyak *cytokine* dan protein kecil lain (~5–20 kDa) serta peptide proteoglikan yang diproduksi dan dilepaskan otot (*myocyte*) sebagai respon dari kontraksi otot. *Myokine* memiliki efek otokrin, parakrin dan/atau endokrin. Yang termasuk dalam *myokine* adalah IL-6, myostatin, LIF, IL-7, BDNF, *PGC-1 α -dependent myokine irisin*, faktor IGF-1 dan FGF-2; FSTL-1, dan Klotho (Pedersen and Fischer, 2010; Pedersen and Febbraio, 2012; Zhang et al., 2013; Avin et al., 2014; Ijiri et al., 2015). Masing-masing *myokine* ini memiliki titik tangkap kerja spesifik dan dipengaruhi oleh faktor-faktor spesifik.

MicroRNA (miRNA) adalah molekul RNA *non-coding* kecil (mengandung 22 nukleotida) yang berfungsi pada *RNA silencing* dan regulasi pasca transkripsional dari suatu ekspresi gen. Terjadi perubahan ekspresi pada 34 *microRNA*, yang terlibat dalam proses inflamasi. Perubahan pada *microRNA* melibatkan paling sedikit 12 jalur genetik, termasuk *TGF- β and MAPK signaling*. Berbagai jenis latihan fisik telah terbukti mengaktifkan *microRNA* dalam PBMC, yaitu latihan dengan tahanan intensitas sedang hingga tinggi, latihan ketahanan durasi panjang, dan latihan keseimbangan fisiologis singkat dengan intensitas tinggi (Radom-Aizik, 2012; Meurer et al., 2016; Polakovicova et al., 2016; Yao, 2016).

Mesenchymal stem cells (MSC) adalah *stem cell* multipoten yang dapat berdiferensiasi dalam berbagai tipe sel untuk pembentukan jaringan tubuh dan nasibnya ditentukan oleh sinyal lingkungan. Secara teoritis, MSC berada pada seluruh organ tubuh manusia, di daerah perivaskuler dari tiga sumber terbanyaknya, yaitu sumsum tulang, darah tali pusat dan jaringan adiposa (Barry dan Murphy, 2004). **Hematopoietic stem cells (HSC)** adalah *stem cell* multipoten yang dapat berdiferensiasi menjadi semua sel darah dalam jalur myeloid dan jalur limfoid. *Hematopoietic stem cells* ditemukan dalam sumsum tulang dewasa, darah tali pusat, plasenta, darah perifer yang dimobilisasi dengan *granulocyte colony-stimulating factors/G-CSF* (yang menginduksi pelepasan sel dari kompartemen sumsum tulang) (Halim et al., 2010). Mekanisme mobilisasi *stem cell* ke sirkulasi diduga melalui jalur *sphingosine-1-phosphate (S1P) gradient*, *oxygen gradient*, IL-6, PTH dan gaya mekanik (*squeeze dan fluid shear stress* yang menyebabkan perubahan pada *tensegrity*) akibat kombinasi kontraksi otot dan *compression stress* pada jaringan tubuh (Febbraio dan Pedersen, 2002; Lyngso et al., 2002; Ethier dan Simmons, 2007; Pedersen dan Febbraio, 2008; Schmidt et al., 2009). Pada proses latihan terjadi peningkatan suhu tubuh, aktivasi sitokain dan *growth factor* yang menyebabkan mobilisasi *stem cell* ke dalam sirkulasi

(migrasi transendothelial). Proses ini terdiri dari tahap *rolling/tethering* (membutuhkan P-selectin dan $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$), *activation* (merupakan hasil interaksi antara kemokin yang diekspresikan endotel dengan reseptornya pada *stem cell* (misalnya CXCL12/CXCR4)), *adhesion* (merupakan hasil induksi VCAM-1 dan *very late activation antigen 4 (VLA-4)*) dan *diapedesis* (*stem cell* akan masuk ke dalam jaringan tujuan dan berdiferensiasi sesuai kebutuhan jaringan) yang melibatkan faktor kemotaktik dari sitokain/kemokain pada *microenvironmentnya* dan faktor internal *stem cell* itu sendiri (Fox *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2009).

Banyak penanda biologis fungsi tulang rawan seperti kolagen tipe II atau sintesa dan degradasi aggregan yang telah diteliti (Yamaguchi *et al.*, 2013). Sintesis Kolagen tipe II dapat dideteksi dari level *procollagen IIC propeptide (CPII)* dalam serum dan bila di pecah menjadi tiga perempat fragmen (col2-3/4 epitope) menjadi *collagen type II cleavage product (C2C)*. Penanda biologis ini dapat digunakan untuk menunjukkan trauma rawan sendi dini (Esaid dan Chichester, 2006; Yamaguchi *et al.*, 2013).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat perbedaan kadar *myokine*, ekspresi *miRNA* dan aktivitas *stem cell* pada kelompok orang dewasa dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif?

1.3 Urgensi Penelitian

Mengembangkan dosis latihan fisik yang memberikan efek pada aktivitas regenerasi oleh *stem cell* sebagai upaya promotif dan preventif terhadap komplikasi pola hidup *sedentary* pada kelompok orang dewasa.



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pendahuluan

Perkembangan struktur demografi Indonesia dari tahun 1971 hingga 2010 menunjukkan pertumbuhan yang tinggi pada kelompok usia produktif. Pada usia ini diharapkan kualitas hidup mencapai masa keemasannya. Namun fakta menunjukkan bahwa perubahan struktur demografi ini juga diikuti oleh peningkatan pola penyakit tidak menular (PTM) yang mengancam produktivitas kelompok usia ini (Hadiat, 2015; Nila, 2015). Penyakit Tidak Menular (PTM) merupakan ancaman kesakitan dan kematian serta produktivitas seseorang yang berimplikasi terhadap kesehatan masyarakat saat ini. WHO menyebutkan bahwa fenomena ini sebagai “*triple threat of disease*”. Sejak tahun 2010, penyebab terbesar kesakitan dan kematian adalah stroke, jantung, dan kencing manis. Dalam hal ini, PTM berkontribusi sebesar 60% dari kematian di dunia per tahunnya, terutama di negara miskin dan negara berkembang (Anung, 2017).

Faktor risiko PTM terkait dengan gaya hidup masyarakat mulai mengalami pergeseran. Kurangnya aktivitas fisik menyebabkan faktor risiko kegemukan. Menurut WHO 2013, faktor-faktor utama penyumbang terjadinya PTM antara lain faktor sosial dan faktor perilaku yang sangat terkait dengan budaya. Faktor-faktor tersebut merupakan faktor yang dapat diubah dan dimodifikasi. Upaya pencegahan dan pengendalian penyakit tidak menular melalui pendekatan budaya merupakan salah satu upaya yang diharapkan dapat diterima dengan baik karena sesuai dengan pola hidup lokal (Anung, 2017).

Aktivitas fisik regular merupakan faktor yang dapat mengurangi kejadian PTM yang terkait dengan pola hidup *sedentary* (Dias *et al.*, 2014), misalnya penyakit jantung coroner, hipertensi, obesitas, diabetes tipe 2, osteoporosis, kanker usus besar, depresi, gangguan toleransi glukosa dan abnormalitas lemak (Nascente *et al.*, 2016). Menurut panduan aktivitas fisik, aktivitas fisik sedang hingga berat paling sedikit 30 menit sehari, 5 hari dalam seminggu dibutuhkan untuk mempertahankan kesehatan (Nascente *et al.*, 2016). Aktivitas fisik akan menyebabkan aktivitas sistem energi yang memengaruhi kualitas system neuromuskuloskeletal

dan kardiorespirasi. Gerakan, peningkatan suhu dan kondisi hipoksia sesaat yang ditimbulkan pada saat latihan intensitas sedang hingga berat akan meningkatkan aktivitas *myokine*, perubahan pada ekspresi berbagai *microRNA* dan aktivitas *stem cell* di sirkulasi perifer (Febbraio dan Pedersen, 2002; Lyngso *et al.*, 2002; Ethier dan Simmons, 2007; Pedersen dan Febbraio, 2008; Schmidt *et al.*, 2009; Radom-Aizik, 2012).

Beban pada sendi yang berkurang seperti statik dan imobilisasi menyebabkan atropi dan degenerasi rawan sendi. Gaya hidup inaktif pada model hamster menyebabkan berkurangnya jumlah proteoglikan dan terjadi fibrilasi, ulserasi dan erosi rawan sendi (Otterness *et al.*, 1998). Latihan / aktivitas fisik mengaktifkan/ menghambat transkripsi gen yang berhubungan fungsi seluler rawan sendi. Latihan intensitas rendah merupakan aktivator/represor gen transkripsional yang terlibat dalam kesehatan rawan sendi dan berkontribusi dalam pencegahan inflamasi (Blazek *et al.*, 2016). *In vitro* kompresi dinamis pada kondrosit dilaporkan meningkatkan ekspresi kolagen tipe II matriks ekstra seluler (Leong dan Sun, 2014). Namun, beban berlebihan pada rawan sendi akan di respon oleh kondrosit berupa perubahan struktur dan komposisi matriks ekstraseluler yang mengurangi kemampuan biomekanik rawan sendi tersebut (Bader *et al.*, 2011) Stress mekanik memninkan produksi dari sitokin pro-inflamasi meningkat, dan selanjutnya meningkatkan produksi enzim proteolitik seperti matrix metalloproteinases (MMP) dan aggrenases (ADAMTS) yang kemudian memecah kolagen dan proteoglikans (Guilak, 2011; Bader *et al.*, 2011) terutama kolagen tipe II dengan perubahan rasio C2C/CPII sebagai tanda dini osteoarthritis (Yamaguchi *et al.*, 2013).

2.2 Myokine, stem cell dan microRNA

2.2.1 Myokine

Myokine adalah satu dari banyak *cytokine* dan protein kecil lain (~5–20 kDa) serta peptide proteoglikan yang diproduksi dan dilepaskan otot (*myocyte*) sebagai respon dari kontraksi otot. *Myokine* memiliki efek otokrin, parakrin dan/atau endokrin. Sebagai respon terhadap kontraksi otot, serat otot tipe I dan II mengekspresikan myokine IL-6, yang bekerja lokal pada otot tersebut (melalui aktivasi *AMP-activated protein kinase*, AMPK) dan bila dilepaskan ke sirkulasi akan berperan seperti hormon bagi beberapa organ efektor (Pedersen and

Fischer, 2010). Myostatin, LIF, IL-6 dan IL-7 terlibat dalam hipertrofi otot dan *myogenesis*, sedangkan BDNF dan IL-6 terlibat dalam *AMPK-mediated fat oxidation*. IL-6 juga memberikan efek sistemik pada hepar, jaringan adiposa dan system imun, serta memperantarai *crossstalk* antara sel L usus dan pankreas. *Myokine* lain yang memiliki faktor osteogenik adalah faktor IGF-1 dan FGF-2; FSTL-1, memperbaiki fungsi endothel pada sistem vaskuler; dan *PGC-1 α -dependent myokine irisin*, yang mendorong pembentukan *brown-fat* (Pedersen and Febbraio, 2012). Bruce Spiegelman menemukan irisin pada tahun 2012, yang merupakan hormon peptida yang produksinya diinduksi latihan endurans otot intensitas sedang dan terlibat dalam proses konversi *white adipose tissue (WAT)* menjadi *brown adipose tissue (BAT)*, yang lebih banyak mengandung mitokondria. Beberapa penelitian saat ini menunjukkan bahwa irisin merupakan hormon efektif untuk mengatasi kanker payudara. Klotho adalah protein panjang umur yang sangat kuat, diduga berhubungan dengan pencegahan atrofi otot, osteopenia dan penyakit jantung dan pembuluh darah. Ekspresi klotho dimodulasi oleh aktivitas otot rangka, dan dipengaruhi oleh tingkat kebugaran seseorang (Zhang *et al.*, 2013; Avin *et al.*, 2014; Ijiri *et al.*, 2015).

2.2.2 *microRNA*

MicroRNA (miRNA) adalah molekul RNA *non-coding* kecil (mengandung 22 nukleotida) yang berfungsi pada *RNA silencing* dan regulasi pasca transkripsional dari suatu ekspresi gen. Terjadi perubahan ekspresi pada 34 *microRNA*, yang terlibat dalam proses inflamasi (misalnya penurunan kadar miR-125b oleh faktor proinflamatorik LPS; dan peningkatan miR-132, penurunan miR-125b dan penurunan let-7e yang terlibat dalam *TLR4 signaling*). Perubahan pada *microRNA* melibatkan paling sedikit 12 jalur genetik, termasuk *TGF- β and MAPK signaling*. *miRNA* yang terlibat dalam proses mobilisasi terkait dengan aktivitas CXCR4 adalah miR-150, sedangkan yang terlibat dalam proses *homing* yang terkait dengan SDF-1 α adalah miR-27b dan miR-126. *miRNA* yang terlibat dalam proses diferensiasi tergantung pada jenis *stem cell* yang diaktivasi. miR-1 dan miR-133 dikenal sebagai miRNA yang diproduksi saat latihan otot, terkait dengan aktivitas sel satelit otot. miR-22 adalah miRNA yang berasal dari otot halus, diduga terkait dengan kualitas pembuluh darah. miR-26a terkait dengan aktivitas *Mesenchymal Stem Cell (MSC)* yang berasal dari sum-sum tulang dan jaringan lemak. miR-181 terkait dengan aktivitas *hematopoietic Stem Cell (HSC)* dalam pembentukan berbagai sel darah. Berbagai jenis latihan fisik telah terbukti mengaktifkan *microRNA* dalam PBMC, yaitu latihan dengan tahanan

intensitas sedang hingga tinggi, latihan ketahanan durasi panjang, dan latihan keseimbangan fisiologis singkat dengan intensitas tinggi (Radom-Aizik, 2012; Meurer *et al.*, 2016; Polakovicova *et al.*, 2016; Yao, 2016).

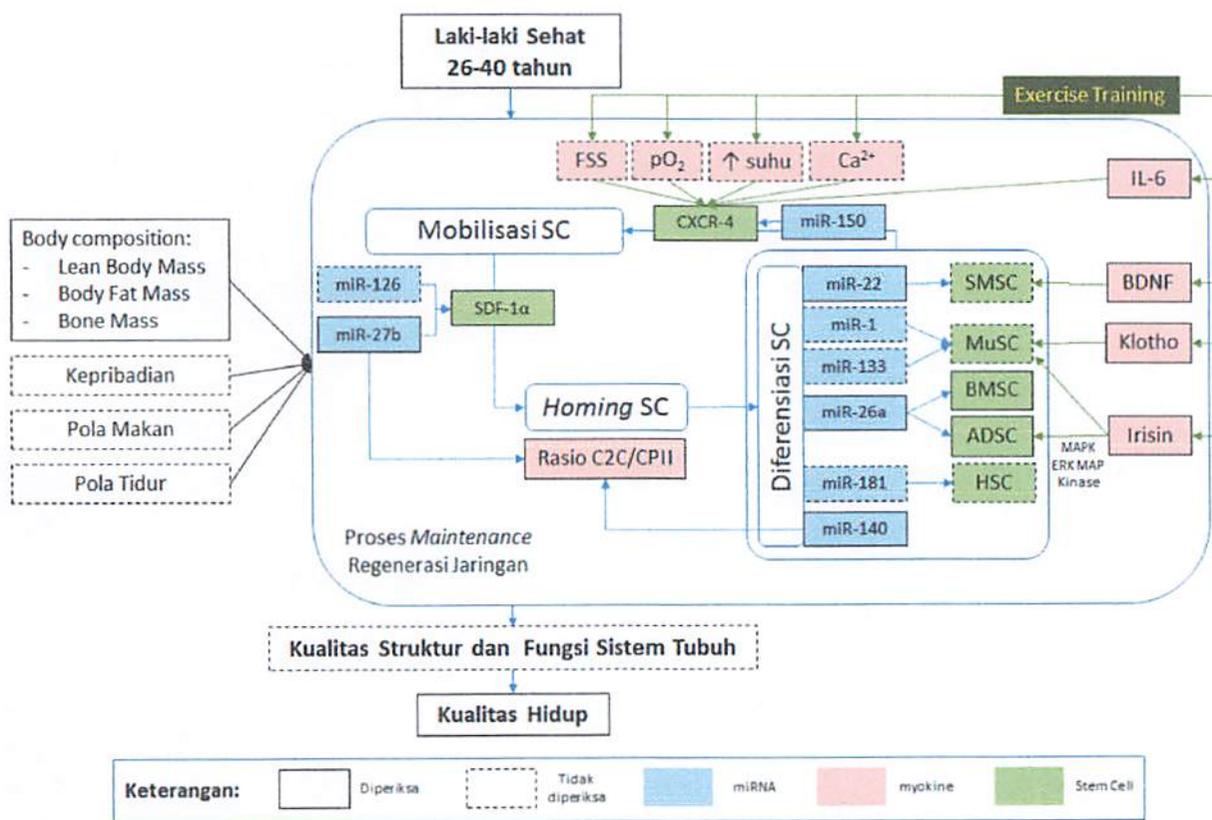
2.2.3 Stem Cell

Mesenchymal stem cells (MSC) adalah *stem cell* multipoten yang dapat berdiferensiasi dalam berbagai tipe sel, termasuk OB, kondrosit dan adiposit, yang plastisitas dan nasibnya ditentukan oleh sinyal lingkungan. Dengan metode *flow cytometry* dapat dilakukan seleksi *bone marrow cells* dengan marker permukaan yang spesifik, yaitu CD73, CD90, CD105 (Halim *et al.*, 2010). *Mesenchymal stem cells* (MSC) memiliki kapasitas *self-renewal* yang besar pada saat mempertahankan multipotensinya. Kapasitas proliferasi dan diferensiasi MSC menurun sejalan dengan peningkatan usia. Secara teoritis, MSC berada pada seluruh organ tubuh manusia, di daerah perivaskuler dari tiga sumber terbanyaknya, yaitu sumsum tulang, darah tali pusat dan jaringan adiposa. Jumlah MSC mencapai 0,001-0,01% dari populasi total sel berinti pada sumsum tulang (Barry dan Murphy, 2004). Setelah proliferasi asimetris, MSC akan mengalami mobilisasi meninggalkan ceruknya, sebagian masuk dalam sirkulasi, dan dalam perjalanannya mengalami diferensiasi, tergantung pada kondisi *microenvironment*.

Hematopoietic stem cells (HSC) adalah *stem cell* multipoten yang dapat berdiferensiasi menjadi semua sel darah dalam jalur myeloid (monosit/ makrofag, netrofil, basofil, eosinofil, eritrosit, megakariosit/ platelet dan sel dendritik) dan jalur limfoid (limfosit T, limfosit B dan *natural killer cells*). *Hematopoietic stem cells* ditemukan dalam sumsum tulang dewasa, darah tali pusat, plasenta, darah perifer yang dimobilisasi dengan *granulocyte colony-stimulating factors/G-CSF* (yang menginduksi pelepasan sel dari kompartemen sumsum tulang). Komponen HSC 1:10.000 dari seluruh sel jaringan myeloid, dan tidak membentuk suatu populasi yang seragam (Halim *et al.*, 2010). Bentuk HSC menyerupai limfosit, tidak melekat, kecil dan berbentuk bulat, dengan inti bulat serta memiliki rasio sitoplasma terhadap inti yang rendah, mengekspresikan CD14, CD34 dan CD45 (Halim *et al.*, 2010). Mobilisasi HSC merupakan sebuah mekanisme untuk meregulasi jumlah *stem cell*, dan merupakan mekanisme yang melengkapi "*asymmetric division*" (Ho, 2005). *Hematopoietic stem cells* yang keluar dari sumsum tulang, akan beredar dalam darah dan kemudian kembali ke dalam sumsum tulang untuk mengisi ceruk dengan cara yang sama dengan MSC (Fox *et al.*, 2007).

Mekanisme mobilisasi *stem cell* ke sirkulasi diduga melalui jalur *sphingosine-1-phosphate* (S1P) *gradient*, *oxygen gradient*, IL-6, PTH dan gaya mekanik (*squeeze* dan *fluid shear stress* yang menyebabkan perubahan pada *tensegrity*) akibat kombinasi kontraksi otot dan *compression stress* pada jaringan tulang (Febbraio dan Pedersen, 2002; Lyngso *et al.*, 2002; Ethier dan Simmons, 2007; Pedersen dan Febbraio, 2008; Schmidt *et al.*, 2009). Pada proses latihan terjadi peningkatan suhu tubuh, aktivasi sitokain dan *growth factor* yang menyebabkan aktivasi S1P yang akan diterjemahkan secara spesifik tergantung pada faktor yang tersedia dalam *microenvironment stem cell* tersebut. Proses mobilisasi *stem cell* ke dalam sirkulasi (migrasi transendothelial) terdiri dari tahap *rolling/tethering*, *activation*, *adhesion* dan *diapedesis* yang melibatkan faktor kemotaktik dari sitokain/kemokain pada *microenvironmentnya* dan faktor internal *stem cell* itu sendiri (Fox *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2009). Fase *rolling/tethering* membutuhkan P-selectin dan Ca^{2+}/Mg^{2+} , sedangkan fase *activation* merupakan hasil interaksi antara kemokin yang diekspresikan endotel dengan reseptornya pada *stem cell* (misalnya CXCL12/CXCR4), fase *adhesion* merupakan hasil induksi VCAM-1 dan *very late activation antigen 4* (VLA-4), dan pada fase *diapedesis stem cell* akan masuk ke dalam jaringan tujuan dan berdiferensiasi sesuai kebutuhan jaringan (Fox *et al.*, 2007; Schmidt *et al.*, 2009). Sel pengeksresi $\alpha 4$ integrin dapat berikatan dengan fibronectin, OPN, VCAM-1 dan invasin, menggambarkan sel yang sedang aktif bermobilisasi (Humpries *et al*, 2006; Kumar dan Ponnazhagan, 2007; Crooks *et al*, 2010). Sedangkan proses *homing stem cell* yang bersirkulasi terjadi melalui tahap *thetering*, *rolling*, *firm adhesion* dan *transmigration* (Karp dan Teo, 2009). Sel pengekspresi $\alpha 2$ integrin (CD29+) dapat berikatan dengan kolagen dan laminin sehingga memiliki tingkat aktivitas *homing* yang lebih tinggi (Humpries *et al*, 2006; Crooks *et al*, 2010).

2.3 Kerangka Konseptual



2.4 Hipotesis Penelitian

- 2.4.1 Terdapat perbedaan kadar *myokine* pada kelompok laki-laki dewasa muda sehat dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif
- 2.4.2 Terdapat perbedaan ekspresi berbagai *miRNA* pada kelompok laki-laki dewasa muda sehat dengan pola *sedentary* dan pola hidup aktif
- 2.4.3 Terdapat perbedaan persentase MSC yang bersirkulasi sebagai PBMC pada kelompok laki-laki dewasa muda sehat dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif
- 2.4.4 Terdapat perbedaan rasio C2C/CPII serum pada kelompok laki-laki dewasa muda sehat dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif
- 2.4.5 Terdapat hubungan antara kadar *myokine*, *miRNA* spesifik dan *stem cell* pada PBMC kelompok laki-laki dewasa muda sehat dengan pola hidup aktif

BAB 3**TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN****3.1 Tujuan Penelitian**

3.1.1 Tujuan umum :

Mengetahui adanya perbedaan kadar *myokine*, ekspresi *miRNA* dan aktivitas *stem cell* pada kelompok orang dewasa dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif

3.1.2 Tujuan khusus :

3.1.2.1 Membuktikan perbedaan kadar *myokine* pada kelompok orang dewasa dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif

3.1.2.2 Membuktikan perbedaan ekspresi berbagai *miRNA* pada kelompok orang dewasa dengan pola *sedentary* dan pola hidup aktif

3.1.2.3 Membuktikan perbedaan persentase MSC yang bersirkulasi sebagai PBMC pada kelompok orang dewasa dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif

3.1.2.4. Membuktikan perbedaan penanda biologis kolagen tipe II yang bersirkulasi pada kelompok orang dewasa dengan pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif

3.1.2.5 Membuktikan hubungan antara kadar *myokine*, *miRNA* spesifik dan *stem cell* pada PBMC kelompok orang dewasa dengan pola hidup aktif

3.2 Manfaat Penelitian

3.2.1 Bagi Subyek Penelitian

3.2.2 Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

3.2.3 Bagi Pelayanan Kesehatan

BAB 4**METODE PENELITIAN****4.1 Desain Penelitian**

Jenis penelitian tahun 1 ini adalah *cross sectional* perbandingan pada 2 kelompok, yang dilakukan terhadap kelompok orang dewasa yang memiliki pola hidup *sedentary* dan pola hidup aktif.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi target : laki-laki usia 26-40 tahun.

4.2.2 Populasi terjangkau : laki-laki usia 26-40 tahun, sehat yang melakukan aktivitas harian rendah (kelompok *sedentary*) dan yang melakukan rutinitas olahraga minimal 30 menit 3x seminggu (kelompok aktif).

4.2.3 Subyek penelitian yang dilibatkan dalam penelitian ini berjumlah 20 orang

4.2.4 Kriteria subyek penelitian

4.2.4.1 Kriteria inklusi

- a. Laki-laki usia antara 26-40 tahun.
- b. Tidak mengidap penyakit jantung dan pembuluh darah, metabolik, degeneratif pada sistem muskuloskeletal dan gangguan neuromuskuler akut maupun kronis yang diketahui dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium sebagai berikut :
 1. Skrining informasi tentang riwayat penyakit, hasil laboratorium dan obat-obatan yang digunakan untuk gangguan metabolisme (diabetes, dislipidemia, gangguan tiroid), gangguan gastrointestinal (*inflammatory bowel disease*, penyakit pankreas, malabsorpsi), gangguan hematologis dan imunologis (hemofilia, multiple myeloma, thalasemia, penyakit rematik : lupus, rheumatoid arthritis).

2. Skrining pemeriksaan fisik untuk gangguan (*impairment*) dan disabilitas pada sistem kardiorespirasi (gagal jantung kronis tak terkompensasi, *active pericarditis* atau *myocarditis*, *recent* dan *impending embolism*, *thrombophlebitis*, penyakit paru obstruktif kronis), sistem muskuloskeletal anggota gerak bawah (krepitus, keterbatasan gerak sendi, titik nyeri yang masih akut, pembengkakan, teraba hangat, bisa disertai efusi, instabilitas sendi) dan sistem neuromuskuloskeletal (gangguan ambulasi akibat *stroke*, neuropati diabetes, lesi syaraf perifer anggota gerak bawah; gangguan keseimbangan akibat proses intrakranial atau ekstrakranial).
- c. Kelompok *sedentary* : aktivitas harian rendah (kurang dari 30 menit 3x seminggu selama lebih dari 3 bulan).
- d. Kelompok aktif : aktivitas latihan rutin lebih dari 30 menit 3x seminggu selama lebih dari 3 bulan.
- e. Setelah mendapat penjelasan (*information for consent*), bersedia mengikuti penelitian dan menaati aturan yang ditetapkan hingga selesai, dengan mengisi dan menandatangani *informed consent*.

4.2.4.2 Kriteria eksklusi : Sedang mengalami sakit pada saat skrining dan pemeriksaan

4.3 Identifikasi Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas : Laki-laki usia 26-40 tahun

4.3.2 Variabel tergantung :

Myokine : IL6, irisin, BDNF, Klotho, C2C/CPII

miRNA : miR-22, miR-26a, miR-27b, miR-140, miR-150

Stem Cell : MSC+, CD184+

4.3.3 Variabel pengganggu :

Skala aktivitas fisik, persentase lemak tubuh, kadar lemak, asam askorbat dan kalsium dalam diet

4.3.4 Definisi operasional

4.3.4.1 Laki-laki muda ditentukan berdasarkan jenis kelamin dan umur sesuai KTP dihitung berdasarkan tahun saat ini dikurangi tahun kelahiran.

4.3.4.2 *Myokine* merupakan *myokine* yang bersirkulasi pada darah perifer, terdiri dari IL-6 (reagen Quantikine, dengan tehnik mikro ELISA; rentang deteksi antara 0,156-10 pg/ml), irisin (reagen Human Irisin ELISA Kit, dengan tehnik mikro ELISA; rentang deteksi antara 3,12-200pg/ml), BDNF (reagen Human Free BDNF Quantikine ELISA Kit, dengan tehnik mikro ELISA; rentang deteksi antara 62,5-4000pg/ml), klotho (reagen Human KL/Klotho beta ELISA Kit, dengan tehnik mikro ELISA; rentang deteksi antara 13,72-10000pg/ml) dan rasio C2C/CP11 (rasio cleavage product dari kolagen tipe II (C2C) dengan procollagen IIC propeptide (CP11) dalam serum. Perhitungan dengan satuan ng/ml dan dalam rasio. Pemeriksaan dilakukan dengan ELISA kit). Spesimen diambil dari serum darah vena pada jam 8 pagi hari. Pemeriksaan menggunakan tehnik ELISA dengan satuan pg/mL.

4.3.4.3 *microRNA* adalah molekul RNA *non-coding* kecil (mengandung 22 nukleotida) yang berfungsi pada *RNA silencing* dan regulasi pasca transkripsional dari suatu ekspresi gen. Dalam penelitian ini digunakan miR-22, miR-26a, miR-27b, miR-140, dan miR-150. Spesimen diambil dari darah vena pada jam 8 pagi hari. Pemeriksaan menggunakan tehnik qPCR.

4.3.4.4 *Stem cell* terdiri dari persentase MSC (*mesenchymal stem cell*) dan sel pengeksresi CD184+ yang terdapat dalam *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC). Spesimen diambil dari darah vena pada jam 8 pagi hari. Dilakukan proses isolasi PBMC kemudian diperiksa dengan tehnik *flowcytometri*, jumlah dinyatakan dalam persentase sel yang mengekspresikan marker spesifik terhadap seluruh sel dalam PBMC.

4.4 Bahan Penelitian :

4.4.1 Spesimen : Darah vena

4.4.2 Pemeriksaan skrining dilakukan di Instalasi Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya, membutuhkan spesimen sebanyak 3 cc tanpa antikoagulan,

dengan spesifikasi : pemeriksaan hematologi rutin (hemoglobin, eritrosit, leukosit, trombosit, *differential count*, dan laju endap darah), pemeriksaan kimia darah (SGOT, SGPT, kreatinin serum dan GDA), pemeriksaan profil lemak (LDL dan HDL), pemeriksaan elektrolit ion kalsium serum.

4.4.3 Pemeriksaan variabel penelitian yang dilakukan di Instalasi Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya membutuhkan spesimen sebanyak 6 cc dengan spesifikasi sebagai berikut :

4.4.3.1 Spesimen sebanyak 3 cc tanpa antikoagulan menggunakan *serum separator tube* untuk dengan melalui proses standarisasi sebelum pemeriksaan serum subyek penelitian.: pemeriksaan IL-6, irisin, BDNF, klotho dan C2C/CPII.

4.4.3.2 Spesimen sebanyak 3 cc dengan EDTA untuk pemeriksaan *flowcytometri*.

Pembuatan preparat *peripheral blood mononuclear cell* (PBMC) dan pemeriksaan *flowcytometri* menggunakan Facs Calibur 4 laser dilaksanakan di Instalasi Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Darah EDTA dicuci dengan PBS 10% pH 7,4 sebanyak 2 kali, kemudian disentrifugasi dengan *refrigerated centrifuge* dengan kecepatan 1600 rpm suhu 10°C selama 10 menit. Supernatan dibuang dan endapan direaksikan dengan *Ficoll Isopaque* 0,074 sebanyak 6 cc dalam tabung 15 cc. Kemudian disentrifugasi kembali, dan *buffy coat* yang terbentuk diambil untuk dilakukan pencucian dengan PBS 1 kali lagi. Preparat PBMC dicat dengan marker spesifik, diinkubasikan 15 menit dan kemudian dialirkan dalam alat *flowcytometri*. Pemeriksaan *flowcytometri* ini dilakukan dalam 2 *run*, yaitu *run* 1 untuk menghitung persentase MSC mobilisasi dan MSC homing menggunakan cocktail human MSC; *run* 2 untuk mengitung persentase CD184+ (Rahman, ND).

4.4.4 Pemeriksaan variabel penelitian yang dilakukan di Laboratorium *Stem Cell* ITD Universitas Airlangga Surabaya membutuhkan spesimen sebanyak 6 cc (plasma) untuk pemeriksaan qPCR. Digunakan primer miR-22, miR-26a, miR-27b, miR-140, dan miR-150.

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 *Polar H10 heart rate sensor* untuk memantau denyut jantung selama uji latihan

4.5.2 *Sphygmomanometer (Reister®)* untuk mengukur tekanan darah,

4.5.3 *Pulse oxymeter (Elitech® fox-2)* untuk mengukur saturasi oksigen dan nadi

4.5.4 Pemeriksaan persentase lemak tubuh

Persentase lemak tubuh adalah persentase massa lemak (berat lemak) dalam hubungannya dengan berat badan. Persentase lemak tubuh dapat diukur secara radiologis menggunakan tehnik *dual energy x-ray absorptiometry* (DEXA) dengan alat BMD tipe Prodigy GE Lunar.

4.5.5 *Treadmill (EN-Mill® Treadmill)*

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penyuluhan dan pemeriksaan klinis dilakukan di Ruang Gymnasium RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pemeriksaan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo, RS Husada Utama Surabaya dan Laboratorium *Stem Cell* ITD Surabaya. Penelitian tahap 1 ini telah berjalan 60% dari yang direncanakan karena menyesuaikan dengan kesiapan reagen.

4.7 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dimulai setelah mendapat surat keputusan kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran RSUD Dr. Soetomo Surabaya No 0206/KEPK/IV/2018. Calon subyek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi, diundang untuk diberikan informasi mengenai rencana penelitian (*information for consent*). Setelah subyek penelitian menandatangani *informed consent*, dilakukan pemeriksaan MMSE (*Mini Mental State Evaluation*), EKG, *vital sign*, dan dilakukan pengukuran tebal lemak subkutan dan pemeriksaan laboratorium untuk variabel penelitian. Kemudian menjalani uji latihan untuk mengukur *VO2max*.

4.8 Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data

Pengisian Buku Rekam Medik dilakukan oleh peneliti. Pemeriksaan *body composition* dilakukan di RS Husada Utama Surabaya. Pengambilan sampel darah dilakukan oleh petugas Laboratorium.

4.9. Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data dikumpulkan dan ditabulasi, kemudian dilakukan analisis deskriptif. Analisis dilakukan menggunakan *software* SPSS 16.0. Dilakukan uji normalitas data. Pada data yang berdistribusi normal, dilakukan uji Statistik Parametrik yaitu *independent T-test* untuk menguji perbedaan variabel penelitian antar 2 kelompok dan *Pearson correlation* untuk menguji kuat hubungan antar variabel. Pada data yang tidak berdistribusi normal, maka akan dilakukan uji Statistik Nonparametrik, yaitu uji *Man Whitney U test* untuk menguji perbedaan variabel penelitian antar 2 kelompok dan *Spearmen correlation* untuk menguji kuat hubungan antar variabel.

BAB 5

HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Pada penelitian tahun pertama (tahap 1), akan difokuskan untuk mendapatkan *baseline* data yang dapat memberikan gambaran tentang perbedaan marker kelompok *sedentary* dan aktif. Hingga akhir Agustus 2018, pelaksanaan penelitian sudah mendapatkan *baseline* data pada laki-laki sehat muda dengan pola aktivitas *sedentary* yaitu : 1) Komposisi tubuh dan kepadatan tulang, 2) Level kebugaran, 3) Performa keseimbangan, 4) Irisin, BDNF dan IL-6 serum. Pada bulan Januari-Maret 2019 akan dilakukan pemeriksaan *klotho* serum, *stem cell* dan *microRNA* pada kedua kelompok tersebut.

Luaran yang dicapai adalah mendapatkan perbedaan profil kelompok *sedentary* dan aktif, yang disajikan *head-to-head*, dipaparkan secara deskriptif dan dilakukan analisis statistic dengan uji beda.

5.1 Karakteristik Umum Subyek Penelitian

Subyek penelitian terdiri dari 11 laki-laki muda sehat dengan pola aktivitas *sedentary* dan 9 orang laki-laki muda sehat dengan pola aktivitas aktif.

Tabel 5.1 Karakteristik Subyek Penelitian

	Aktif (n=9)	<i>Sedentary</i> (n=11)
Umur (tahun)	32,5 ± 2,5	31,5 ± 2,6
Berat Badan (kg)	65,3 ± 8,7	63,3 ± 8,4
Tinggi Badan (m)	168,2 ± 8,2	168,9 ± 6,5
Indeks Massa Tubuh (kg/m ²)	23,0 ± 1,3	22,1 ± 2,0

Rerata umur, Berat Badan, Tinggi Badan dan Indeks Massa Tubuh disajikan dalam Tabel 5.1.

Uji normalitas data kedua kelompok tersebut menunjukkan distribusi data yang normal dan variansi yang sama di antara kedua kelompok. Tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada karakteristik subyek penelitian tersebut ($p > 0,05$).

Tabel 5.2 Komposisi Tubuh dan Kepadatan Tulang Subyek Penelitian

	Aktif	<i>Sedentary</i>	<i>P</i>
<i>Tissue % Fat Total (%)</i>	26,1 ± 3,2	24,9 ± 9,7	0,719
<i>Lean gram Total (g)</i>	46.309,1 ± 5.555,2	44.388,2 ± 2.585,3	0,320
<i>Fat free gram Total (g)</i>	48.824,4 ± 5.896,1	46.777,9 ± 2.731,8	0,317
Bone Mineral Density hip (g/cm ²)	0,976 ± 0,119	0,867 ± 0,083	0,021*
Bone Mineral Density spine (g/cm ²)	1,136 ± 0,152	1,095 ± 0,094	0,467
z-score Bone Mineral Density hip	0,2 ± 0,8	-0,7 ± 0,7	0,017*
z-score Bone Mineral Density spine	0,0 ± 1,3	-0,2 ± 0,9	0,620

Keterangan : *signifikan ($p < 0,05$). Independent T test.

Profil komposisi tubuh dan kepadatan tulang subyek penelitian disajikan dalam Tabel 5.2. Komposisi tubuh (persentase lemak dan berat tubuh tanpa lemak) tampak lebih tinggi pada kelompok aktif namun tidak menunjukkan kebermaknaan statistik ($p > 0,05$). Kepadatan mineral tulang *hip* dan *z-score hip* pada kelompok aktif lebih tinggi dibandingkan kelompok *sedentary* ($p < 0,05$) sedangkan pada *spine* tidak berbeda bermakna antar kedua kelompok tersebut. Hal ini dapat menjadi indikasi bahwa aktivitas fisik yang dilakukan subyek penelitian laki-laki muda sehat yang aktif, lebih berperan meningkatkan kepadatan mineral tulang pada area *collum femoris*. Pada usia di atas 40 tahun, pemeriksaan kepadatan mineral tulang pada *hip* dapat memprediksi risiko fraktur *hip* 10 tahun kemudian melalui *software FRAX* (WHO). Pencapaian kepadatan mineral tulang dan *z-score hip* yang tinggi merupakan upaya pencegahan terhadap fraktur *hip* akibat osteoporosis.

Tabel 5.3 Level Kebugaran Subyek Penelitian

	Aktif	<i>Sedentary</i>	<i>p</i>
Denyut jantung istirahat (kali/menit)	81,9 ± 6,8	86,5 ± 8,1	0,196
Kemampuan mempertahankan aktivitas fisik secara konstan (menit)	8,0 ± 1,1	7,8 ± 1,2	0,769
VO2 (ml/kg/menit)	31,0 ± 3,3	30,6 ± 3,4	0,770

Keterangan : *signifikan ($p < 0,05$). Independent T test.

Denyut jantung istirahat pada kelompok aktif lebih rendah dibandingkan kelompok *sedentary*, sedangkan kemampuan mempertahankan kontraksi dan VO2 kelompok aktif lebih tinggi

dibandingkan kelompok *sedentary*, walaupun tidak bermakna ($p>0,05$). Hal ini dapat menjadi indikasi bahwa aktivitas fisik berperan dalam pengontrolan sistemik sirkulasi dan oksigen.

Tabel 5.4 Performa Keseimbangan Subyek Penelitian

	Aktif	<i>Sedentary</i>	<i>p</i>
One Leg (non dominan) Stand test : Crossed Arm – Closed Eye (detik)	36,7 ± 22,2	27,8 ± 20,6	0,367
One Leg (non dominan) Stand test : Crossed Arm – Opened Eye (detik)	92,6 ± 37,6	98,8 ± 69,0	0,811
One Leg (non dominan) Stand test : Sided Arm – Closed Eye (detik)	35,4 ± 12,6	40,1 ± 28,9	0,655
One Leg (non dominan) Stand test : Sided Arm – Opened Eye (detik)	76,3 ± 39,8	95,0 ± 64,4	0,458
Perbedaan OLS test Crossed Arm: Closed – Opened Eye (detik)	55,9 ± 45,1	70,9 ± 68,8	0,579
Perbedaan OLS test Sided Arm: Closed – Opened Eye (detik)	41,0 ± 40,8	54,9 ± 44,0	0,475
Perbedaan OLS Closed Eye : Crossed – Sided Arm (detik)	-1,3 ± 25,8	12,3 ± 24,0	0,239
Perbedaan OLS Opened Eye : Crossed – Sided Arm (detik)	-16,2 ± 23,7	-3,8 ± 64,9	0,592

Keterangan : *signifikan ($p<0,05$). Independent T test.

Kelompok aktif menunjukkan kemampuan mempertahankan keseimbangan dengan lengan disilang di depan tubuh dan mata tertutup lebih lama dibandingkan kelompok *sedentary*, walaupun tidak bermakna secara statistik. Pemeriksaan keseimbangan dengan mata terbuka dengan lengan menyilang di depan tubuh ataupun lengan di samping tubuh menunjukkan kelompok *sedentary* mencapai nilai yang lebih baik, walaupun tidak bermakna secara statistik. Penggunaan komponen visual (buka mata) lebih berperan pada kelompok *sedentary*. Penggunaan lengan untuk memperluas *base of support* (lengan di samping tubuh) lebih berperan pada kelompok *sedentary*. Hal ini dapat menjadi indikasi bahwa kelompok aktif lebih baik dalam hal melakukan pengontrolan keseimbangan tanpa bantuan visual dengan *base of support* yang lebih sempit.

Tabel 5.5 Irisin, BDNF dan IL-6 serum Subyek Penelitian

	Aktif	<i>Sedentary</i>	<i>p</i>
Irisin serum (ng/dl)	5,3 ± 1,0	5,2 ± 1,4	0,832
BDNF (pg/dl)	250.412,9 ± 155.864,0	350.831,1 ± 205.110,0	0,242
IL-6 (pg/dl)	58,8 ± 10,4	59,3 ± 7,0	0,901

Keterangan : *signifikan ($p < 0,05$). Independent T test.

Profil *myokine* yang diperiksa dari serum subyek penelitian (Irisin, BDNF dan IL-6), menunjukkan pola aktivitas metabolisme otot pada kedua kelompok tersebut. Irisin berperan dalam metabolisme lemak putih. Kadar irisin serum yang tinggi menunjukkan aktivitas *browning* (akibat peningkatan jumlah mitokondria) dari lemak putih yang menggambarkan efisiensi energi. Kelompok aktif menunjukkan kadar Irisin serum yang lebih tinggi, walaupun tidak bermakna, yang dapat menunjukkan indikasi efisiensi energy yang lebih baik. Kadar BDNF menunjukkan aktivitas regeneratif sel terutama pada sistem saraf, namun juga terjadi pada semua sel tubuh. BDNF pada sel saraf selain bersifat autokrin juga bersifat endokrin, sehingga dapat disuplai melalui serum. Kelompok *sedentary* menunjukkan kadar BDNF yang lebih tinggi dibandingkan kelompok aktif, walaupun tidak bermakna, yang dapat menunjukkan indikasi keperluan aktivitas regeneratif yang lebih banyak pada kelompok *sedentary* sehingga membutuhkan suplai yang lebih besar dari pusat BDNF terbanyak (sel otak). IL-6 bersifat pleiomorfik (dapat berfungsi sebagai marker pro dan anti inflamasi). Kadar IL-6 serum basal menunjukkan level inflamasi sistemik. Semakin rendah kadar IL-6 serum baseline, semakin terkontrol kondisi inflamasinya. IL-6 juga merupakan protektor dan memberikan efek *blunted* pada aktivitas interleukin pro inflamasi lain. Kelompok aktif menunjukkan kadar IL-6 serum yang lebih rendah dibandingkan kelompok *sedentary*, walaupun tidak bermakna, dapat menjadi indikasi bahwa kondisi inflamasi basal kelompok aktif lebih rendah dibandingkan kelompok *sedentary*.

Tabel 5.6 Korelasi antara Kebugaran, Irisin, BDNF dan IL-6 serum seluruh Subyek Penelitian

	VO ₂ max	Irisin serum	BDNF serum	IL-6 serum
VO ₂ max	-	-0,216	-0,046	0,231
Irisin serum	-0,216	-	0,620*	0,222
BDNF serum	-0,046	0,620*	-	0,530*
IL-6 serum	0,231	0,222	0,530*	-

Keterangan : *signifikan ($p < 0,05$). Korelasi Pearson.

Tabel 5.7 Korelasi antara Kebugaran, Irisin, BDNF dan IL-6 serum per Kelompok Pengamatan

		VO2max	Irisin serum	BDNF serum	IL-6 serum
Kelompok Aktif	VO2max	-	0,034	0,300	0,550
	Irisin serum	0,034	-	0,714*	0,126
	BDNF serum	0,300	0,714*	-	0,317
	IL-6 serum	0,550	0,126	0,317	-
Kelompok Sedentary	VO2max	-	-0,506	-0,372	-0,007
	Irisin serum	-0,506	-	0,574	0,219
	BDNF serum	-0,372	0,574	-	0,699*
	IL-6 serum	-0,007	0,219	0,699*	-

Keterangan : *signifikan ($p < 0,05$). Korelasi Pearson.

Kebugaran tidak berkorelasi dengan kadar Irisin, BDNF dan IL-6 serum secara keseluruhan dan per kelompok. BDNF serum secara umum berkorelasi dengan Irisin serum ($r=0,620$, $p=0,004$) dan IL-6 serum ($r=0,530$, $p=0,016$). Secara spesifik pada kelompok aktif, BDNF serum berkorelasi dengan Irisin serum ($r=0,714$, $p=0,031$) sedangkan pada kelompok sedentary, BDNF serum berkorelasi dengan IL-6 serum ($r=0,699$, $p=0,017$). Hal ini menunjukkan BDNF memiliki pivotal role untuk melakukan regulasi tentang kebutuhan sel tubuh secara keseluruhan untuk beregenerasi dan mampu menyesuaikan diri dengan kondisi yang dialami tubuh (aktif ataupun sedentary).

BAB 6**RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

Pada penelitian tahun kedua (tahap ke-2) akan dilakukan penelitian eksperimental dengan memberikan perlakuan latihan berjalan di atas treadmill dengan peningkatan inklinasi dan kecepatan pada kelompok *sedentary* dan kelompok aktif. Fokus penelitian tahap ke 2 ini adalah pada respon adaptasi yang ditunjukkan oleh kelompok *sedentary* dan kelompok aktif terhadap dosis latihan tertentu.

Hasil dari kedua tahap penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan implementasi pada penetapan dosis latihan fisik yang berpotensi mempertahankan dan meningkatkan kebugaran secara keseluruhan. Diseminasi hasil akan dilakukan bertahap menyesuaikan dengan hasil yang dicapai.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Dari pengamatan awal pada penelitian ini, didapatkan fakta-fakta sebagai berikut :

1. Aktivitas fisik mempengaruhi komposisi tubuh, kebugaran, performa keseimbangan dan kadar *myokine* dalam serum. Kelompok aktif memiliki kepadatan mineral tulang *hip* yang lebih baik dibandingkan kelompok *sedentary*.
2. Kadar BDNF serum berhubungan dengan kadar Irisin serum dan kadar IL-6 serum, yang berbeda pada kelompok aktif dan kelompok *sedentary*. Pada kelompok aktif, kadar BDNF serum berhubungan dengan kadar Irisin serum, yang menunjukkan peran endokrin BDNF sebagai bagian dari upaya optimalisasi proses metabolisme energy yang dilakukan Irisin sebagai respon terhadap aktivitas fisik rutin. Sedangkan pada kelompok *sedentary*, kadar BDNF serum berhubungan dengan kadar IL-6 serum yang terkait dengan upaya regeneratif yang dibutuhkan sistemik sebagai upaya mengatasi kondisi inflamasi sistemik subklinis.

7.2 Saran

Untuk penelitian lanjutan, disarankan melanjutkan dalam bentuk penelitian eksperimental sebagai berikut :

1. Penelitian tentang pengaruh latihan berjalan di atas treadmill pada kadar myokine, miRNA, *stem cell* yang bermobilisasi di PBMC pada kelompok aktif dan *sedentary* yang dapat menggambarkan proses adaptif terhadap latihan.
2. Penelitian lanjut tentang peran BDNF sebagai pivotal faktor.
3. Mendesign penelitian berbasis komunitas yang memungkinkan penggunaan latihan ini digunakan dalam upaya promotif dan preventif berbagai penyakit metabolik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, Irwin ML, Swartz AM, Strath SJ, O'Brien WL, Bassett jr DR, Schmitz KH, Emplainscourt PO, Jacobs jr DR, dan Leon AS, 2000. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med. Sci. Sports Exerc*; 32(9). Suppl.: S498–S516.
- American College of Sports Medicine, 2000. *ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. 6th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, p 4.
- Anung Sugihantoro, 2017. "Promosi Kesehatan Guna Mewujudkan Gaya Hidup Sehat di Era Agenda Pembangunan Berkelanjutan", Dies Natalis FK UGM ke-71, 6 Maret 2017.
- Avin KG, Coen PM, Huang W, Stolz DB, Sowa GA, Dube JJ, Goodpaster BH, O'Doherty RM dan Ambrosio F, 2014. Skeletal muscle as a regulator of longevity protein, Klotho. Hypothesos and Theory Article. June 2014; 5: article 189. Available from URL: www.frontiersin.org.
- Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Riskesdas 2013.
- Bader DI, Salter DM, Chowdhury. 2011. Biomechanical Influence of Cartilage Homeostasis in Helath and Diseases. *Arthritis DOI* ; 10.1155/2011/979032
- Barry FP dan Murphy JM, 2004. Mesenchymal Stem Cells: Clinical Applications and Biological Characteization. *The Intl J of Biochem & Cell Biol*; 36:568-584.
- BD Human Stem Cells Marker. Poster.
- Blazek AD, Nam J, Gupta R, Pradhan M, Perera P, Weisleder NL, Hewett TE, Chaudhari AM, Lee BISA, Butterfield TA, Agarwal S. 2016. Exercise-driven metabolic pathway in healthy cartilage. *Oateoarthritis and Cartilage* 24; 1210-1222
- Crooks CD, Cross ML dan Wall CR, 2010. Age-related differences in integrin expression in peripheral blood lymphocyte. *Immunity & Ageing*; 7:5 (BioMed Central).
- Dias PJP, Domingos IP, Ferreira MG, Muraro AP, Sichiari R and Goncalves-Silva RMV, 2014. Prevalence and factors associated with sedentary behavior in adolescents. *Rev Saude Publica*, 48(2):266-74
- Ethier CR dan Simmons CA (Eds), 2007. Cell Biomechanics. In: *Introductory of Biomechanics. From Cells to Organisms*. New York: Cambridge University Press, pp18-110.
- Elsaid KA, ChichesterCO. 2006. Review: Collagen Marker in Early arthritic diseases. *Clin Chim Acta* 3665: 68-77
- Febbraio MA dan Pedersen BK, 2002. Mucle-derived interleukin-6: mechanism for activation and possible biological roles. *FASEB J*; 16:1335-1347.
- Fox JM, Chamberlain G, Ashton BA dan Middleton J, 2007. Recent Advances into the understanding of mesenchymal stem cell trafficking. *British Journal of Haematology*; 137:491-502.
- Hadiat, 2015. Kebijakan Perencanaan Pembangunan Kesehatan (Rencana Pembangunan Jangka Menengah Nasional RPJMN 2015 –2019/Perpres No 2/2015) Direktur Agama, Kebudayaan, Pemuda dan Olah Raga. Rakerkesnas Regional Timur Makassar, 10 Maret 2015.
- Halim D, Murti H, Sandra F, Boediono A, Djuwantono T dan Setiawan B, 2010. *Stem Cell. Dasar Teori & Aplikasi Klinis*. Jakarta: Penerbit Erlangga:31-40,55.
- Ho AD, 2005. Kinetics and symmetry of divisions of hematopoietic stem cells. *Exp Hematol*; 33:1-8.
- Humphries JD, Byron A dan Humphries MJ, 2006. Integrin ligands at a glance. *Journal of Cell Science*; 119:3901-3903.
- Ijiri N, Kanazawa H, Asai K, Watanabe T dan Hirata K, 2015. Irisin, newly discovered myokine, is a novel biomarker associated with physical activity in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology*, 20:612-7
- International Physical Activity Questionnaire (August 2002) – Short Last 7 days Self-Administered Format. Available from URL: www.ipaq.ki.se. Downloaded on September 2010.
- Karp JM dan Teo GSL, 2009. Mesenchymal Stem Cell Homing: The Devil is in the Details. *Cell Stem Cell*; 4:206-214.
- Lun KC dan Chiam P, 1998. *Sample Size Determination in Health Science. A Practical Manual. Software version 2.0*. National University of Singapore.
- Lwanga SK dan Lemeshow S, 1990. *Sample Size Determination in Health Science. A Practical Manual*. WHO. Geneva:John Wiley & Sons.
- Lyngso D, Simonsen L dan Bulow J, 2002. Interleukin-6 production in human subcutaneous abdominal adipose tissue: the effect of exercise. *Journal of Physiology*; 543.1:373-378.

- Maly MR, Robbins SM. 2014. Osteoarthritis year in review 2014: rehabilitation and outcomes. *Osteoarthritis Cartilage* 22; 1958-1988
- Meurer S, Krüger K, Mooren FC, 2016. MicroRNAs and Exercise. *Dtsch Z Sportmed*; 67: 27-34.
- Nascente FMN, Jardim TV, Peixoto MRG, Carneiro CS, Mendonca KL, Povoá TIR, Sousa ALL, Barroso WKS and Jardim PCBV, 2016. Sedentary lifestyle and its associated factors among adolescents from public and private schools of Brazilian state capital. *BMC Public Health* 16:1177
- Nila Farid Moeloek, 2015. Peran Gizi dalam Membangun Kualitas Hidup Manusia Indonesia Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Diseminasi Global Nutrition Report (GNR) dalam Rangka Puncak Peringatan Hari Gizi Nasional ke-55 Jakarta, 9 Februari 2015
- Otterness IG, Eksra JD, Bliven MI, Shay AK, Pelletier JP, Milici AJ. Exercise protects against articular cartilage degeneration in hamster. *Arthritis and Rheumatism*, 41; 11; 2068-2076
- Pedersen BK dan Febbraio MA, 2008. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev*; 88:1379-1396.
- Pedersen BK dan Febbraio MA, 2012. Muscle, exercise and obesity: skeletal muscle as secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology* 8, 457-465 (August 2012)
- Pedersen BK dan Fischer CP, 2010. Hsp, Exercise, and Antioxidants. In: Asea AAA dan Pedersen BK (eds.), *Heat Shock Proteins and Whole Body Physiology*. Netherlands: Springer, pp 243-252.
- Polakovicová M, Musil P, Lazzo E, Hamar D dan Kyselovic J, 2016. Circulating MicroRNAs as Potential Biomarkers of Exercise Response. *Int. J. Mol. Sci.*, 17, 1553
- Radom-Aizik S, Zaldivar F, Leu SY, Adams GR, Oliver S dan Cooper DM, 2012. Effects of Exercise on microRNA Expression in Young Males Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Clin Trans Sci*; Volume 5: 32-38
- Rahman M, ND. *Introduction to Flow cytometry*. AbD serotec.
- Schmidt A, Bierwirth S, Weber S, Platen P, Schinkothe T dan Blochl W, 2009. Short intensive exercise increases the migratory activity of mesenchymal stem cells. *Br J Sports Med*; 43:195-198.
- Tinduh D, Harjanto JM dan Roeshadi D, 2012. Pengaruh latihan jalan kecepatan sedang terhadap mobilisasi, diferensiasi dan maturasi *stem cell* pada PBMC serta remodeling tulang perempuan pascamenopause. Makalah Disertasi Program Doktor Ilmu Kedokteran Pascasarjana Universitas Airlangga, Februari 2012.
- Yamacuchi S, Aoyama T, Ito A, Nagai M, Iijima H, Zhang X, Tajini J, Kuroki H. 2013. Effects of Exercise level on Biomarkers in Rat Knee model of Osteoarthritis. *Journal of Orthopaedic Research*. Publish on line March 11, 2013. DOI 10.1002/jor.22332
- Yao S, 2016. MicroRNA biogenesis and their functions in regulating stem cell potency and differentiation. *Biological Procedures Online* 18:8
- Zhang Y, Li R, Meng Y, Li S, Donelan W, Zhao Y, Qi L, Zhang M, Wang X, Cui T, Yang L-J dan Tang D, 2013. Irisin stimulates browning of white adipocyte through Mitogen-Activated Protein Kinase p38 MAP Kinase and ERK MAP Kinase Signaling. *Diabetes*. Publish online October 22, 2013.



LAMPIRAN : Bukti Proses Review Manuskrip

review.frontiersin.org

frontiers

REVIEW FORUM Corresponding Author Need Help? Contact us

1. Initial Validation 2. Editorial Assignment 3. Independent Review 4. Interactive Review 5. Review Finalized 6. Final Validation 7. Final Decision

BRAIN DERIVED NEUROTROPIC FACTORS IN SPEED VERSUS INCLINED TREADMILL IN YOUNG ADULT HEALTHY MALE WITH OCCULT BALANCE DISORDER

Stephanie Theodora Yulinda*, Lukitra Wardhani, Hening Laswati, Sony Wibisono, Melianiani Soenamatalina and Damayanti Tinduh*

Original Research, *Front. Integr. Neurosci.*

Submitted on: 11 Oct 2018, Edited by: Jackson Giori Biffencourt

Manuscript ID: 430175

Keywords: Brain derived neurotrophic factor (BDNF), Speed treadmill, Occult balance disorder, ...

ON TIME

Submit your comments to the Reviewer(s) and/or re-submit a new version of your manuscript.

You are pending to respond to Reviewer 1 and Reviewer 2 and/or resubmit a new version of your manuscript.

History Editor Reviewer 1 Reviewer 2

Reviewer 1
Independent review report submitted: 28 Oct 2018
Interactive review activated: 13 Nov 2018

You can post and reply to comments within this review forum here. On completion, ensure that you click on **Submit all comments** in order to alert the other participants to your changes.

Submit all comments AND Re-submit manuscript

EVALUATION

Q1 Please summarize the main findings of the study.

Reviewer 1 | 28 Oct 2018 | 12:24 #1

The authors compared BDNF value before and after moderate intensity treadmill with gradual speed increased and gradual inclination increased to young adult healthy untrained male to clarify the pathophysiology of occult balance disorder.

Add comment

Q2 Please highlight the limitations and strengths.

Reviewer 1 | 28 Oct 2018 | 12:24 #1

Small sample size

Back Forward Home Bookmarks Tabs

