

TESIS

**PERBEDAAN PENGARUH LATIHAN FISIK SUBMAKSIMAL
SESI PAGI DAN SORE HARI
TERHADAP DERAJAT STRES OKSIDATIF**

PENELITIAN EKSPERIMENTALLABORATORIS



INDRA HIKMAWAN SUSANTO

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2011

**PERBEDAAN PENGARUH LATIHAN FISIK SUBMAKSIMAL
SESI PAGI DAN SORE HARI
TERHADAP DERAJAT STRES OKSIDATIF**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

INDRA HIKMAWAN SUSANTO

0109450006

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2011

Lembar Pengesahan

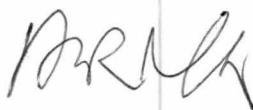
TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL, 29 SEPTEMBER 2011

OLEH:
Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Paulus. Liben, dr, MS
NIP : 130531788

Pembimbing



Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIFM
NIP : 19441225 197301 1001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Kesehatan Olahraga
Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



Lilik Herawati, dr, M.Kes
NIP : 19750314 200312 2001

Telah diuji pada
Tanggal 29 September 2011
PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Choesnan Effendi, dr,AIFM
Anggota : 1. Prof. Dr. Paulus Liben, dr, MS
: 2. Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIFM
: 3. Dr. Elyana Asnar STP,dr,MS
: 4. Budiono, dr., M.Kes

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat, taufik serta hidayahNYA sehingga penelitian dan penulisan tesis ini dapat terselesaikan. Dengan selesainya tesis ini maka dengan ketulusan hati yang paling dalam kami ingin menyampaikan terimakasih sedalamnya serta penghargaan yang sebesar – besarnya kepada yang terhormat :

Terima kasih yang tidak terhingga dan penghargaan setinggi-tingginya Penulis sampaikan kepada para pembimbing Prof. Dr. Paulus Liben, dr, MS dan Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIFM yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah mengorbankan waktu untuk memberikan dorongan, bimbingan semangat, bantuan serta saran-saran yang bermanfaat kepada Penulis mulai dari persiapan penelitian sampai pada penyelesaian tesis ini

Rektor Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt dan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes.,Sp. PD, KEMD, FINASIM serta mantan Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., SpP(K) yang telah memberikan kesempatan pada Penulis untuk mengikuti pendidikan Pasca sarjana Universitas Airlangga.

Ketua Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan mantan Ketua Program Studi (KPS) Ilmu Kesehatan Olahraga Dr. Elyana Asnar S.T.P., dr, MS yang telah banyak membantu dalam penyediaan fasilitas perkuliahan dan praktikum serta yang telah banyak memberikan bimbingan, dorongan dan arahan

sehingga kami dapat menempuh Program Pendidikan Magister dan akhirnya dapat menyelesaikan tesis ini.

Mantan Ketua Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Harlina Soetjipto., dr, MS yang telah membantu menyediakan fasilitas perkuliahan dan praktikum serta yang telah banyak memberikan bimbingan, dorongan dan arahan sehingga kami dapat menempuh Program Pendidikan Magister dan akhirnya dapat menyelesaikan tesis ini.

Ketua Program Studi (KPS) Ilmu Kesehatan Olahraga Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Lilik Herawati, dr, M.Kes, yang telah banyak membantu dalam penyediaan fasilitas perkuliahan dan praktikum serta yang telah banyak memberikan bimbingan, dorongan dan arahan sehingga kami dapat menempuh Program Pendidikan Magister dan akhirnya dapat menyelesaikan tesis ini.

Alm. Prof. Dr. Sunarko Setyawan, dr., MS selaku Pembimbing atas inspirasi, saran, bimbingan dan dorongan semangat kepada kami hingga akhir hayatnya sehingga kami dapat mengerjakan dan menyelesaikan studi ini, semoga segala amal kebbaikannya diterima oleh Allah SWT.

Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Universitas Airlangga Prof. Dr. Harjanto JM, dr., AIFM atas kesempatan dan ijin yang telah diberikan kepada kami untuk mengikuti pendidikan di Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga.

Pembimbing statistik Budiono, dr, M.Kes yang telah memberikan bimbingan dan arahan atas terselesaikannya tesis ini.

Seluruh staf pengajar dan karyawan Program Studi Ilmu kesehatan olahraga, staf dan pegawai Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, yang telah memberikan bekal tambahan wawasan, ilmu dan ketrampilan sehingga sangat membantu dalam penelitian dan penyelesaian tesis ini.

Ketua Departemen Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Edhi Rianto, dr, MS dan karyawan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah membantu pelaksanaan dan pemeriksaan laboratorium sehingga sangat membantu dan memperlancar penelitian ini.

Ketua Laboratorium olahraga ASSFC Universitas Negeri Surabaya yang telah membantu pelaksanaan penelitian sehingga membantu dan memperlancar penelitian ini.

Sahabat, teman serta saudaraku sejawat dan seperjuangan mahasiswa Ilmu Kesehatan Olahraga dan Ilmu Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga angkatan tahun 2009/2010, Argarini, JM Mandosir, Tuttur Jatmiko, Bayu, Mulyono dan Sugiharto atas bantuan, dorongan, saran dan kerjasamanya selama ini.

Dr Himawan Wismanadi, MPd, yang telah memberikan dorongan dan semangat untuk menempuh studi ini.

Ayahanda dan Ibunda tercinta Bapak Duryatin dan Ibu Elly Yudha yang telah mengasuh dengan penuh kasih sayang serta selalu memberikan pengorbanan, bimbingan, dorongan serta doa restu untuk menempuh kehidupan ini.

Ayahanda dan Ibunda Mertua Bapak Bagyo Utomo dan Ibu Suparti yang telah memberikan kasih sayang, bimbingan dan doa restu dalam menempuh kehidupan ini.

Yang tercinta Isteriku Nur Fatmawati Utomo S.Or dan Putriku Raihana Yasmin Nadhira yang telah memberikan kasih sayang, dorongan dan semangat sehingga dapat terselesaikannya studi ini.

Saudara kandung, Saudara ipar serta Anggota keluarga lain atas dorongan, bantuan serta doa restu yang telah diberikan sehingga sangat membantu terselesainya studi ini.

Pihak lain selain yang tersebut di atas yang tidak dapat disebutkan satu-persatu akan tetapi telah memberikan bantuan dalam berbagai bentuk sehingga sangat membantu kelancaran studi ini.

Semoga segala budi baik yang telah diberikan oleh semua pihak tersebut diatas diterima oleh Allah Swt sebagai amal sholeh serta mendapatkan rahmat dan imbalan yang sebaik-baiknya.

RINGKASAN

Perbedaan Pengaruh Latihan Fisik Submaksimal Sesi Pagi dan Sore Hari terhadap Derajat Stres Oksidatif

Manfaat olahraga bagi tubuh antara lain: untuk menjaga kebugaran tubuh, kesehatan tubuh, akan tetapi tidak sedikit juga dari mereka yang melakukan olahraga sebagai suatu hobi dan untuk meningkatkan prestasi. Olahraga juga memiliki efek negatif bagi tubuh. Salah satu dampak negatif yang ditimbulkan adalah terjadinya pembentukan senyawa oksidan yang diikuti dengan terjadinya peristiwa stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh.

Malondialdehyde (MDA) merupakan suatu petanda biologis untuk mengukur derajat stres oksidatif yang terjadi pada suatu organisme, sedangkan Superoksida dismutase (SOD) adalah salah satu enzim antioksidan yang berguna sebagai sistem pertahanan terhadap senyawa oksigen reaktif. Aktivitas enzim SOD memiliki peran yang penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen reaktif yang dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif.

Latihan olahraga yang baik dan benar yaitu olahraga yang dilakukan secara teratur dan terukur, serta dilakukan dengan baik dan benar agar dapat bermanfaat bagi kesehatan dan kebugaran tubuh. Selain itu di dalam berolahraga kita juga harus memperhatikan waktu kapan kita akan melakukan suatu latihan.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mempelajari perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sore hari terhadap derajat stres oksidatif. Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental laboratoris, dengan rancangan penelitian *The Pretest Posttest One Group Design*. Subyek penelitian ini adalah mahasiswa Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Surabaya angkatan tahun 2008 dengan jenis kelamin laki-laki dengan usia antara 21-25 tahun yang berjumlah 8 orang.

Variabel tergantung yang diteliti adalah menggunakan indikator kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit. Latihan olahraga yang dilakukan adalah latihan fisik submaksimal dengan mengayuh sepeda ergocycle merk Technogym selama 6 menit yang terbagi menjadi dua kelompok untuk latihan pagi hari dan latihan sore hari. Pengukuran kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD dilakukan sebelum dan sesudah latihan fisik submaksimal. Pengukuran kadar MDA plasma dilakukan dengan metode TBA (*Thiobarbituric acid*) dengan satuan nmol/ml sedangkan pengukuran aktivitas enzim SOD dilakukan dengan Kit dari Trivigen dengan satuan %.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program statistik SPSS 17, Hasil statistik deskriptif kadar MDA plasma pada latihan fisik submaksimal sesi pagi hari sebelum latihan $5,48 \pm 3,24$ nmol/ml, setelah latihan $8,09 \pm 3,05$ nmol/ml, aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum latihan $83,37 \pm 9,24$ %, setelah latihan $73,61 \pm 11,10$ %. Sedangkan Kadar MDA plasma pada latihan fisik submaksimal sesi sore

hari sebelum latihan $7,32 \pm 2,92$ nmol/ml, setelah latihan $12,78 \pm 2,89$ nmol/ml, aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum latihan $79,81 \pm 8,90$ %, setelah latihan $75,96 \pm 9,81$ %.

Data hasil uji normalitas dan uji homogenitas, pada variabel umur, berat badan, tinggi badan, kadar MDA plasma sebelum latihan, kadar MDA plasma setelah latihan aktivitas enzim SOD sebelum latihan dan aktivitas enzim SOD eritrosit setelah latihan diperoleh nilai signifikansi $p > 0,05$. Hal ini berarti seluruh data pada variabel penelitian berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji berpasangan menunjukkan perbedaan kadar MDA plasma sebelum dan sesudah latihan pada sesi pagi hari sebesar $p = 0,002$ ($p < 0,05$), dan nilai signifikansi untuk kadar MDA plasma sebelum dan sesudah latihan pada sesi sore hari sebesar $p = 0,000$ ($p < 0,05$), dan nilai signifikansi untuk aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum dan sesudah latihan pada sesi pagi hari sebesar $p = 0,027$ ($p < 0,05$), nilai signifikansi untuk aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum dan sesudah latihan pada sesi sore hari sebesar $p = 0,001$ ($p < 0,05$). Hasil ini berarti terdapat pengaruh yang signifikan antara sebelum dan sesudah latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan sore hari pada kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit. Hasil uji independent t 2 sampel bebas, perbedaan kadar MDA plasma post test pada kelompok latihan pagi dan sore memiliki nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$) hal ini berarti terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan antara kelompok latihan fisik submaksimal pagi dan sore hari. Perbedaan aktivitas enzim SOD eritrosit post test pada kelompok latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan sore hari sebesar $p = 0,128$ ($p > 0,05$) hal ini berarti tidak ada perbedaan pengaruh yang signifikan antara kelompok latihan pagi hari dan sore hari.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sore hari terhadap kadar MDA plasma dan tidak terdapat perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sore hari terhadap aktivitas enzim SOD eritrosit.

SUMMARY

The Differences of Influence of Submaximal Physical Exercise in The Morning and Afternoon on The Degree of Oxidative Stress

The benefit of exercise is among other : to maintain fitness, health bodies, but no less those who do sports as the hobby and to raise achievement. Sports done improperly may to cause negative effects to the body. One of the negative impacts is the formation of oxidant compound, followed by the occurrence of oxidative stress. Oxidative Stress occurs due to an imbalance between free radical production and antioxidant defense system of the body.

Malondialdehyde (MDA) is a biological marker to measure the degree of oxidative that occurs in a organism, whereas Superoxide dismutase (SOD) is one of antioxidant enzyme which is useful as a defense system against reactive oxygen compounds. The activity of SOD enzyme has important role in the immune system, particularly to block the activity of reactive oxygen compounds that may cause oxidative stress.

A good exercise is exercise which is done regularly and measurably, and done properly in order to benefit the health and fitness. Besides, in the exercise we have to also consider the time of exercise.

The research was aimed to study the differences of effect of submaximal physical exercise morning and afternoon sessions on the degree of oxidative stress. This research was laboratories experimental method, with the pretest and posttest one group design. The subject are students of Sport Science of Surabaya State University, in years 2008, 8 students, male, in age 21 – 25 years old.

Dependent variables studied plasma MDA levels and the activity of SOD erythrocyte enzyme. Exercise is submaximal physical exercise by pedaling an ergocycle bike brand Technogym for 6 minutes which is divided into two groups for morning sessions and afternoon sessions. The measurement of plasma MDA level and SOD erythrocyte enzyme was ommited before and after submaximal physical training. The measurement of plasma MDA level used TBA (Thiobarbituric acid) method in nmol/ml unity, while the measurement of SOD erythrocyte enzyme used Kit by Trivigen in % unity.

The data obtained were analysed using SPSS 17.00 statistic program, result of descriptive statistical of MDA plasma levels of submaximal physical exercise the morning sessions before exercise 5.48 ± 3.24 nmol/ml, after exercise 8.09 ± 3.05 nmol/ml, the activity of SOD erythrocytes enzyme before exercise 83.37 ± 9.24 %, after training 73.61 ± 11.10 %. Whereas plasma MDA levels on submaximal physical exercise afternoon session before exercise 7.32 ± 2.92 nmol/ml, after exercise 12.78 ± 2.89 nmol/ml, the activity of SOD erythrocytes enzyme before exercise 79.81 ± 8.90 %, after exercise 75.96 ± 9.81 %. Data of the result normality test and homogeneity test, in the variable of age, weight, height, plasma MDA levels before exercise, plasma MDA levels after exercise, the activity of SOD erythrocytes enzyme

before exercise and the activity of SOD erythrocytes enzyme after exercise obtained significance value $p > 0.05$. This means that all data of the variable normally distributed and homogeneous. The result of paired sample test indicated differences in plasma MDA levels before and after exercise in the morning sessions at $p = 0.002$ ($p < 0.05$), and significance value plasma MDA levels before and after exercise in the afternoon sessions at $p = 0.000$ ($p < 0.05$), significance value for activity of SOD erythrocytes enzyme before and after exercise in the morning sessions at $p = 0.027$ ($p < 0.05$), and significance value for activity of SOD erythrocytes enzyme before and after exercise in the afternoon sessions of $p = 0.001$ ($p < 0.05$). This result means that there was significant influence between before and after submaximal physical exercise in the morning sessions and afternoon session on the level of plasma MDA level and the activity of SOD erythrocyte enzyme. Result of independent test with two independent samples, the different in plasma MDA levels post test in the morning and afternoon session exercise group has value of $p = 0.002$ ($p < 0.05$) this means there was a significant difference between the effect of submaximal physical exercise morning and afternoon groups. Differences of activity of SOD erythrocyte enzyme post test on the group submaximal physical exercise morning and afternoon groups at value $p = 0.128$ ($p > 0.05$) this means there was no significant difference between the morning and afternoon group.

The conclusion of this research showed that there is a difference of influence of submaximal physical training at morning and afternoon session to plasma MDA level and there is not a difference of influence of submaximal physical training at morning and afternoon session to erythrocyte SOD enzyme activity.

ABSTRACT

The Differences of Influence of Submaximal Physical Exercise in The Morning and Afternoon on The Degree of Oxidative Stress

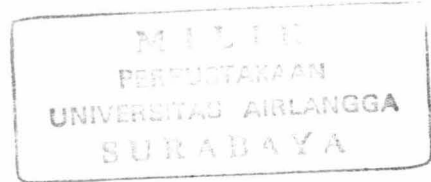
The purpose of this study was to determine the differences of the influence of submaximal exercise in the morning and afternoon sessions on the degree of oxidative stress.

The research design was experimental laboratories research with the pretest and posttest design. The subjects of this research were 8 people aged 21 – 25 years and given submaximal physical exercises that group I for morning sessions and group II for the afternoon sessions. Physical exercises in this study submaximal physical exercises by pedaling an ergocycle Technogym bike by using 80 % HR max for 6 minutes. The measurement of plasma MDA levels with TBA (*thiobarbituric acid*) methods with units of nmol/ml. While the measurement of the activity of SOD erythrocyte enzyme. The data obtained were analyzed by descriptive statistic, normality test, paired sample test, and independent sample test with significant level of 0.05.

From the analysis, the differences in the plasma MDA levels posttest in the group exercise morning and afternoon had value $p = 0.002$ ($p < 0.05$) means these was a significant differences on the plasma MDA levels after submaximal exercise in the morning and afternoon sessions. The differences of the activity of SOD erythrocyte enzyme posttest the group exercise morning and afternoon had value $p = 0.128$ ($p > 0.05$) meant there was no significance difference on the activity of SOD erythrocyte enzyme after submaximal physical exercise in the morning and afternoon sessions.

The conclusion of this research is the difference of influence of influence of submaximal physical training at morning and afternoon session to the plasma MDA level have its difference, ant the difference of influence of submaximal physical training at morning and afternoon session to the erythrocyte SOD enzyme activity have not its difference.

Key word : submaximal physical exercise, plasma MDA level, erythrocyte SOD enzyme, morning and afternoon exercise

**DAFTAR ISI**

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam.....	ii
Prasyarat Gelar.....	iii
Lembar Pengesahan.....	iv
Penetapan Panitia Ujian.....	v
Ucapan Terimakasih.....	vi
Ringkasan.....	x
Summary.....	xii
Abstract.....	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTARGAMBAR.....	xix
DAFTAR SINGKATAN.....	xx
DAFTAR LAMPIRAN.....	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan umum.....	5
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat akademik.....	5
1.4.2 Manfaat praktis.....	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Latihan Olahraga.....	7
2.1.1 Konsep latihan olahraga.....	7
2.1.2 Respon fisiologis terhadap latihan fisik.....	8

2.1.3	Komponen dasar latihan olahraga.....	9
2.1.4	Prinsip-prinsip dasar latihan.....	13
2.1.5	Sistem energi pada latihan fisik.....	15
2.1.6	Sistem penyediaan energi.....	17
2.1.7	Waktu latihan olahraga.....	19
2.1.8	Latihan fisik submaksimal	22
2.1.9	Mekanisme terbentuknya radikal bebas pada latihan aerobik.	24
2.2	Senyawa Radikal dan Oksidan Non Radikal.....	26
2.2.1	Konsep senyawa radikal.....	26
2.2.2	Jenis senyawa radikal.....	26
2.2.3	Senyawa oksidan non radikal.....	30
2.2.4	Reaksi kimia senyawa radikal.....	32
2.2.5	Deteksi senyawa radikal.....	34
2.3	Sistem Antioksidan.....	37
2.3.1	Konsep antioksidan.....	37
2.3.2	Sistem antioksidan.....	37
2.3.3	Contoh jenis antioksidan.....	38
2.3.4	Interelasi sistem antioksidan.....	40
2.3.5	Sistem antioksidan eritrosit.....	42
2.4	Stres Oksidatif.....	43
2.4.1	Konsep stres oksidatif.....	43
2.4.2	Pemicu terjadinya stres oksidatif.....	45
2.4.3	Stres oksidatif terhadap lemak.....	46
2.4.4	Stres oksidatif terhadap protein.....	49
2.5	Stres Oksidatif pada Latihan olahraga.....	57
2.6	Pengukuran Derajat Stres Oksidatif.....	66
2.6.1	Pengukuran kadar MDA plasma.....	66
2.6.2	Pengukuran SOD pada eritrosit.....	67
2.7	Respon Fisiologi terhadap Polutan.....	67

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	70
3.1 Kerangka Konseptual.....	70
3.2 Hipotesis Penelitian.....	72
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	73
4.1 Jenis Penelitian.....	73
4.2 Rancangan Penelitian.....	73
4.3 Populasi dan Subyek Penelitian.....	73
4.4 Variabel Penelitian.....	76
4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	78
4.6 Instrumen Penelitian.....	78
4.7 Prosedur Penelitian.....	79
4.8 Pemeriksaan kadar MDA plasma dan SOD eritrosit.....	81
4.9 Kerangka Operasional Penelitian.....	84
4.10 Teknik Analisa Data.....	85
BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN.....	86
5.1 Hasil Statistik Deskriptif.....	86
5.2 Hasil Uji Normalitas.....	89
5.3 Hasil Uji t berpasangan.....	89
5.4 Hasil Uji t 2 sampel Bebas.....	91
BAB 6 PEMBAHASAN.....	92
6.1 Pembahasan Metode Penelitian.....	92
6.2 Pembahasan Subyek Penelitian dan Latihan.....	92
6.3 Pembahasan Hasil Penelitian.....	93
BAB 7 PENUTUP.....	100
7.1 Kesimpulan.....	100
7.2 Saran.....	100
DAFTAR PUSTAKA.....	101
LAMPIRAN.....	107

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 : Proporsi Intensitas.....	11
Tabel 2.2 : Cadangan Energi (kalori dalam Tubuh Manusia.....	19
Tabel 2.3 : Daftar Indikator Stres Oksidatif pada Manusia dan Hewan...	44
Tabel 5.1 : Hasil Statistik deskriptif.....	87
Tabel 5.2 : Nilai Rerata dan SD Variabel penelitian.....	87
Tabel 5.3 : Uji Normalitas.....	89
Tabel 5.4 : perubahan antar waktu dalam kelompok.....	90
Tabel 5.5 : Hasil Uji Beda.....	91

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 : Siklus Irama Tubuh.....	20
Gambar 2.2 : Latihan sebagai Sumber Pembentukan Radikal Bebas.....	25
Gambar 5.2 : Diagram Batang Nilai Rerata Kadar MDA plasma.....	88
Gambar 5.3 : Diagram Batang Nilai Rerata Aktivitas Enzim SOD.....	88

DAFTAR SINGKATAN

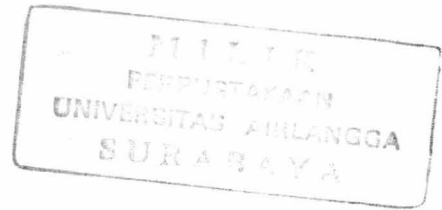
ATP	: Adenosine triphosphate
CO ₂	: Carbon dioxide
H ₂ O	: Dihydrogen Oxygen
EDTA	: Ethylene diamine tetra acetate
HR _{max}	: Heart rate maximal
IKOR	: Ilmu Keolahragaan
MDA	: Malondialdehyde
MET	: Metabolic Equivalent
mmol/ml	: mili mol per mili liter
NAD	: Nicotinamide adenin dinucleotide
nmol/L	: nano mol per Liter
PC / CP	: Phospho Creatine /Creatine Phosphate
Pi	: Phosphate inorganic
ROS	: Reactive Oxygen Species
SOD	: Superoxyde Dismutase
TBA	: Thiobarbituric Acid
TCA	: Tricarboxylic Acid
VO ₂ max	: Maximal Oxygen Volume

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 : Surat Laik Etik.....	107
Lampiran 2 : Surat ijin mengadakan penelitian dari Dekan FK UNAIR....	108
Lampiran 3 : Surat ijin dari laboratorium ASSFC UNESA.....	109
Lampiran 4 : Perhitungan Besar Sampel.....	110
Lampiran 5 : Penjelasan untuk mendapat Persetujuan.....	112
Lampiran 6 : Surat Pernyataan Persetujuan Sebagai Subyek Penelitian...	113
Lampiran 7 : Jadwal Kegiatan Penelitian.....	114
Lampiran 8 : Data Mentah penelitian.....	115
Lampiran 9 : Hasil Pengukuran MDA dan SOD.....	116
Lampiran 10 : Metode Penelitian Pengukuran MDA dan SOD.....	124
Lampiran 11:Hasil Analisis Statistik.....	127
Lampiran 12:Dokumentasi Penelitian.....	131

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang

Olahraga saat ini sudah menjadi kebutuhan masyarakat secara luas. Terbukti pada saat ini banyaknya aktivitas olahraga yang dilakukan oleh masyarakat seperti bersepeda, jalan kaki, berenang dan berbagai macam olahraga yang lain baik individu maupun berkelompok. Hal ini menunjukkan bahwa olahraga bukan sekedar kebutuhan, namun sudah menjadi gaya hidup. Pada umumnya mereka melakukan olahraga agar memperoleh suatu manfaat bagi tubuh antara lain: untuk menjaga kebugaran tubuh, kesehatan tubuh, akan tetapi tidak sedikit juga dari mereka yang melakukan olahraga sebagai suatu hobi dan untuk meningkatkan prestasi. Meskipun demikian apabila olahraga dilakukan tidak tepat akan dapat menimbulkan efek negatif bagi tubuh. Salah satu dampak negatif yang ditimbulkan adalah terjadinya pembentukan senyawa oksidan yang diikuti dengan terjadinya peristiwa stres oksidatif (Harjanto, 2003). Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001). Beberapa peneliti membuktikan bahwa stres oksidatif adalah penyebab utama penuaan dini dan timbulnya penyakit kronis seperti kanker, penyakit jantung, Alzheimer dan lain lain (Wikipedia, 2011).

Latihan olahraga memiliki berbagai komponen yaitu : modus, intensitas, durasi, ritme, dan frekuensi (Fox, 1998). Selain beberapa komponen di atas di

dalam program latihan terdapat beberapa komponen yang lain seperti: set, repetisi, sesi atau unit latihan dan waktu latihan (Sukadiyanto, 2005).

Latihan olahraga yang baik dan benar yaitu olahraga yang dilakukan secara teratur dan terukur, serta dilakukan dengan baik dan benar agar dapat bermanfaat bagi kesehatan dan kebugaran tubuh. Selain itu di dalam berolahraga kita juga harus memperhatikan waktu kapan kita akan melakukan suatu latihan.

Fungsi tubuh kita seperti pencernaan, pernafasan, dan produksi hormon memiliki siklus yang teratur. Siklus tersebut, dinamakan irama sirkadian. Dengan mekanisme tertentu, tubuh bekerja dengan berespon terhadap cahaya, suhu, aktivitas dan pola tidur. Irama sirkadian berjalan 24 jam sehari dan pengaturannya berdasarkan faktor lingkungan. (Michelle, 2007).

Menurut Burngadner (2008) latihan pagi hari dilakukan karena kondisi lingkungan yang mendukung yaitu polusi udara yang masih rendah di pagi hari dan temperatur lebih dingin meskipun di musim panas dibandingkan dengan kondisi lingkungan pada sore hari dimana temperatur dan suhu lingkungan meningkat dan kondisi polusi udara juga meningkat. Keadaan untuk kondisi lingkungan diatas biasanya banyak terjadi di kota-kota besar dimana pada sore hari polusi udara sangat tinggi.

Edward R. Laskowski, M.D, seorang ahli *physical medicine*, seperti yang dikutip dari Mayo Clinic, mengungkapkan, "Saat seseorang melakukan olahraga, bahkan dengan intensitas yang rendah, maka ia akan bernafas 10 kali lebih banyak dibandingkan saat sedang istirahat." Dalam kondisi berolahraga, orang cenderung akan menarik nafas lebih dalam dan bernafas melalui mulut sehingga melewati penyaringan saluran di hidung. Faktor inilah yang dapat meningkatkan kontak

tubuh dengan polusi sehingga dapat memicu risiko kesehatan (dalam Mohhebi & Azizi, 2011)

Menurut beberapa penelitian bahwa di dalam tubuh manusia terjadi beberapa peningkatan aktivitas selama melakukan aktivitas fisik antara lain peningkatan denyut jantung (Gareth & Kirkendall, 1999), beberapa aktivitas enzim gastrok-intesnital (Goo, et al, 1987), dan juga temperatur tubuh, konsumsi oksigen (Weinert & Waterhouse, 2007) serta peningkatan level katekolamin (Ayako & Keichi, 1995) kesemuanya itu terjadi peningkatan yang lebih tinggi pada waktu sore hari (dalam Mohhebi & Azizi, 2011)

Ditinjau dari radikal bebas tidak semua olahraga dapat menyehatkan tubuh, salah satu dampak negatif yang ditimbulkan adalah terjadinya peningkatan pembentukan senyawa oksidan yang diikuti dengan terjadinya peristiwa stres oksidatif (Harjanto, 2003; Andiana, 2008). Sumber dan mekanisme peningkatan pembentukan senyawa radikal pada latihan olahraga belum sepenuhnya dapat dijelaskan, akan tetapi beberapa peristiwa atau proses telah dihipotesiskan oleh para ahli sebagai sumber pembentukan senyawa radikal dan senyawa oksidan lainnya yaitu peningkatan konsumsi oksigen, pergeseran sirkulasi, peningkatan sekresi adrenalin dan peradangan (Halliwell & Gutteridge, 1999), peningkatan suhu tubuh (Sjodin et al. 1990, Harjanto, 2003), paparan bahan polutan udara juga dapat meningkatkan kandungan atau pembentukan senyawa radikal dalam tubuh (Suryohudoyo, 1997; Prahalad et al, 2001).

Derajat stres oksidatif dapat diukur dengan berbagai cara, antara lain: dengan mengukur kadar Malondialdehyde (MDA) plasma dan aktivitas enzim *Superoksida Dismutase* (SOD) eritrosit. Terbentuknya MDA dianggap sebagai

suatu petanda biologis untuk mengukur derajat stres oksidatif yang terjadi pada suatu organisme (McBride & Kraemer, 1999), karena MDA merupakan senyawa toksik hasil akhir terputusnya rantai karbon asam lemak pada peroksidasi lipid. MDA plasma merupakan salah satu indikator yang memiliki sensitivitas reaksi tinggi ketika dalam suatu jaringan terdapat radikal bebas (Winarsi, 2007; Wikipedia (2006)). Salah satu enzim antioksidan yang berguna sebagai sistem pertahanan terhadap senyawa oksigen reaktif adalah Enzim *Superoksida Dismutase* (SOD). Penggunaan aktivitas enzim SOD eritrosit sebagai indikator derajat stres oksidatif memiliki keuntungan karena enzim ini tidak dapat disintesis baru sehingga dapat terhindar dari hasil bias pengukuran. Selain itu enzim SOD ini terdapat dalam semua organisme aerob, dan sebagian besar berada dalam tingkat intraseluler, sehingga *Superoksida Dismutase* (SOD) dapat digunakan sebagai indikator tidak langsung yang digunakan untuk mengetahui indikator adanya senyawa oksigen reaktif.

Mengingat bahaya yang ditimbulkan akibat stres oksidatif selama latihan fisik khususnya mengenai waktu atau sesi kita melakukan latihan, maka perlu diungkap perbedaan pengaruh latihan submaksimal yang dilakukan pada pagi dan sore hari terhadap derajat stres oksidatif. Indikator terjadinya stres oksidatif pada penelitian ini dilihat dari tingginya tingkat peroksidasi lemak pada membran sel dengan indikator kadar MDA dalam plasma darah dan aktivitas enzim SOD yang terdapat dalam eritrosit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah pokok yang dibahas dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah ada perbedaan kadar MDA plasma setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sesi sore hari?
2. Apakah ada perbedaan aktivitas enzim SOD eritrosit setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sesi sore hari?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum penelitian adalah ingin mengetahui perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal pada pagi dan sore hari terhadap derajat stres oksidatif.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk membuktikan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA plasma setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sesi sore hari.
2. Untuk membuktikan bahwa terdapat perbedaan aktivitas enzim SOD setelah latihan fisik submaksimal.sesi pagi dan sesi sore hari.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat akademik

1. Memberikan sumbangan ilmiah untuk meningkatkan pemahaman tentang perbedaan pengaruh yang terjadi akibat latihan fisik submaksimal pada pagi dan sore hari ditinjau dari derajat stres oksidatif.

2. Memberikan sumbangan informasi ilmiah bagi pengembangan ilmu keolahragaan dengan menggunakan konsep radikal bebas.

1.4.2 Manfaat praktis

1. Memberikan pemahaman kepada masyarakat tentang dampak latihan fisik submaksimal pada pagi dan sore hari dalam upaya meningkatkan kesehatan, kesegaran jasmani dan prestasi yang fisiologis.
2. Memberikan pemahaman kepada masyarakat pecinta olahraga agar senantiasa meminimalisir timbulnya derajat stres oksidatif akibat olahraga.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Latihan Olahraga

2.1.1 Konsep latihan olahraga

Latihan merupakan suatu aktivitas fisik yang direncanakan, dan memiliki tujuan untuk meningkatkan kebugaran atau menjaga kebugaran tubuh (Powers & Edward, 2007). Sedangkan menurut Bompa (1994), bahwa latihan merupakan suatu proses yang terprogram secara sistematis dalam mempersiapkan atlet pada tingkat penampilan tertinggi yang dilakukan berulang-ulang dengan beban latihan yang semakin meningkat. Hal senada juga dikemukakan oleh Mosston (1992 : 9), latihan merupakan pelaksanaan gerakan secara berurutan dan berulang-ulang. Pendapat lain mengenai pengertian latihan adalah proses sistematis dari kerja fisik yang dilakukan secara berulang-ulang dengan menambah jumlah beban pekerjaannya. Latihan fisik merupakan pemberian kerja atau beban fisik pada tubuh secara teratur, sistematis, dan berkesinambungan melalui program latihan yang tepat (Astrand dan Rodahl, 1986 : 11). Pada prinsipnya latihan adalah memberikan tekanan fisik secara teratur, sistematis, berkesinambungan sehingga dapat meningkatkan kemampuan fisik di dalam melakukan aktivitas (Fox et al, 1998).

McArdle (2001) menyebutkan bahwa ada dua istilah dalam latihan yaitu *acute exercise* dan *chronic exercise*. *Acute exercise* adalah latihan yang dilakukan hanya sekali saja atau disebut dengan *exercise*, sedangkan *chronic exercise* adalah latihan yang dilakukan secara berulang-ulang sampai beberapa hari atau sampai

beberapa bulan (*training*). Hal yang perlu diperhatikan, dengan melakukan *training* (pelatihan / program latihan) akan terjadi perubahan didalam tubuh sedangkan dengan melakukan *exercise* perubahan yang terjadi hanya bersifat sementara (waktu yang relatif singkat). Perubahan yang terjadi pada waktu seseorang melakukan *exercise* disebut dengan respons. Sedangkan perubahan yang terjadi karena *training* disebut adaptasi

Latihan fisik sebaiknya dilakukan sesuai dengan kemampuan tubuh dalam menanggapi stres yang diberikan, bila tubuh diberi beban latihan yang terlalu ringan, maka tidak akan terjadi proses adaptasi (Sugiharto, 2003). Demikian juga bila diberikan beban yang terlalu berat dan tubuh tidak mampu mentolelir akan menyebabkan terganggunya proses homeostatis pada sistem tubuh dan dapat mengakibatkan kerusakan pada jaringan. Setiap latihan fisik akan menimbulkan respons atau tanggapan dari organ-organ tubuh terhadap dosis atau beban latihan yang diberikan, hal ini merupakan penyesuaian diri dalam rangka menjaga keseimbangan lingkungan yang stabil atau bisa disebut juga homeostatis (Sugiharto, 2003).

2.1.2 Respons fisiologis terhadap latihan fisik

Atlit yang melakukan latihan fisik yang lebih tinggi akan mencapai suatu titik di mana transport oksigen menuju ke otot tidak lagi meningkat dan seluruh konsumsi oksigen tubuh maksimal (*VO2 max*) tidak bisa lagi meningkat. Setelah masa tersebut akan terjadi kelelahan.

Pada aktivitas fisik terjadi peningkatan konsumsi oksigen. Peningkatan ini akan mencapai maksimal saat penambahan beban kerja tidak mampu

meningkatkan konsumsi oksigen. Hal ini dikenal dengan konsumsi oksigen maksimum (*VO₂ max*). Sesudah *VO₂ max* tercapai kerja akan ditingkatkan dan dipertahankan hanya dalam waktu singkat dengan metabolisme anaerob pada otot yang melakukan aktivitas. Secara teoritis, *VO₂ max* dibatasi oleh *cardiac output*, kemampuan sistem respirasi untuk membawa oksigen darah, dan kemampuan otot yang bekerja untuk menggunakan oksigen. Faktanya, pada orang normal (kecuali atlet pada yang sangat terlatih), *cardiac output* adalah faktor yang menentukan *VO₂ max* (Bompa, 1990).

Apabila melakukan latihan fisik maksimal secara teratur, maka produksi asam laktat menjadi lebih sedikit pada saat melakukan latihan fisik berat. Selain itu, respons fisiologis tubuh juga mengalami perubahan saat melakukan latihan fisik berat, perubahan tersebut antara lain konsumsi oksigen dan produksi CO₂ menjadi lebih sedikit, ventilasi secara dramatis menurun. Walaupun ventilasi menurun, PCO₂ dan PH arteri tetap normal (Casaburi, 1992; Clarkson dan Thompson, 2000).

2.1.3 Komponen dasar latihan olahraga

Latihan olahraga memiliki berbagai komponen. Adapun faktor yang mempengaruhi latihan antara lain: a) intensitas, b) frekuensi latihan, dan c) durasi latihan. Intensitas adalah besarnya kinerja. Frekuensi adalah pola kegiatan latihan per satuan waktu. Durasi merupakan jangka waktu lamanya latihan. (Fox et al, 1998).

Komponen latihan merupakan kunci atau hal penting yang harus dipertimbangkan dalam menentukan dosis dan beban latihan. Selain itu komponen

latihan sebagai patokan dan tolak ukur yang sangat menentukan untuk tercapai tidaknya suatu tujuan dan sasaran latihan yang telah disusun dan dilaksanakan (Sukadiyanto, 2005). Berikut ini adalah beberapa komponen latihan antara lain:

1) Intensitas Latihan

Intensitas suatu latihan adalah suatu dosis (jatah) latihan yang harus dilakukan seseorang atlet, menurut program yang ditentukan. Intensitas latihan fisik memiliki dua prinsip utama. Pertama, intensitas latihan fisik mempunyai ambang batas, artinya latihan fisik tidak akan mempunyai efek latihan lagi walaupun frekuensi dan durasi latihan fisik itu ditingkatkan. Kedua, bila intensitas latihan fisik dilakukan melebihi ambang batas, jumlah total kerja per sesi merupakan determinan yang penting bagi respons latihan fisik. Sebagai contoh, latihan fisik intensitas tinggi dalam waktu singkat sama efektifnya dengan latihan fisik intensitas sedang dalam waktu yang lama (Casaburi, 1992).

Intensitas merupakan besaran kinerja yang dikeluarkan pada waktu latihan dan dapat dinyatakan dengan berbagai cara yaitu:

- (1) Besaran kinerja atau konsumsi energi per satuan seperti Watt (Joule/detik) atau MET (konsumsi O₂/menit/kg berat badan).
- (2) Kecepatan gerakan seperti meter/detik.
- (3) Persentase dari kemampuan maksimal seperti % dari: VO₂-max, denyut nadi maksimal, jumlah ulangan (repetisi) maksimal.
- (4) Jenis proses metabolisme yang dipergunakan untuk penyediaan energi seperti latihan aerobik dan anaerobik dimana latihan aerobik merupakan olahraga dengan energi latihan disediakan

oleh metabolisme aerobik sedangkan latihan anaerobik merupakan latihan olahraga dimana energi latihan disediakan oleh metabolisme anaerobik. Latihan anaerobik memiliki intensitas lebih tinggi dibandingkan dengan latihan aerobik (Fox,1993 ; Wilmore, 1994).

Metode latihan untuk menentukan intensitas latihan adalah berdasarkan penentuan denyut nadi maksimal (*maximum heart rate*). Denyut nadi maksimal adalah jumlah denyut jantung yang dicapai per menit waktu melakukan kerja maksimal (Deborah, 2006). Rumus untuk memprediksi denyut nadi maksimal adalah $220 - \text{umur}$ (Mitchell, 1992). Pendapat lain juga mengatakan bahwa prediksi denyut nadi maksimal di dapat dari persamaan $220 - \text{umur}$, dan untuk mencapai denyut nadi maksimal adalah dengan menggunakan latihan interval dengan intensitas 91 % dari denyut nadi maksimal (Zehr, 1993). Akan tetapi denyut nadi maksimal yang dicapai saat lari di air berbeda dengan nadi maksimal yang dicapai saat lari di treadmill (172 vs 188) pada subyek yang sama (Svendenhag, 1992). Rumus untuk memprediksi denyut nadi maksimal adalah :

Persentase	Intensity
30 – 50 %	Low
50 – 70 %	Intermediate
70 – 80 %	Medium
80 – 90 %	Submaximal
90 – 100 %	Maksimal

Tabel 2.1 Proporsi Intensitas (Sukadiyanto, 2005)

2) Frekuensi Latihan

Frekuensi latihan dapat dilakukan 1 kali, 2 kali, 3 kali, 4 kali, dan 5 kali perminggu tergantung tujuan yang ingin dicapai (Fox et al, 1993). Penentuan frekuensi latihan tergantung dari status kesehatan dan kebugaran jasmaniatlit yang akan dilatih. Agar diperoleh peningkatan kualitas komponen kondisi fisik, maka frekuensi latihan sebaiknya dilakukan 3-5 kali perminggu (Bompa, 1994; Fox, 1993).

3) Durasi Latihan

Lama latihan dapat diartikan sebagai rentang waktu yang dapat berupa berapa menit atau beberapa jam latihan dilakukan dalam setiap kali seminggu atau berapa bulan suatu program latihan berlangsung (Bompa, 1994).

4) Volume Latihan

Volume adalah ukuran yang menunjukkan kuantitas (jumlah) suatu rangsang atau pembebanan. Adapun dalam proses latihan cara yang digunakan untuk meningkatkan volume latihan dapat dilakukan dengan cara latihan seperti diperberat, diperlama, dipercepat, ataupun diperbanyak (Sukadiyanto, 2005).

5) *Recovery*

Istilah *recovery* selalu terkait erat dengan interval, sebab kedua istilah tersebut memiliki makna yang sama, yaitu pemberian waktu istirahat. *Recovery* adalah pemberian waktu istirahat yang diberikan pada saat antar set atau antar repetisi (ulangan) (Sukadiyanto, 2005).

6) Repetisi

Repetisi adalah jumlah ulangan yang dilakukan untuk setiap butir atau item latihan. Dalam satu seri atau sirkuit biasanya terdapat beberapa butir atau item latihan yang harus dilakukan dan setiap butirnya dilaksanakan berkali-kali.

7) Set

Set dan repetisi memiliki pengertian yang sama, namun juga ada perbedaannya. Set adalah jumlah ulangan untuk satu jenis butir latihan.

8) Irama latihan

Irama latihan adalah ukuran yang menunjukkan kecepatan pelaksanaan suatu perangsangan atau pembebanan. Ada tiga macam irama latihan, yaitu irama cepat, sedang, dan lambat (Sukadiyanto, 2005).

9) Sesi atau Unit

Sesi atau unit adalah jumlah materi program latihan yang disusun dan yang harus dilakukan dalam satu kali pertemuan (tatap muka). Untuk olahragawan yang profesional umumnya dalam satu hari dapat melakukan dua sesi latihan, yaitu misalnya materi latihan yang dilakukan pada pagi hari dan materi latihan yang dilakukan pada sore atau malam hari (Sukadiyanto, 2005).

2.1.4 Prinsip-prinsip dasar latihan

Suatu program latihan yang akan memberikan hasil yang maksimal apabila didasarkan pada prinsip-prinsip dasar latihan (bompa, 1994; Fox, 1993). Beberapa prinsip dasar latihan tersebut meliputi :

1) Prinsip beban berlebih (*the overload principle*)

Untuk mendapatkan efek latihan yang baik organ tubuh harus diberi beban latihan yang melebihi yang biasa diterima aktivitas sehari-hari. Beban latihan yang diberikan pada setiap atlet tidak sama (*individual*), dan bebannya mendekati beban maksimal. Dengan beban yang akan memaksa otot untuk berkontraksi semaksimal mungkin, sehingga dapat merangsang adaptasi fisiologis yang dapat meningkatkan kekuatan dan daya tahan (Rushall, 1990; Fox, 1993).

2) Prinsip beban bertambah (*the principle of progressive resistance*)

Prinsip beban bertambah dapat dilakukan dengan cara meningkatkan beban latihan secara bertahap dalam suatu program latihan. Cara ini dapat dilakukan dengan jalan mengatur peningkatan intensitas, frekuensi dan latihan. Beban latihan ditingkatkan jika kemampuan tubuh semakin meningkat. Prinsip ini didasarkan pada kerja fisiologis tubuh, bahwa tubuh selalu akan beradaptasi terhadap keadaan atau stress yang akan diberikan asalkan beban yang diberikan tidak melampaui batas-batas toleransi tubuh (Rushall, 1990; Fox, 1993).

3) Prinsip kekhususan (*the principles of specificity*)

Prinsip kekhususan harus ditetapkan dalam suatu program latihan sehingga dapat memberikan hasil yang optimal. Prinsip kekhususan meliputi beberapa aspek, antara lain:

- (1) Kekhususan terhadap kelompok otot yang dilatih
- (2) Kekhususan terhadap pola gerakan yang dibutuhkan dalam suatu cabang olahraga

- (3) Kekhususan terhadap sudut sendi yang terlibat dalam suatu gerakan
- (4) Kekhususan terhadap system energi utama yang digunakan (*predominant energy*)
- (5) Kekhususan terhadap jenis kontraksi ototnya (Rushall, 1990; Fox, 1993).

4) Prinsip individual (*the principle of individuality*)

Prinsip ini didasarkan bahwa setiap orang mempunyai karakteristik yang berbeda-beda baik secara fisik maupun psikologis. Oleh karena itu latihan yang diberikan harus disesuaikan dengan tingkat kesegaran seseorang dan tujuan yang hendak dicapai (Rushall, 1990; Fox, 1993).

5) Prinsip pulih asal (*recovery*)

Prinsip pulih asal bertujuan untuk memulihkan kondisi tubuh pada keadaan sebelum aktivitas, baik pemulihan terhadap cadangan energi, maupun pembuangan asam laktat dari darah dan otot serta pemulihan cadangan oksigen (Sukarman, 1991).

2.1.5 Sistem energi pada latihan fisik

Dari berbagai tipe latihan fisik yang ada hubungannya dengan sistem energi, Fox (1993) membagi ke dalam dua kategori, yaitu:

- 1) Latihan fisik dalam waktu singkat
- 2) Latihan fisik dalam jangka waktu lama

1) Sistem energi saat latihan fisik dalam waktu singkat

Yang dimaksud dengan latihan fisik dalam waktu singkat yaitu latihan dengan intensitas tinggi yang mendekati maksimal dan hanya berlangsung dalam waktu yang singkat atau tidak lebih dari 2-3 menit.

Pada saat berlatih dalam keadaan demikian, sistem energi yang dominan adalah sistem anaerobik dan bahan utama yang dipecah adalah karohidrat dengan sedikit lemak serta sedikit protein. Hal ini menunjukkan bahwa energi yang diperlukan dalam latihan semacam ini tidak dapat disuplai melalui sistem aerobik saja. Oleh krena itu sebagian besar ATP harus disuplai secara anaerobik oleh sistem fosfagen. Dan ini berarti akan terjadi penumpukan asam laktat didalam darah dan otot, karena suplai oksigen tidak mencukupi.

Pada saat cadangan glikogen telah habis digunakan, maka penumpukan asam laktat dalam darah telah mendekati maksimal. Setelah lari sprint 400m dan 800m, kadar asam laktat meningkat 20 kali lebih besar daripada dalam keadaan istirahat. Dengan demikian kadar asam laktat dalam darah merupakan indikator yang baik untuk menentukan sistem energi yang dominan dalam latihan.

2) Sistem energi saat latihan fisik dalam jangka waktu yang lama

Latihan fisik dalam jangka waktu yang lama adalah berbagai tes fisik yang waktu pelaksanaannya diatas 10 menit. Sumber utama ATP disuplai sistem aerobik dengan bahan bakar utama bersal dari karbohidrat dan lemak. Jika aktivitas yang dilakukan lebih dari satu jam dengan intensitas kerja submaksimal, maka simpanan glikogen mulai menurun secara bermakna dan

lemak menjadi sumber bahan utama untuk pembentukan kembali bahan bakar ATP (Fox, 1993).

2.1.6 Sistem penyediaan energi

Penyediaan energi dalam otot dapat disediakan melalui tiga sistem penyediaan energi, yaitu :

- 1) Sistem ATP – PC (*Phosphagen System*)
- 2) Sistem Asam Laktat (*lactid acid system/glikolisis anaerobik*)
- 3) Sistem Aerobik (sistem oksigen/glikolisis aerobik)

1) Sistem ATP – PC (*Phosphagen System*)

Semua energi yang digunakan untuk menjalankan fungsi tubuh kita berasal dari ATP. Di dalam tubuh jumlah ATP yang terbanyak terdapat dalam otot. Pada bagian otot yang terlatih yang baik akan memiliki jumlah persediaan ATP yang lebih banyak jumlahnya. Namun demikian, jumlah ATP di dalam otot akan tetap terbatas jumlahnya, karena jumlah ATP yang tersimpan dalam otot sangat terbatas, maka otot akan lebih cepat kehilangan energi apabila seseorang melakukan aktivitas sangat berat (Bompa, 1994). Oleh karena itu ATP yang telah digunakan harus dibentuk kembali(resintesa). Pembentukan kembali ATP juga memerlukan energi. Agar otot dapat berkontraksi dengan cepat dan kuat, maka ATP harus disintesa lebih cepat lagi.

Sistem ATP – PC berguna untuk menggerakkan otot 5-8 detik, misalnya pada olahraga anaerobik seperti *sprint* 100m, angkat besi, tolak peluru. Ketika ATP pecah menjadi *Adenosine diphosphate* dan *phosphate inorganic* (Pi), dihasilkan energi yang dapat digunakan untuk kontraksi otot *skelet* selama *exercise*. Tiap

molekul ATP yang terurai diestimasi sebanyak 7 – 12 kalori. Disamping ATP, otot *skelet* juga memiliki energi *phosphate* yang tinggi yaitu *creatine phosphate* (CP), yang dapat dipakai untuk menghasilkan ATP. ATP dan CP yang dapat segera, sangat sedikit tersedia di dalam tubuh. Cadangan CP dalam di otot *skelet* 3 – 5 kali lebih besar dari ATP yang tercadang di otot. Oleh karena ATP dan CP juga mengandung fosfat (P) sehingga sistem ini disebut juga sebagai *Phosphagen system*. Apabila PC pecah maka akan keluar energi. Pemecahan tersebut tidak memerlukan oksigen. Dalam otot jumlah PC sangat terbatas, akan tetapi merupakan sumber energi tercepat untuk membentuk kembali ATP. Jumlah PC dalam otot dapat ditingkatkan dengan memberikan latihan dengan irama cepat dan intensitas tinggi. Simpanan PC dalam otot jumlahnya sangat sedikit, sehingga energi yang dihasilkan hanya untuk bekerja yang cepat dan energi tersebut akan cepat habis. Untuk membentuk ATP kembali kalau cadangan PC habis, maka dilakukan pemecahan glukosa tanpa oksigen atau sebagai *glikolisis anaerobik*.

2) Sistem Asam Laktat (*lactic acid system/glykolisis anaerobik*)

Sistem asam laktat adalah anaerobik dimana ATP dihasilkan pada otot *skelet* melalui glikolisis. Sistem asam laktat penting untuk olahraga intensitas tinggi yang lamanya 20 detik – 2 menit seperti sprint 200 – 800m, renang gaya bebas 100m. Glukosa dari glikogen otot dipecah menjadi asam laktat. Sistem ini penting untuk *exercise* anaerobik dengan intensitas tinggi yang berguna untuk melakukan kontraksi otot. Setelah 1,5 – 2 menit melakukan *exercise* anaerobik, penumpukan laktat yang terjadi akan menghambat glikolisis, sehingga timbul kelelahan otot. Melalui sistem ini dari 1 mol (180 gram) glikogen otot dihasil 3 molekul ATP.

Seberapa besar perkiraan cadangan energi dalam tubuh manusia dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 2.2 Cadangan energi (kalori) dalam tubuh manusia

Sumber Energi	Bentuk cadangan	Total kalori
ATP	Jaringan otot	1
CP	Jaringan Otot	4
Karbohidrat	Glukosa darah	20
	Glikogen hati	400
	Glikogen otot	1500
Lemak	Asam lemak darah	7
	Trigliserida darah	75
S	Trigliserida otot	2500
	Trigliserida jaringan lemak	80.000
Protein	Protein otot	30.000

ber: Melvins H. William, *Nutrition for fitness and Sport*, Iowa: Wm. C. Brown Publishers, 1991, p. 25. 1

Menurut Sukarman (1991) sistem asam laktat ini berjalan lebih lambat jika dibandingkan dengan ATP – PC (2 reaksi), adapun cirri system ini adalah sebagai berikut:

- a. Menyebabkan terbentuknya asam laktat dan dapat menyebabkan kelelahan
- b. Tidak membutuhkan oksigen
- c. Hanya menggunakan karbohidrat
- d. Pelepasan energi yang hanya cukup untuk resistensi ATP dalam jumlah yang sedikit (Fox, 1993).

2.1.7 Waktu Latihan Olahraga

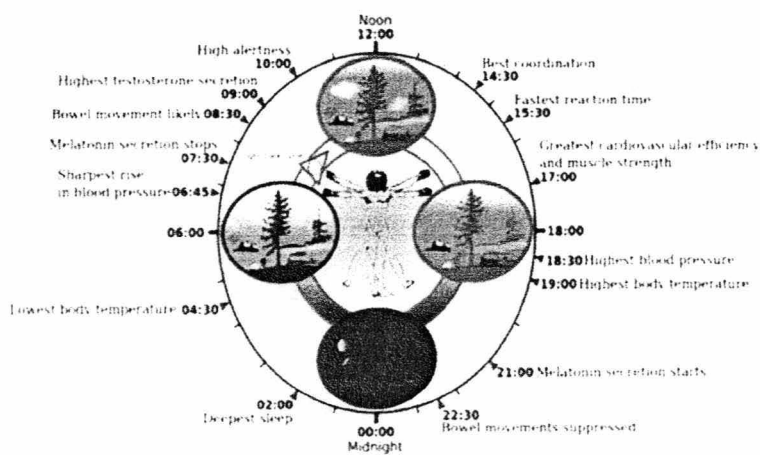
Latihan olahraga hendaknya dilakukan dengan baik dan benar yaitu yaitu olahraga dilakukan secara teratur dan terukur agar dapat bermanfaat bagi kesehatan dan kebugaran. Latihan olahraga sebaiknya dilakukan pada udara terbuka dan bebas polusi, atau bila tidak, lakukanlah di ruang tertutup yang

temperature ruangnya dapat diatur. Latihan olahraga bisa dilakukan pada waktu pagi hari dan sore hari dan tergantung dari jenis latihan dan tujuannya (Mitchell, 2007)

(1) Irama sirkadian

Irama sirkadian adalah siklus 24 jam yang mengatur banyak proses biologi pada makhluk hidup. Irama sirkadian berguna bagi jam biologis kita, ini membantu untuk mengatur fungsi sehari-hari tubuh secara teratur. Gangguan dari ritme sirkadian cenderung memiliki efek negatif dan bisa menyebabkan kelelahan, disorientasi dan insomnia, namun ada beberapa cara untuk membantu mengatur jam biologis Anda untuk meningkatkan kesehatan (Michelle, 2007).

Tubuh memiliki jam biologis yang mengatur berbagai fungsi organ sepanjang hari agar bekerja sesuai ritme yang telah ditentukan. Mulai dari jantung, usus hingga sistem hormonal mengalami perubahan sejak pagi hari hingga tengah malam. Untuk itu apabila kita berolahraga dianjurkan mengetahui ritme dari tubuh kita agar dapat menghasilkan manfaat yang berguna bagi tubuh kita. Berikut ini gambar yang menunjukkan siklus dari tubuh kita (Pramudiarja, 2011)



Gambar 2.1: Siklus irama tubuh (www.wikipedia,2011)

(2) Latihan pagi dan sore

Pagi adalah masa awal sebuah hari. Dalam kebudayaan Indonesia, pagi adalah masa mulai dari tengah malam hingga sekitar pukul 10.00. Waktu pagi adalah istilah yang mengawali seluruh waktu dalam satu hari, mendahului siang dan malam hari. Sedangkan untuk sore adalah suatu masa dalam hari mulai pukul 15.00 sampai pukul 18.00 (Wikipedia, 2011).

Latihan pagi hari dilakukan karena kondisi lingkungan yang mendukung antara lain pada waktu pagi hari polusi udara masih rendah, temperatur lebih dingin meskipun di musim panas. Tetapi konsekuensinya apabila kita melakukan latihan pada pagi hari adalah temperatur tubuh dan tingkat hormon pada pagi hari masih dalam titik terendah, selain itu keadaan otot masih terasa tegang. Sedangkan untuk sore hari temperatur tubuh dan hormon sedang dalam kondisi yang tinggi dan otot sudah fleksibel. Menurut beberapa penelitian menunjukkan latihan daya tahan dan pembentukan otot yang baik dilakukan pada sore hari dan fungsi paru-paru terbaik pada jam 4 sampai 5 sore (Burngadner, 2008).

(3). Irama sirkadian dan stres oksidatif

Irama sirkadian adalah siklus 24 jam yang mengatur banyak proses biologi pada makhluk hidup. Irama sirkadian berguna bagi jam biologis kita, ini membantu untuk mengatur fungsi sehari-hari tubuh secara teratur.

Tubuh memiliki jam biologis yang mengatur berbagai fungsi organ sepanjang hari agar bekerja sesuai ritme yang telah ditentukan. Mulai dari jantung, usus hingga sistem hormonal mengalami perubahan sejak pagi hari hingga tengah malam. Di dalam siklus tersebut terjadi beberapa peningkatan mulai dari suhu tubuh, temperatur tubuh serta beberapa hormon seperti adrenalin (Mitchell, 2007).

Selain beberapa peningkatan tersebut diatas juga terjadi perubahan pada kondisi lingkungan seperti suhu lingkungan pada pagi hari berbeda dengan sore hari karena pada pagi hari kondisi lingkungan masih bebas polusi dan keadaan suhu masih dingin sedangkan pada sore hari kondisi lingkungan sudah banyak polusi udara (Burngadner, 2008). Bahan polutan sangat mempengaruhi sistem pernafasan pada tubuh kita, selain itu bahan polutan juga mempengaruhi penampilan olahraga. Konsumsi oksigen maksimal berkurang signifikan(4-5%) bila kandungan karboxilhemoglobin melebihi 5 %, dan mulai titik ini penurunan konsumsi oksigen maksimal terjadi secara linier (Horvarth, dalam Pyke, 1992).

2.1.7 Latihan fisik submaksimal

Aktifitas fisik ternyata berpengaruh terhadap kesegaran jasmani seseorang dan merupakan bagian komplek dari kebiasaan sehari-hari manusia. Aktivitas fisik yang sangat mempengaruhi tingkat kesegaran jasmani seseorang adalah olah raga (Manurung, 1994). Menurut Giam cit Salma (1994), olahraga yang benar harus memperhatikan intensitas berupa denyutjantung yang merupakan cerminan dari beban yang diterima. Beban yang dapat diterima oleh jantung berkisar antara 60- 80% dari kekuatan maksimal jantung. Latihan yang dilakukan sampai denyut jantung maksimal akan menyebabkan kelelahan dan membahayakan, Sebaliknya jika beban latihan di bawah 70%, maka efek sangat sedikit atau kurang bermanfaat.

Latihan fisik teratur merupakan aktivitas yang bersifat *chronic* 'kronik' dalam masa yang lama yang terdiri atas pengulangan dari latihan fisik *acute* 'akut'

(Howley dan Franks, 1997:16). Suatu latihan olahraga dikatakan teratur dan tidak teratur berpedoman pada prinsip dasar latihan dan efektifnya latihan untuk mencapai proses adaptasi tubuh. Latihan aerobik teratur dilakukan dengan mengatur jumlah frekuensi, intensitas, durasi, dan set latihan sesuai dengan prinsip dasar latihan (Fox, 1998:43).

Latihan fisik yang dilakukan bertujuan untuk mencapai adaptasi fungsional tubuh dan peningkatan kemampuan fisik. Agar hal tersebut terjadi maka latihan harus dilakukan secara teratur, sistematis, dan berkesinambungan melalui program latihan (Astrand 1986). Adaptasi memerlukan suatu rencana program latihan yang tepat dengan memperhatikan frekuensi, lama beban kerja, tipe latihan, kecepatan, intensitas, durasi, repetisi, interval istirahat, dan kompetisi (McArdle, 2001:460). Latihan fisik yang dilakukan secara teratur menyebabkan adaptasi tubuh dimana terjadi perubahan dari fungsi organ-organ tubuh yang sifatnya lebih menetap.

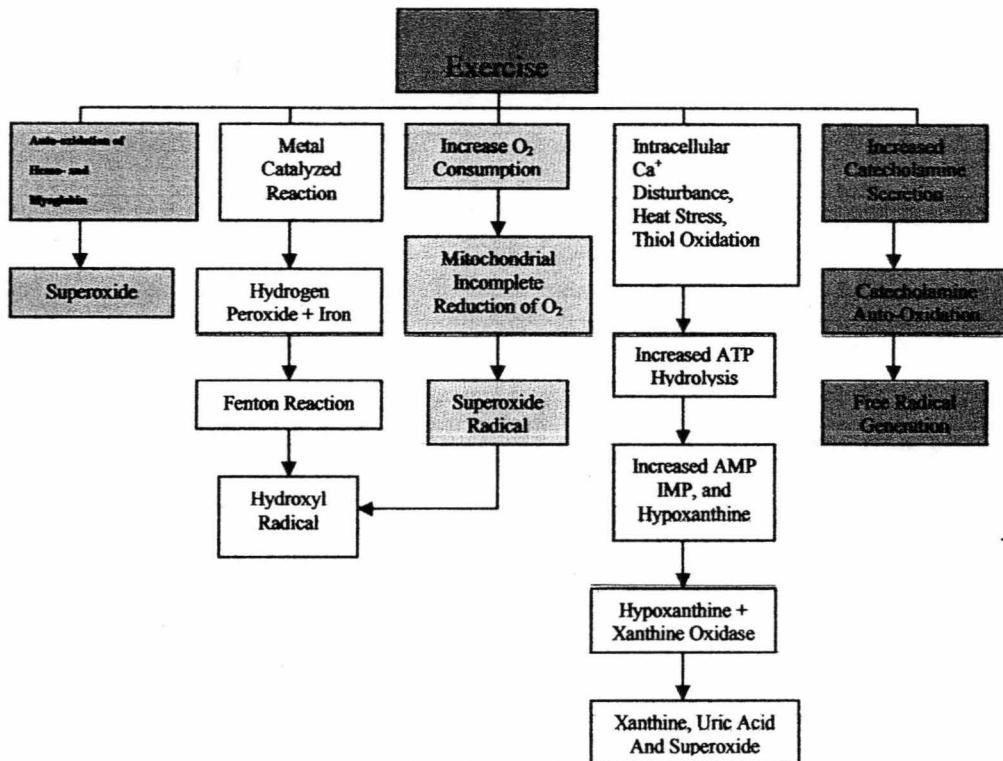
Latihan aerobik tidak teratur adalah latihan yang dilakukan dengan frekuensi yang tidak teratur (Wulandari, 2001:12) dan dosis yang tidak menentu, tanpa penambahan beban yang berarti, dan penghentian dari latihan menyebabkan detraining. Ketika seseorang melakukan *detraining* 'berhenti dari latihan teratur' dapat menyebabkan hilangnya adaptasi fisiologi dan performanya. Hanya 1 atau 2 minggu detraining secara signifikan menyebabkan penurunan metabolisme dan kapasitas latihan (McArdle, 2001:463).

Latihan tidak teratur merupakan latihan yang tidak mempunyai program terencana sehingga dilakukan dengan frekuensi tiap minggu tidak menentu misalnya: pada minggu pertama melakukan latihan dengan frekuensi 4 kali dalam

satu minggu, minggu kedua tidak melakukan latihan, minggu ketiga hanya satu kali latihan dalam seminggu, dan minggu berikutnya melakukan latihan kurang dari 3 kali seminggu atau lebih dari 5 kali seminggu. Sedangkan menurut Sardjuno (1983:134) latihan yang dilakukan dua kali dalam satu minggu tidak efektif untuk melatih sistem kardiovaskuler atau untuk memelihara tingkat kesegaran jasmani yang telah tercapai dengan latihan-latihan olahraga. Latihan dengan frekuensi lebih dari 4 kali seminggu pada individu yang tidak terlatih beresiko menyebabkan cedera dan kondisi fisik yang *dropouts* (Howley dan Franks, 1997:272).

2.1.9 Mekanisme terbentuknya radikal bebas pada latihan aerobik

Radikal bebas yang terlibat dalam berbagai proses biologis sebagian besar berasal dari proses biologis alami yang melibatkan senyawa oksigen reaktif termasuk radikal bebas oksigen. Senyawa tersebut terbentuk dari oksigen, suatu senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik, termasuk manusia. Organisme aerobik memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP (*Adenosine Triphosphate*) melalui fosforilasi oksidatif di mitokondria (Sjodin, 1990:237). Leeuwenburgh dan Heinecke (2001:829) juga menyebutkan bahwa organisme aerobik memproduksi senyawa oksigen reaktif selama respirasi normal dan kondisi inflamasi atau peradangan. Latihan merupakan potensi bagi terbentuknya radikal bebas secara ringkas dapat dilihat pada gambar 2.2



Gambar 2.2 Latihan Sebagai Sumber Pembentukan Radikal Bebas (Sumber: Jewett dkk, 1989)

Latihan fisik secara dramatis akan meningkatkan konsumsi oksigen sebesar 15 kali lipat dari konsumsi normal dalam aliran darah. Otot yang aktif dapat meningkatkan kebutuhan oksigen 100 kali lipat dari kondisi pasif (Cooper, 2002:280). Peningkatan ini disebabkan oleh peningkatan kebutuhan ATP sedangkan persediaan ATP di intra seluler sangat terbatas, sehingga terjadi terus-menerus pembentukan ATP melalui proses oksidatif, siklus krebs, dan transport elektron. Pada proses pembentukan ATP memerlukan oksigen, konsumsi oksigen pada rantai pernafasan di mitokondria berpengaruh terhadap peningkatan produksi radikal bebas (Sjodin, 1990).

2.2 Senyawa Radikal dan Oksidan Non Radikal.

2.2.1 Konsep senyawa radikal

Senyawa radikal adalah senyawa yang mempunyai satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lintasan paling luar. Untuk mencapai keadaan stabil, elektron tunggal pada senyawa radikal akan mencari pasangan dengan berusaha menarik elektron dari (mengoksidasi) atau berpindah ke (mereduksi) senyawa lain yang berdekatan. Karena sifatnya yang demikian senyawa radikal bersifat sangat reaktif dan dapat mengubah struktur molekul didekatnya sehingga akan menimbulkan perubahan sifat kimiawi dari molekul tersebut. Bila molekul yang mendapat serangan senyawa radikal merupakan molekul biologis fungsional maka fungsi biologis dari molekul tersebut dapat berubah (Bast, 1991; Symons, 1991; Suryohudoyo, 1993; Halliwell, 1999).

2.2.2 Jenis senyawa radikal

Di dalam tubuh dapat terbentuk berbagai jenis senyawa radikal yang lazimnya dikelompokkan berdasarkan nama atomnya. Terdapat empat jenis atom yang sering membentuk senyawa radikal di dalam tubuh yaitu radikal karbon (*carbon centered radical* atau *carbonyl*), radikal oksigen (*oxygen centered radicals*), radikal sulfur (*sulfur centered radicals* atau *thiyl*), radikal nitrogen (*nitrogen centered radical*) (Bast, 1991; Symons, 1991; Fridovich, 1997; Halliwell, 1999)

a. Radikal oksigen (*oxygen centered radicals*)

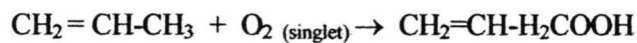
Senyawa radikal oksigen mempunyai berbagai ragam jenis seperti superoksida, hidroksil, nitrik oksida, nitrogen dioksida, alkoksil dan peroksil.

HOCl (hipoklorid), ONOO⁻ (peroksinitrit) dan ozon (Suryohudoyo, 1997; Halliwell, 1999).

(1) Oksigen singlet

Berdasarkan konfigurasi elektron, molekul oksigen dapat terdapat dalam berbagai bentuk yaitu bentuk ground state: $^3\Sigma_g^- O_2$ ($\uparrow^*O-O^*\uparrow$) dan dua bentuk lain yang disebut sebagai oksigen singlet yaitu bentuk: $^1\Delta_g \ddot{O}_2$ ($:\ddot{O}-\ddot{O}$) dan $^1\Sigma_g^+ O_2$ ($\uparrow^*O-O^*\downarrow$), dimana bentuk yang terakhir bersifat lebih reaktif.

Dengan senyawa yang mempunyai satu ikatan tak jenuh oksigen singlet dapat membentuk hidroperoksida.



(Halliwell, 1999)

(2) H₂O₂ (hidrogen peroksida)

Di dalam tubuh hidrogen peroksida dapat terbentuk pada berbagai proses seperti proses dismutasi dari radikal superoksida dan aktivitas enzim di organel peroksisom. H₂O₂ dapat membentuk radikal hidroksil (OH^{*}) bila bertemu dengan ion Fe²⁺ (reaksi Fenton) maupun radikal superoksida (reaksi Haber Weiss). H₂O₂ dapat menembus membran sehingga dampak pengaruhnya dapat tersebar luas (Halliwell, 1999)

(3) HOCl (hipoklorit)

Zat ini antara lain diproduksi oleh neutrofil dengan katalisasi oleh enzim mieloperoxidase dan digunakan untuk proses bakterisida. Serupa dengan hidrogen peroksida, hipoklorid dapat menembus membran sel sehingga dapat tersebar luas dan dapat membentuk radikal OH^{*} bila bertemu Fe²⁺ atau Cu⁺ (Halliwell, 1999)

(4) ONOO^- (peroksinitrit)

Seperti telah diuraikan di depan peroksinitrit merupakan senyawa nitrogen reaktif non radikal yang dapat terbentuk bila NO^* bertemu dengan $\text{O}_2^{\cdot-}$. Senyawa ONOO^- lebih reaktif dan juga lebih destruktif dibandingkan dengan NO^* karena akan cepat mengalami protonasi menjadi ONOOH dan seterusnya dapat mengalami penguraian menjadi NO_2^* dan OH^* yang lebih reaktif (Halliwell, 1999).

(5) O_3 (ozon)

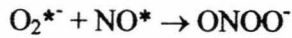
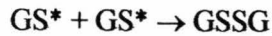
Meskipun secara global ozon merupakan senyawa yang sangat dibutuhkan untuk melindungi bumi dari sinar ultraviolet kosmos, di dalam tubuh ozon merupakan senyawa oksidan yang dapat merusak molekul biologis. Didalam kehidupan sehari-hari ozon banyak banyak berasal dari asap kendaraan bermotor. Ozon dapat merusak molekul biologis secara langsung maupun tidak langsung. Dampak langsung ozon dapat terjadi melalui oksidasi langsung pada molekul biologis atau melalui pembentukan senyawa ozonida dengan senyawa berikatan rangkap. Dampak tidak langsung ozon terjadi karena di dalam air ozon dapat membentuk senyawa reaktif lain seperti hidropersida, radikal superoksida dan hidroksil (Suryohudoyo, 1997; Halliwell, 1999).

2.2.4 Reaksi kimia senyawa radikal

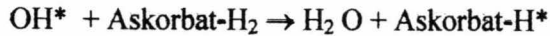
Reaksi kimia antara senyawa radikal dengan molekul lain dapat terjadi melalui berbagai cara (Halliwell, 1999 ; Suryohudoyo, 1993):

(7) Peredaman aktivitas senyawa radikal dapat terjadi melalui beberapa reaksi:

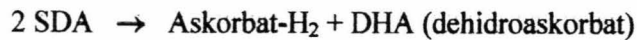
(a) Dua senyawa radikal bereaksi satu sama lain:



(b) Senyawa radikal bertemu dengan antioksidan :



(SDA=semidehidroaskorbat)



2.2.5 Deteksi senyawa radikal

Keberadaan senyawa radikal dapat dideteksi dengan berbagai cara yang dapat digolongkan menjadi dua kategori yaitu cara langsung dan cara tidak langsung.

(1) Cara langsung

Metode yang digunakan secara langsung untuk mendeteksi keberadaan senyawa radikal adalah dengan menggunakan metode electron spin resonance (ESR) atau electron para magnetic resonance (EPR). Prinsip dasar dari cara ini adalah bila elektron tidak berpasangan terpapar medan magnet maka elektron yang bersangkutan akan meluruskan diri secara paralel atau antiparalel dan elektron akan menyerap energi dari medan magnet. Bila kekuatan medan magnet sesuai dengan perbedaan energi antara dua jenjang lintasan elektron maka elektron akan menyerap energi tersebut dan dapat meningkat ke jenjang lintasan yang lebih tinggi dan akan terjadi pembalikan arah putaran sehingga terbentuk spektrum absorpsi (Burrins, 1986; Symons, 1991; Halliwell, 1999). Meskipun metode ini dapat mendeteksi keberadaan senyawa radikal secara

langsung akan tetapi cara ini tidak mudah diterapkan untuk senyawa radikal yang reaktif karena umurnya sangat pendek.

Umur paruh senyawa radikal

OH* : 10^{-9} s	ROO* : 7s
L* : 10^{-8} s	NO* : 3-5s
RO* : 10^{-6} s	O ₂ * ⁻ : variatif

(Thomas, 1995)

(2) Cara tidak langsung

Deteksi keberadaan senyawa radikal secara tidak langsung dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan metode jebakan (*trapping*), histokimia, kemiluminasi, dan sidik jari (*fingerprinting*).

(a) Metode jebakan (*trapping*)

Pada metode jebakan, senyawa radikal direaksikan terlebih dulu dengan senyawa lain untuk membentuk senyawa radikal baru yang lebih stabil kemudian baru dideteksi dengan menggunakan ESR. Contoh bahan yang dapat dipakai sebagai senyawa penjebak (*trapper*) adalah senyawa golongan nitroso seperti DMPO (5,5-dimetilpirolin-N-oksida) dan PBN (α -fenil-tert-butilnitron) serta senyawa aromatik (Halliwell, 1999 ; Stolze, 2000; Dikalov, 2001).

(b) Histokimia

Beberapa jenis bahan dapat menghasilkan senyawa yang mengalami presipitasi bila bertemu dengan senyawa radikal sehingga dapat dideteksi secara mikroskopik. Sebagai contoh adalah reaksi O₂*⁻ dengan garam

tetrazolium dan diaminobenzidin (DBD) + Mn^{2+} (Halliwell, 1999 ; Telek, 1999).

(c) Kemiluminasi

Keberadaan senyawa radikal bersama dengan zat lain dapat menghasilkan senyawa yang dapat mengadakan iluminasi. Dengan mengukur intensitas cahaya yang dihasilkan maka dapat ditentukan besarnya aktivitas senyawa radikal. Contoh zat yang dapat dipakai pada metode ini adalah luminol, lusigenin, folasin dan fenantrolin (Halliwell, 1999 ; Lin, 2001).

(d) Metode sidik jari (*fingerprinting method*)

Pada metode sidik jari pengukuran senyawa radikal dilakukan dengan mengukur kadar senyawa yang dihasilkan oleh reaksi senyawa radikal dengan molekul target seperti lemak, DNA dan protein. Untuk bahan lemak senyawa yang dapat dipakai sebagai petanda adanya reaksi dengan senyawa radikal adalah antara lain etana, pentana, hidroksinonenal, MDA dan isoprostan. Untuk DNA antara lain dapat digunakan hidroksi: adenin, guanin, timin atau sitosin dan glikol: timin atau sitosin, sedangkan untuk protein adalah protein karbonil, dan produk oksidatif dari asam amino seperti orto dan metatirosin untuk fenilalanin, bitirosin dan nitrotirosin untuk tirosin, oksohistidin untuk histidin, kinurenin untuk triptofan, sulfoksid atau sulfon untuk metionin dan glutamat semialdehid untuk arginin dan prolin (Beckman, 1997; Halliwell, 1999 ; William, 2000; Hawkins, 2001).

2.3 Sistem Antioksidan

2.3.1 Konsep antioksidan

Konsep antioksidan merupakan konsep yang longgar dan sering digunakan dengan lingkup pengertian yang sempit. Kadang-kadang antioksidan diartikan hanya sebagai bahan pemutus rantai oksidasi (*chain breaking antioxidants*) atau dalam bidang ilmu bahan makanan diartikan sebagai bahan pencegah peroksidasi lemak. Untuk mendapatkan pengertian yang lebih umum dan luas Halliwell (1999) mengajukan definisi antioksidan: zat yang bila terdapat pada konsentrasi dibawah bahan sasaran oksidasi dapat mencegah atau menghambat proses oksidasi terhadap bahan sasaran tersebut.

2.3.2 Sistem antioksidan

Sistem antioksidan tubuh merupakan sistem yang kompleks dan dapat digolongkan berdasarkan berbagai pendekatan seperti jenis bahan, sifat kelarutan, lokasi, fungsi dan sumber. Berdasarkan jenis bahan dapat digolongkan sebagai antioksidan enzim dan non enzim, berdasarkan sifat kelarutan dapat dibagi menjadi antioksidan hidrofilik dan lipofilik, berdasarkan lokasi dapat dibagi menjadi antioksidan intraseluler, ekstraseluler, sitosol, organel, membran dan ruang khusus, berdasarkan fungsi dapat digolongkan menjadi antioksidan pencegah (menetralisasi atau mencegah reaksi senyawa radikal dengan bahan sasaran), pemutus rantai (menghentikan reaksi senyawa radikal yang sedang berlangsung) dan sistem perbaikan atau pemulih (memperbaiki molekul antioksidan atau molekul tubuh lain yang teroksidasi), sedangkan berdasarkan sumbernya dapat dibagi menjadi antioksidan endogen yaitu yang berasal dari

dalam dan eksogen yaitu yang berasal dari luar tubuh (Harris, 1992; Rose, 1993; Maxwell, 1995; Halliwell, 1999 ; Pawiroharsono, 2001).

2.3.3 Contoh jenis antioksidan:

(1) Enzim *superoksida dismutase* (SOD)

Enzim, terutama intraseluler, ekstraseluler melekat pada endotel pembuluh darah, hidrofilik, endogen maupun eksogen, pencegah. Mengubah radikal superoksida menjadi H_2O_2 .

(2) Katalase

Enzim, intraseluler, hidrofilik, endogen, pencegah. Mengkatalisasi perubahan H_2O_2 menjadi air.

(3) Glutation peroksidase (GPx)

Enzim, intraseluler, hidrofilik, endogen, pencegah. Mengkatalisasi perubahan H_2O_2 menjadi air dengan menggunakan glutation (GSH) sebagai kosubstrat.

(4) Glutation reduktase (GRd)

Enzim, intraseluler, hidrofilik, endogen, perbaikan (pemulihan). Mengkatalisasi pemulihan GSSG menjadi GSH.

(5) Transferin

Non enzim, ekstraseluler, hidrofilik, endogen, pencegah. Mengikat ion Fe^{2+} di plasma.

(6) Feritin

Non enzim, intraseluler, hidrofilik, endogen, pencegah. Mengikat ion Fe^{2+} di sitosol.

(7) Seruloplasmin

Non enzim, ekstraseluler, endogen, pencegah. Mengikat ion Cu^+ di plasma.

(8) Metalotionein

Non enzim, intraseluler, endogen, pencegah. Mengikat berbagai jenis ion logam di sitosol seperti Zn^{2+} , Ag^+ , Cu^+ , Cd^+ dan Hg^{2+} .

(9) Asam urat

Non enzim, intra dan ekstraseluler, hidrofilik, endogen, pencegah. Mudah bereaksi dengan OH^* , ROO^* , O_2 singlet dan peroksinitrit.

(10) Asam askorbat

Non enzim, intra dan ekstraseluler, hidrofilik, pencegah atau pemulih, eksogen. Dapat mereduksi OH^* , RO^* , ROO^* dan tokoferol*.

(11) Tokoferol alfa.

Non enzim, lipofilik (intra membran), eksogen, pemutus rantai reaksi. Karena larut dalam lemak maka tokoferol alfa dianggap sebagai antioksidan peredam utama pada proses peroksidasi lemak.

(12) Karoten beta

Non enzim, lipofilik, eksogen, pencegah. Pengikat oksigen singlet.

(13) Ubiquinol

Non enzim, lipofilik (intra membran), eksogen, pemutus rantai reaksi, perbaikan. Peredam peroksidasi lemak. Dapat memulihkan tokoferol radikal.

(14) Fenol tumbuhan

Non enzim, intra-ekstra seluler, hidrofilik, eksogen, pencegah. Dapat mengikat ion logam dan bereaksi dengan OH^* , ONOO^- dan HOCl .

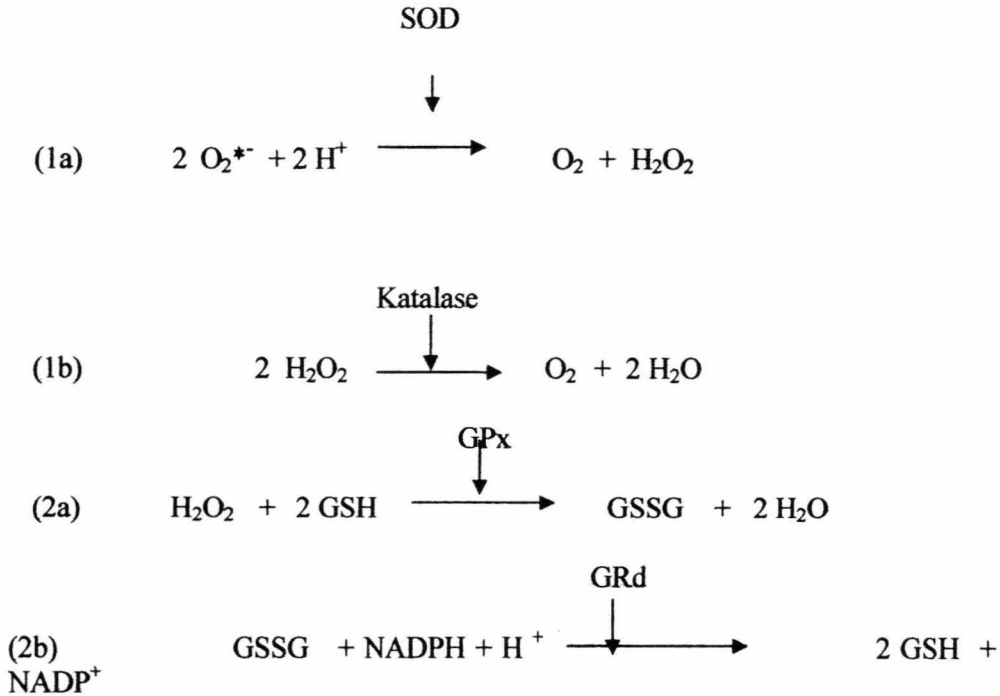
(15) Sistem perbaikan

Meskipun telah terbangun secara luas dan kompleks, jaringan sistem antioksidan yang ada ternyata tidak sepenuhnya dapat menetralkan aktivitas senyawa radikal yang terbentuk. Kenyataan ini dapat dibuktikan dengan masih terdapatnya senyawa hasil bentukan proses stres oksidatif pada keadaan istirahat baik senyawa hasil proses stres oksidatif pada lemak, protein maupun DNA.

Sistem perbaikan berfungsi untuk memperbaiki (memulihkan) atau membuang senyawa produk proses stres oksidatif. Contoh dari sistem ini adalah enzim peroksidase, lecitin kolesterol asiltransferase (LCAT) dan fosfolipase untuk perbaikan molekul lemak, GSH, tioredoksin dan metionin sulfoksida reduktase untuk perbaikan molekul protein, dan nuklease serta polimerase untuk perbaikan molekul DNA (Halliwell, 1999).

2.3.4 Interelasi sistem antioksidan

Agar dapat berfungsi secara efektif sistem antioksidan tidak dapat bekerja secara individual akan tetapi perlu bekerja sama satu sama lain sebagai suatu jaringan (network) dimana aktivitasnya merupakan suatu rangkaian reaksi kimia yang melibatkan berbagai jenis antioksidan. Gangguan pada salah satu mata rantai reaksi dapat menurunkan efektivitas fungsi antioksidan dan dapat menimbulkan keadaan yang kontraproduktif (Halliwell, 1999 ; Nuttal, 1999). Contoh:

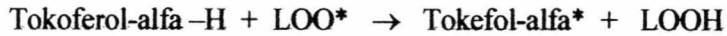


Proses dismutasi radikal superoksida oleh SOD akan menghasilkan H_2O_2 yang harus diurai menjadi H_2O oleh enzim katalase atau glutathion peroksidase. Bila aktivitas SOD dengan katalase atau glutathion peroksidase tidak seimbang maka akan terjadi penumpukan H_2O_2 yang dapat menimbulkan keadaan yang merugikan karena dapat menghambat aktivitas enzim CuZnSOD serta molekul tubuh lain, disamping itu H_2O_2 dapat membentuk radikal hidroksil yang lebih reaktif bila bertemu Fe^{2+} , Cu^+ (reaksi Fenton) atau $\text{O}_2^{\bullet -}$ (reaksi Haber Weiss).

Proses reduksi H_2O_2 oleh glutathion peroksidase akan menghasilkan senyawa GSSG yang seterusnya akan direkonversi menjadi GSH oleh enzim glutathion reduktase dengan menggunakan ko-substrat NADPH. Karena itu kekurangan NADPH dapat mengganggu pemulihan sistem antioksidan yang lain.

Contoh lain adalah tokoferol alfa. Tokoferol alfa yang baru bereaksi menetralkan senyawa radikal akan berubah menjadi alfa-tokoferol radikal. Untuk

proses daur ulang menjadi alfa-tokoferol kembali memerlukan bantuan antioksidan lain yaitu antara lain askorbat (Halliwell, 1999).



Bukti pentingnya interelasi ini juga diperoleh dari percobaan transgenik. Sel yang menjalani transfeksi gen SOD tanpa diikuti dengan peningkatan aktivitas enzim katalase atau glutathion peroksidase lebih rentan terhadap stres oksidatif (Halliwell, 1999).

2.3.5 Sistem antioksidan eritrosit

Eritrosit merupakan sel yang menghadapi risiko tinggi terpapar stres oksidatif (Halliwell, 1999), akan tetapi tidak mempunyai kemampuan regenerasi karena tidak mempunyai inti dan organel yang lain (Ganong, 2001). Ancaman terjadinya stres oksidatif pada eritrosit dapat berasal dari (1) pembentukan ion superoksida oleh hemoglobin, (2) tekanan fisik waktu melalui kapiler dapat merangsang proses peroksidasi lemak membran, (3) senyawa peroksida (HOO^* dan H_2O_2) dapat masuk ke eritrosit dan dapat mengganggu fungsi hemoglobin (Halliwell, 1999).

Untuk menangkal ancaman stres oksidatif tersebut eritrosit mempunyai sistem anti oksidan yang terdiri dari (1) enzim SOD, (2) enzim katalase, (3) enzim glutathion peroksidase, (4) glutathion, (5) sistem enzim jalur pentosa yang menghasilkan NADPH yang dapat mereduksi kembali beberapa antioksidan yang teroksidasi, (6) vitamin C dan tokoferol alfa (Halliwell, 1999 ; Van Duijin, 2000).

2.4 Stres Oksidatif

2.4.1 Konsep stres oksidatif

Bahan-bahan dan reaksi-reaksi kimia yang dapat menimbulkan radikal bebas disebut *prooxidants*. Sebaliknya bahan-bahan dan reaksi-reaksi kimia yang dapat meniadakan radikal bebas disebut *antioxidants*. Dalam keadaan normal terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Stres oksidatif adalah keadaan dimana terdapat peningkatan prooksidan tanpa diimbangi oleh peningkatan antioksidan yang memadai (Widodo dalam Wicaksono, 2001).

Stres oksidatif adalah satu istilah umum yang sering digunakan untuk menentukan tingkat terjadinya kerusakan pada suatu sel atau jaringan. Yang disebabkan oleh jenis oksigen reaktif (*ROS/Reactive Oxygen Species*). Stres oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan produksi antara pro oksidan dan antioksidan (Halliwell & Gutteridge, 1999).

Tidak seimbangnya antara pertahanan antioksidan tubuh dan radikal bebas menyebabkan stres oksidatif. Intensitas dan durasi latihan berpengaruh terhadap tingkat stress oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan terganggunya integritas membran, terjadinya *apoptosis*, tidak bekerjanya enzim dan kerusakan DNA (Niess dkk, 1999). Peristiwa stress oksidatif dapat menimpa molekul biologis tubuh seperti lemak, DNA, protein dan karbohidrat. Bila terjadi secara eksekutif stress oksidatif dapat mengganggu fungsi molekul dan struktur fungsional sel seperti aktivitas enzim, integritas membrane sel maupun organel, reseptor, saluran dan pompa ion (Halliwell, 1999).

Pengukuran stres oksidatif pada manusia dan hewan dapat dilihat pada tabel dibawah ini

Tabel 2.3 Daftar Indikator Stres Oksidatif Pada Manusia dan Hewan

A. Pengukuran Radikal	1. Spin-trapping radikal peroksid dalam darah dengan ESR (<i>Electron Spin Resonance</i>)
	2. Radikal askorbil dalam darah dengan ESR
B. Pengukuran komponen biologis oksidasi	3. Nitrosohemoglobin dalam jaringan dengan ESR
	4. Stimulasi produksi radikal oleh: darah total, PMN, monosit
1. Lipid peroksidasi:	- Penurunan PUFA dalam plasma
	- Conjugated diene dalam plasma
	- aldehid dalam plasma:
	1. TBA reactant substances
	2. Malondialdehyde
	3. 4 hydroxynonenal
	- hexana dan penta
2. Protein oksidasi:	- oksidasi kolesterol dalam plasma
	- LDL dalam plasama
	- reduce thiol grup protein plasma
	- protein karbonil dalam plasma
	- Formil kyrenine dalam IgG
	- Ortho tyrosine dalam plasma protein
3. DNA oksidasi:	- Autoantibodi melawan oksidasi MDA
	- 8-hydroxy deoxy guanosine
	- 5-hidroxyetil uracildalam urine
	- MDA guanine adduct dalam urine
	- Autuantibodi melawan oksidasi MDA
C. Tes dinamik muatan oksidasi:	Oksidasi salisilat menjadi 2,3 dihydroxybensoat.
D. Penghambat oksidasi:	- penutupan/total glutathione
	- tocopherylquinone/tocopherol
	- penurunan dalam askorbat, tocopherol atau carotene dalam plasma
E. Kapasitas plasma total antioksidan atau sel darah merah	

Sumber: (Khataria, 2001)

2.4.2 Pemicu terjadinya stres oksidatif

Stres oksidatif terjadi karena adanya ketidakseimbangan produksi antara prooksidan dan antioksidan (Halliwell, 1999). Adapun beberapa hal yang memicu terjadinya stres oksidatif, antara lain:

1. Kurangnya Produksi Antioksidan

Produksi antioksidan itu berkurang jika adanya mutasi sehingga mempengaruhi pertahanan enzim antioksidan, seperti *cooper-zinc* superoksidan dismutase (CuZnSOD), MnSOD atau *gluthatione peroxidase*. Kekurangan antioksidan dan beberapa senyawa penting seringkali mengakibatkan stres oksidatif.

2. Meningkatkan Jumlah Produksi ROS/RNS (*reactive oxygen species/reactive nitrogen species*)

Meningkatnya akan kebutuhan oksigen, maka sebagai hasil sampingannya diproduksi toksin yang merupakan hasil metabolisme ROS/RNS. Berlebihnya produksi ROS/RNS dari normal (aktivitas fagositosis sel yang tidak biasa karena terjadi karena penyakit peradangan kronis, seperti pada *rheumathoid arthritis* dan *ulcerative colitis*) (Halliwell & Getteridge, 1999). Jika stres oksidatif ini berkelanjutan maka akan mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan.

Ketidak berimbangan antara pertahanan antioksidan tubuh dan radikal bebas menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Durasi dan intensitas latihan berpengaruh pada tingkat stres oksidatif, olahraga yang bersifat akut dan dilakukan individu yang tidak terlatih akan dapat meningkatkan stres oksidatif (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001).

3. Kegagalan memperbaiki kerusakan oksidatif (*failure to repair oxidative damage*)

Terjadinya kerusakan sel disebabkan karena ROS (*reactive oxygen species*). ROS merupakan salahsatu dari radikal bebas yang reaktif anionnya membawa atom oksigen atau molekul yang membawa atom oksigen akan berpotensi menimbulkan radikal bebas (Aldrich, 2008).

2.4.3 Stres oksidatif terhadap lemak

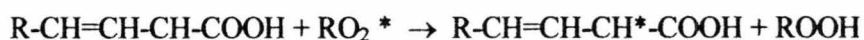
Stres oksidatif pada lemak meliputi berbagai reaksi, menghasilkan berbagai produk dan dapat menimbulkan berbagai dampak terhadap berbagai fungsi biologis (Sies, 1986; Thomas, 1995; Halliwell, 1999 ; Slatter, 2000).

(1) Inisiasi

Molekul lemak terutama lemak tak jenuh merupakan molekul yang rentan terhadap serangan senyawa radikal. Reaksi antara molekul lemak dengan senyawa radikal dapat terjadi melalui abstraksi atom H pada rantai hidrokarbon. Atom H pada atom karbon disebelah ikatan karbon tak jenuh (karbon alilik) merupakan titik lemah yang rentan terhadap serangan senyawa radikal. Kerentanan akan lebih tinggi lagi bila suatu atom karbon diapit oleh dua ikatan karbon tak jenuh (karbon bis alilik).

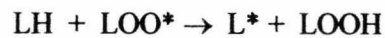
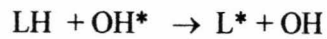
(2) Inisiator

Abstraksi atom H pada atom karbon dapat dilakukan antara lain oleh radikal hidroksil atau peroksil.



(3) Propagasi

Reaksi peroksidasi dapat berlanjut karena senyawa radikal yang terbentuk dapat mengoksidasi molekul lemak lainnya secara beruntun.



(4) Produk peroksidasi

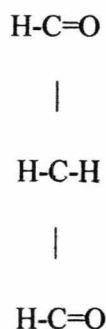
Stres oksidasi pada molekul lemak dapat menghasilkan berbagai jenis senyawa seperti hidroksi nonenal, hidrokarbon (etana, pentana), isoprostan dan malondialdehid (MDA).

Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid merupakan salah satu dari senyawa hasil proses peroksidasi asam lemak dengan lebih dari 2 ikatan tak jenuh seperti asam linolenat, arakidonat dan dokosa heksaenoat. MDA merupakan senyawa aldehid yang reaktif dan dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain seperti protein maupun DNA sehingga dapat mempengaruhi struktur dan fungsi dari molekul protein dan DNA. Reaksi dengan ke dua jenis molekul ini merupakan dampak lanjutan dari peristiwa stres oksidatif pada lemak.

Di dalam jaringan MDA dapat diubah menjadi asam malonat oleh enzim aldehid dehidrogenase kemudian dapat berubah menjadi asetaldehid dan selanjutnya dapat berubah lagi oleh menjadi asetat. Asam malonat dapat bersifat toksis karena antara lain dapat menghambat aktivitas enzim suksinat dehidrogenase.

Struktur molekul MDA



(5) Dampak peroksidasi

Stres oksidatif pada molekul lemak dapat menimbulkan gangguan terhadap komponen sel yang tersusun atas molekul lemak seperti membran: sel, mitokondria dan organel lain. Di samping dapat menimbulkan gangguan pada molekul lemak, pada proses propagasi juga dapat timbul gangguan pada molekul protein yang terdapat disela-sela molekul lemak.

Dampak lanjutan dari proses peroksidasi lemak dapat terjadi melalui ikatan silang antara produk peroksidasi dengan molekul lain seperti protein dan DNA.

(6) Sistem perbaikan (repair)

Untuk menangkal atau meminimalisasi dampak negatif proses oksidatif pada lemak, tubuh dilengkapi dengan sistem perbaikan atau pemulih .

Peroksida yang terjadi pada membran sel dapat dikonversi menjadi alkohol oleh enzim fosfolipid hidroperoksida glutation peroksidase. Kemungkinan lain hidroperoksida dapat dipotong oleh enzim fosfolipase. Peroksida pada kolesterol dapat diubah menjadi alkohol oleh enzim lesitin kolesterol asil transferase (LCAT).

2.4.4 Stres oksidatif terhadap protein

Seperti yang terjadi pada molekul lemak, peristiwa stres oksidatif terhadap protein berlangsung melalui berbagai tahapan reaksi, menghasilkan berbagai jenis dan dapat mempengaruhi berbagai fungsi biologis.

(1) Inisiasi

Peristiwa stres oksidatif pada protein dapat terjadi oleh serangan langsung senyawa radikal atau oksidan lain pada gugus hidrokarbon rantai peptida atau asam amino, atau terimbas oleh proses propagasi peroksidasi lemak. Reaksi dengan ROS atau RNS dapat merupakan abstraksi atom H, hidroksilasi, nitrasi atau klorinasi. Gugusan sulfhidril (SH) dan bentuk cincin dari rantai hidrokarbon merupakan bentuk yang lebih mudah mengalami oksidasi dibanding dengan bentuk rantai linier. Jenis senyawa radikal atau oksidan lain yang diketahui dapat menimbulkan stres oksidatif pada protein adalah antara lain OH^* , RNS dan HOCl (Halliwell, 1999 ; Hawkins, 2001).

(2) Produk stres oksidatif

Stres oksidatif pada protein menghasilkan berbagai senyawa karbonil, peroksida, dan senyawa spesifik untuk masing-jenis asam amino (Tamarit, 1998; Halliwell, 1999 ; Leeuwenburgh, 1999-a; Cabisco, 2000; Hawkins, 2001).

(3) Modulator

Sebagian protein terutama yang mengandung histidin dapat mengikat ion Fe dan Cu. Ion logam ini dapat membentuk senyawa radikal hidroksil bila bertemu dengan H_2O_2 . Contoh dari protein yang mengandung histidin adalah albumin dan apoprotein (Halliwell, 1999).

(3) Propagasi

Stres oksidatif pada protein dapat menyebar karena elektron dapat berpindah dari satu jenis asam amino ke asam amino yang lain. Sebagai contoh adalah metionin radikal dapat mengoksidasi triptofan, sedangkan triptofan radikal dapat mengoksidasi tirosin (Halliwell, 1999 ; Hawkins, 2001).

(4) Dampak

Dampak peristiwa stres oksidatif pada protein terhadap fungsi biologis sel dapat bersifat sangat luas dan dapat terjadi secara primer maupun sekunder. Dampak primer terjadi sebagai akibat gangguan langsung dari kerusakan protein fungsional tubuh seperti enzim, reseptor, sistem transport ion dan sitoskeleton. Enzim yang dapat terganggu fungsinya sebagai akibat dari peristiwa stres oksidatif adalah antara lain, akonitase, piruvat dehidrogenase, gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase (Janero, 1996; Grune, 1998), sedangkan protein atau peptida fungsional lain yang dapat terganggu adalah antara lain sitokrom-c (Cassinat, 2000) dan kalmodulin (Halliwell, 1999). Reseptor yang dapat terganggu antara lain adalah reseptor adrenergik (Halliwell, 1999) dan reseptor faktor pertumbuhan epidermal (de Wit, 2000), sedangkan sistem transport ion yang dapat terganggu adalah transport ion kalsium dan kalium (Favero, 1998; Halliwell, 1999).

Dampak sekunder peristiwa stres oksidatif pada protein adalah antara lain terjadinya perubahan sifat protein misalnya: protein teroksidasi dapat bersifat antigenik (Halliwell, 1999) serta lebih mudah atau lebih sukar didegradasi (Halliwell, 1999) gangguan fungsi enzim dapat mengganggu proses metabolisme dan pembentukan ATP serta menghambat proses perbaikan

molekul teroksidasi, sedangkan kerusakan protein sitokeleton dapat mengganggu integritas membran sel (Halliwell, 1999). Stres oksidatif pada apoprotein kolesterol dapat menyebabkan molekul tersebut dikenali oleh reseptor "scavenger" dan dapat memicu terjadinya proses aterosklerosis (Halliwell, 1999).

(5) Sistem perbaikan

Oksidasi pada gugusan SH umumnya masih dapat diperbaiki sedangkan oksidasi pada gugusan lain umumnya bersifat ireversibel. Reduksi gugusan SH yang teroksidasi dapat dilakukan antara lain oleh glutation dan tioredoksin (Halliwell, 1999).

2.4.5 Stres oksidatif terhadap DNA

Stres oksidatif terhadap DNA meliputi berbagai reaksi, produk dan dampak (Beckman, 1997; Halliwell, 1999 ; William, 2000).

(1) Inisiasi

Peristiwa stres oksidatif pada DNA dapat terjadi secara langsung (akibat serangan langsung oleh senyawa ROS atau RNS) maupun tidak langsung akibat reaksi dengan produk peroksidasi lemak dan hiperaktivitas enzim pemecah DNA. Reaksi dengan ROS bisa terjadi pada molekul basa, gula maupun pada nukleoprotein.

(2) Reaksi

Radikal OH* dapat mengadakan adisi pada basa guanin dan adenin serta abstraksi atom H pada basa timin dan sitosin. Radikal OH* juga dapat memecah molekul deoksiribose. Semua posisi karbon pada molekul deoksiribose rentan terhadap serangan OH*. RNS dapat menimbulkan nitrasi

pada molekul basa, sedangkan ipoklorit (HOCL) dapat merusak antara lain melalui reaksi klorinasi.

(3) Modulator

DNA dapat mengikat ion Fe^{2+} maupun Cu^+ . Bila bertemu dengan H_2O_2 ion logam ini dapat membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif sehingga dapat merusak DNA. Kerentanan DNA terhadap serangan ROS atau RNS tidak merata. Bagian internukleosomal lebih mudah terserang dibandingkan dengan bagian nukleosomal.

(4) Kerusakan DNA secara tidak langsung

Kerusakan DNA secara tidak langsung akibat peristiwa stres oksidatif dapat terjadi antara lain sebagai akibat kenaikan kadar kalsium sitosol dan stres oksidatif pada nukleoprotein serta ikatan dengan senyawa hasil peroksidasi lemak. Kenaikan kadar kalsium pada sitosol dapat mengaktifasi enzim endonuklease sehingga pemecahan DNA meningkat. Protein radikal yang terbentuk akibat peristiwa stres oksidatif pada nukleoprotein dapat mengadakan ikatan silang dengan radikal basa yang dapat mengganggu fungsi replikasi, transkripsi maupun perbaikan. Senyawa hasil peroksidasi lemak dapat merusak struktur DNA melalui ikatan silang dengan DNA.

(5) Produk stres oksidatif pada DNA

Stres oksidatif pada molekul basa dapat menghasilkan berbagai jenis senyawa seperti 8-OH-deoksiganosin, timin glikol, hidroksitimin, hidroksimetilhidantoin, hidroksimetil urasil, sitosin glikol dan hidroksisitosin. Stres oksidatif pada molekul gula dapat menghasilkan senyawa karbonil.

(6) Dampak

Pengaruh peristiwa stres oksidatif terhadap fungsi DNA dapat terjadi secara langsung sebagai akibat dari kerusakan molekul DNA maupun secara tidak langsung misalnya akibat meningkatnya aktivitas enzim pemecah maupun perbaikan DNA.

Kerusakan molekul DNA dapat menyebabkan gangguan fungsi replikasi dan transkripsi. Bila jumlah DNA yang rusak sangat banyak maka akan terjadi aktivitas yang tinggi dari enzim perbaikan DNA antara lain enzim poli-ADP-ribose-polimerase (PARP). Enzim ini menggunakan NAD^+ untuk memperbaiki DNA. Aktivitas yang sangat tinggi dari enzim ini dapat menguras cadangan NAD^+ tubuh yang juga diperlukan untuk proses pembentukan ATP sehingga pembuatan ATP dapat terganggu atau terhenti. Gangguan proses pembentukan ATP dapat mengganggu fungsi dan bahkan kematian sel (Halliwell, 1999, hlm 250).

2.4.6 Stres oksidatif terhadap antioksidan

Peristiwa stres oksidatif dapat juga menimpa molekul antioksidan. Sistem antioksidan umumnya merupakan suatu sistem reaksi berantai dimana antioksidan yang bereaksi dengan senyawa ROS atau RNS akan mengalami daur ulang. Bila terjadi peristiwa stres oksidatif yang tinggi maka proses daur ulang dapat terganggu sehingga akan terjadi penurunan pada kapasitas sistem antioksidan.

Bila O_2^* tidak ternetralisasi secara sempurna, senyawa radikal ini dapat menghambat aktivitas beberapa enzim seperti glutathion peroksidase dan katalase

(Halliwell, 1999). H_2O_2 dapat menghambat aktivitas CuZnSOD (Halliwell, 1999) dan peroksinitrit dapat menghambat aktivitas MnSOD (Quijano, 2001).

2.4.7 Dampak stres oksidatif terhadap fungsi sel

Stres oksidatif yang terjadi pada molekul biologis dapat menimbulkan gangguan pada fungsi biologis sel melalui gangguan pada berbagai komponen sel seperti reseptor, pompa ion, enzim, membran sel dan mitokondria.

(1) Gangguan fungsi reseptor

Struktur reseptor mengandung komponen protein yang dapat mengalami stres oksidatif sehingga dapat mengganggu fungsinya. Reseptor yang diketahui dapat terganggu oleh peristiwa stres oksidatif adalah reseptor adrenergik (Halliwell, 1999) dan faktor pertumbuhan epidermis (de Wit, 2000).

(2) Gangguan pompa ion

Stres oksidatif pada protein penyusun pompa ion dapat menghambat fungsi dari pompa tersebut. Sebagai contoh adalah pompa kalsium pada retikulum endoplasmik. Protein pada pompa ini mengandung gugus SH yang rentan terhadap stres oksidatif. Gangguan fungsi pompa kalsium pada organel ini dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi kalsium sitosol yang dapat menyebabkan dampak lanjutan antara lain melalui aktivasi dari banyak jenis enzim (Liu, 1998; Halliwell, 1999). Sistem transport ion lain yang juga dapat diganggu oleh proses stres oksidatif adalah pompa natrium-kalium (Favero, 1998; Kourie, 1998). Seperti pada pompa kalsium, pompa natrium-kalium juga mengandung gugus SH yang rentan terhadap proses stres oksidatif. Gangguan pada pompa ini antara lain dapat mengakibatkan gangguan

keseimbangan ion dan listrik sel sehingga dapat menyebabkan gangguan terhadap banyak fungsi dan kematian sel (Halliwell, 1999).

(3) Gangguan fungsi enzim

Enzim yang strukturnya mengandung komponen protein merupakan senyawa yang rentan terhadap peristiwa stres oksidatif. Gangguan fungsi enzim dapat berupa hambatan maupun hiperaktivasi.

Hambatan fungsi enzim terjadi apabila senyawa radikal atau oksidan lain merusak struktur dari enzim tersebut. Contoh enzim yang terhambat oleh aktivitas senyawa radikal dan oksidan lain adalah enzim glikolisis, siklus asam sitrat dan anti elastase (Janero, 1996; Grune, 1998; Halliwell, 1999; Dabbeni-Sala, 2001).

Hiperaktivitas enzim dapat terjadi sebagai akibat dari kenaikan konsentrasi kalsium di sitosol (Favero, 1998; Liu, 1998; Halliwell, 1999).

Contoh enzim yang mengalami hiperaktivasi adalah calpain, nitrik oksida sintase (NOS) dan fosfolipase-A2 (PLA2).

Calpain merupakan enzim protease yang dapat memecah protein pengikat aktin yang berperan mempertahankan kerangka membran sel. Hiperaktivitas dari enzim ini dapat merusak kerangka membran dan terjadi penggelembungan membran sel (blebbing). Calpain juga diketahui dapat mengubah xanthin dehidrogenase menjadi xanthin oksidase.

NOS merupakan enzim yang teraktivasi oleh ion kalsium. Peningkatan ekksesif ion kalsium sitosol dapat menimbulkan hiperaktivitas NOS sehingga produksi NO^* meningkat. Peningkatan produksi NO^* mempermudah terbentuknya ONOO^- yang dapat merusak protein.

(4) Stres oksidatif pada mitokondria

Mitokondria dapat mengalami gangguan akibat peristiwa stres oksidatif. Salah satu gangguan yang dapat terjadi adalah terjadinya kebocoran membran dalam. Untuk dapat berlangsungnya fungsi biologis mitokondria yang normal, diperlukan kondisi membran dalam yang utuh karena keadaan ini diperlukan untuk mempertahankan gradien osmolalitas dan ion. Kebocoran membran dalam mitokondria dapat menyebabkan hilangnya gaya dorong proton (*proton-motive-force*) yang esensial untuk pembentukan ATP sehingga akan mengganggu proses sintesis ATP. Gangguan lain yang dapat terjadi adalah gangguan pada fungsi sitokrom-c (Kowaltowski, 1996; Halliwell, 1999 ; Cassinat, 2000).

(5) Pengelembungan sel (*cell blebbing*)

Pada uraian tentang peristiwa stres oksidatif pada protein telah disebutkan bahwa kerusakan akibat stres oksidatif pada protein yang berperan sebagai kerangka membran sel dapat merusak konsistensi membran dan menyebabkan sel menggelembung (*blebbing*) bahkan dapat mengalami ruptur (Halliwell, 1999 ; Van Gorp, 1999).

(6) Kematian sel

Stres oksidatif pada sel bukan saja dapat mengganggu fungsi akan tetapi juga dapat menimbulkan kematian sel baik melalui proses nekrosis atau apoptosis (Liu, 1998; Halliwell, 1999 ; Rauen, 1999).

2.4.8 Modulator stres oksidatif

Stres oksidatif dapat dipengaruhi oleh berbagai keadaan atau aktivitas hidup seperti aktivitas tidur (Barcelo, 2000), makanan (Halliwell, 1999, hlm 411),

merokok (Yako, 2001), minum alkohol (Meagher, 1999), minum obat-obatan (Roy, 2000; Carvalho, 2001) dan latihan olahraga.

2.5 Stres Oksidatif Pada Latihan Olahraga

2.5.1 Pembentukan senyawa radikal pada latihan olahraga

Terjadinya pembentukan senyawa radikal pada latihan olahraga dilaporkan antara lain oleh Ashton (1999) dan Clanton (1999).

2.5.2 Stres oksidatif pada latihan olahraga

Terjadinya peristiwa stres oksidatif pada latihan olahraga telah dilaporkan oleh banyak peneliti dan dapat mengenai molekul lemak, DNA dan protein.

Terjadinya stres oksidatif pada molekul lemak pada latihan olahraga dapat dideteksi melalui peningkatan pembentukan gas pentana (Kanter, 1993), malondialdehid (MDA) darah (Sen, 1995; Ashton, 1999; Heunks, 1999) maupun jaringan (Azenabor, 1999; Liu, 2000).

Peristiwa stres oksidatif pada DNA akibat latihan olahraga dilaporkan antara lain oleh Niess (1998), Baskin (2000) dan Radak (2000).

Terjadinya stres oksidatif pada protein akibat latihan olahraga dilaporkan antara lain oleh Sen (1995), Leeuwenburgh (1999-b) dan Radak (1998). Terjadinya stres oksidatif pada sistem antioksidan enzim pada latihan olahraga juga dapat dianggap sebagai peristiwa stres oksidatif pada protein .

Terjadinya stres oksidatif pada sistem antioksidan antara lain dapat dilihat dari kenaikan rasio GSSG/GSH serta penurunan aktivitas antioksidan enzim seperti SOD dan katalase. Kenaikan rasio GSSG/GSH pada latihan olahraga dilaporkan antara lain oleh Sastre (1992) dan Gambelunghe (2001), sedangkan

penurunan aktivitas antioksidan enzim dilaporkan oleh Surmen-Gur (1999) dan Patellongi (1999).

2.5.3 Pengaruh komponen latihan olahraga terhadap stres oksidatif

Stres oksidatif yang terjadi pada latihan olahraga dipengaruhi oleh berbagai aspek atau komponen dari latihan olahraga yaitu intensitas, durasi, dan modus. Pengaruh intensitas latihan olahraga terhadap derajat stres oksidatif dilaporkan antara lain oleh Patellongi (1999) dan Gambelunghe (2001) sedangkan pengaruh durasi oleh Venditti (1999) dan Harjanto (2001). Pengaruh modus dilaporkan antara lain oleh Ortenblad (1997).

2.5.4 Sumber dan modulator pembentukan senyawa oksidan pada latihan olahraga

Proses pembentukan senyawa oksidan dan terjadinya stres oksidatif pada latihan olahraga diduga merupakan proses yang kompleks dan dapat berasal dari berbagai jenis

reaksi kimia, organel maupun sel dan bahkan dapat berasal dari luar tubuh.

Sampai saat ini sumber dan modulator pembentukan senyawa oksidan pada latihan olahraga belum diketahui dengan jelas. Terdapat berbagai proses biologis yang diduga dapat menjadi sumber atau modulator pembentukan senyawa oksidan.

(1) Peningkatan konsumsi O_2

Pada latihan olahraga konsumsi oksigen tubuh dapat meningkat sampai beberapa kali konsumsi waktu istirahat (Wilmore, 1994 ; Clanton,1999).

Meningkatnya konsumsi oksigen dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan melalui berbagai proses.

(a) Reduksi univalen hemoglobin

Hemoglobin berfungsi antara lain untuk mengangkut O_2 melalui ikatan $Hb-Fe^{2+}-O_2$ (Halliwell, 1999). Kurang lebih 99 % O_2 diangkut melalui hemoglobin (Ganong, 2000 ; Guyton, 1996). Di jaringan, O_2 akan dilepaskan melalui reaksi $Hb-Fe^{2+}-O_2 \rightarrow Hb-Fe^{2+} + O_2$. Reaksi ini ternyata tidak sepenuhnya berlangsung sempurna karena sebagian (kurang lebih 1-3%) akan dilepaskan sebagai ion superoksida radikal melalui reaksi $Hb-Fe^{2+}-O_2 \rightarrow Hb-Fe^{3+} + O_2^{\bullet -}$ (Halliwell, 1999 ; Jensen, 2001).

Secara matematis bila jumlah oksigen yang diangkut meningkat maka peluang terbentuknya radikal superoksida juga meningkat.

(b) Mitokondria

Sebagian besar (85 %) oksigen yang dikonsumsi oleh tubuh digunakan pada proses fosforilasi oksidatif untuk pembentukan ATP di mitokondria. Pada proses fosforilasi oksidatif oksigen berperan sebagai molekul penerima elektron terakhir dan terbentuk air. Pada proses ini oksigen mengalami reduksi tetravalen oleh sitokrom-c (Lodish, 1995). Seperti halnya pada hemoglobin, sistem transportasi elektron pada mitokondria tidak sepenuhnya berjalan sempurna. Pada proses ini sebagian oksigen (1-3 %) dapat mengalami reduksi univalen sehingga terbentuk ion superoksida radikal yang seterusnya diubah oleh enzim superoksida dismutase menjadi H_2O_2 (Halliwell, 1999 ; Clanton, 1999). Pada latihan olahraga mitokondria diduga merupakan salah satu sumber terjadinya

peningkatan pembentukan senyawa oksidan (Ji, 1999). Kenaikan produksi senyawa oksidan di mitokondria pada latihan olahraga diduga antara lain disebabkan oleh peningkatan konsumsi oksigen dan suhu tubuh (Sjodin, 1990; Ji, 1996; Clanton, 1999).

(2). Peningkatan suhu tubuh

Pada latihan olahraga suhu tubuh dapat meningkat. Kenaikan suhu tubuh dapat meningkatkan pembentukan senyawa radikal melalui berbagai proses.

(a) Peningkatan metabolisme

Peningkatan suhu tubuh akan meningkatkan aktivitas metabolisme dengan besaran 12 % untuk tiap kenaikan 1° C (Guyton, 1996). Kenaikan metabolisme antara lain akan meningkatkan konsumsi oksigen dan kenaikan konsumsi oksigen akan meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(b) Perubahan konsistensi lemak

Kenaikan suhu tubuh juga dapat menyebabkan konsistensi lemak berubah menjadi lebih cair termasuk lemak pada membran mitokondria. Lebih cairnya konsistensi lemak mitokondria akan meningkatkan mobilitas molekul semiquinon di dalam membran mitokondria sehingga memudahkan kontak dengan molekul oksigen (Sjodin, 1990). Keadaan ini memperbesar peluang terjadinya reduksi univalen oksigen oleh semiquinon sehingga memperbesar peluang terbentuknya radikal superoksida.

(c) Penguapan dan keringat

Kenaikan suhu tubuh akan meningkatkan penguapan dan pembentukan keringat sehingga dapat menurunkan volume cair tubuh. Penurunan volume cair tubuh dapat menimbulkan keadaan hipohidrasi. Hipohidrasi dapat menurunkan perfusi seperti pada iskemia. Pada proses pemulihan dapat terjadi reperfusi sehingga terjadi keadaan seperti iskemia reperfusi yang dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan (Halliwell, 1999 ; Suryohudoyo, 1999).

(3) Peningkatan aktivitas peroksisom

Sebagaimana diketahui peroksisom merupakan organel yang antara lain berfungsi memecah asam lemak rantai panjang menjadi asam lemak rantai lebih pendek yang seterusnya dapat dipecah oleh mitokondria. Pemecahan lemak di dalam peroksisom juga berlangsung dengan menggunakan molekul oksigen sebagai penerima elektron akan tetapi tidak berpasangan dengan proses fosforilasi oksidatif sehingga tidak menghasilkan ATP akan tetapi menghasilkan H_2O_2 (Lodish, 1995). Belum diketahui dengan jelas apakah pada peroksisom mamalia dapat terbentuk senyawa radikal, akan tetapi peroksisom tumbuhan diketahui dapat membentuknya (Corpas, 2001). Disamping bersifat sebagai oksidan, H_2O_2 dapat membentuk radikal hidroksil bila bertemu dengan radikal superoksida (reaksi Haber Weiss) atau ion Fe^{2+} maupun Cu^+ (reaksi Fenton). Pada latihan olahraga aerobik penggunaan lemak sebagai sumber energi dapat meningkat dan hal ini dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan pada peroksisom.

(4) Kenaikan Ca^{++} sitosol

Latihan olahraga diketahui dapat menyebabkan kenaikan kadar kalsium intraseluler (Netherly, 1999). Kenaikan kadar kalsium dapat meningkatkan aktivitas berbagai enzim seperti xanthin oksidase, fosfolipase A_2 dan NO sintase (Halliwell, 1999). Peningkatan aktivitas tersebut enzim dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(5) Mobilisasi dan aktivasi leukosit

Pada latihan olahraga leukosit diduga merupakan salah satu sumber senyawa radikal.

Pada latihan olahraga angka hitung leukosit dapat meningkat (Cannon, 1996; Mitchell, 1998; Pedersen, 2000-a). Pada latihan olahraga kemampuan leukosit khususnya neutrofil dalam membentuk senyawa oksidan juga meningkat (Oh-Ishi, 1997; Korhonen, 2000; Yamada, 2000). Peningkatan mobilisasi dan aktivasi leukosit berpotensi meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(6) Keradangan

Pada latihan olahraga dapat terjadi jejas mikro yang menimbulkan peradangan. Proses peradangan diduga menjadi salah satu penyebab terjadinya peningkatan produksi senyawa oksidan (Evans, 2000; Ji, 1999).

(7) Penurunan pH

Pada latihan olahraga khususnya pada intensitas berat dapat terjadi penurunan pH darah atau jaringan (Janssen, 1989; Fox, 1993). Penurunan pH dapat meningkatkan aktivitas senyawa radikal.

Ion H^+ dapat bereaksi dengan radikal superoksida dan membentuk senyawa hidroperoksil HOO^* (Demopoulos, 1984; Halliwell, 1999). Berbeda dengan

radikal superoksida yang sulit memicu peroksidasi dan sulit menembus membran sel (kecuali membran eritrosit), hidroperoksida radikal dapat menginisiasi terjadinya reaksi peroksidasi lemak. Disamping itu karena bermuatan netral molekul ini lebih mudah menembus membran sehingga dapat tersebar dan menimbulkan dampak yang lebih luas (Halliwell, 1999).

(8) Pergeseran sirkulasi darah

Pada latihan olahraga dapat terjadi pergeseran distribusi aliran darah. Beberapa organ seperti liver, usus, ginjal dan organ abdomen lain dapat mengalami penurunan aliran darah (Lamb, 1984 ; Gisovi, 2000). Pada waktu pasca latihan akan terjadi pemulihan aliran darah sehingga terjadi kondisi seperti pada peristiwa jejas iskemia-reperfusi yang dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(9) Hipohidrasi

Pada latihan olahraga terjadi peningkatan pembuangan cair tubuh (Lamb, 1984 ; Fox, 1993). Menurunnya volume cair tubuh dapat menyebabkan terjadinya penurunan perfusi jaringan. Pada pasca latihan akan terjadi pemulihan volume cair tubuh dan pemulihan perfusi sehingga menimbulkan keadaan seperti pada iskemia-reperfusi (Halliwell, 1999 ; Suryohudoyo, 1999).

(10) Peningkatan ventilasi

Bahan polutan udara dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan tubuh dan stres oksidatif (Suryohudoyo, 1997; Halliwell, 1999 ; Prahalad AK, 2001).

Pada latihan olahraga terjadi peningkatan ventilasi pernapasan (Fox, 1998, Wilmore, 1994). Meningkatnya ventilasi dapat meningkatkan inhalasi bahan

polutan yang seterusnya dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan dan stres oksidatif.

(11) Peningkatan sekresi adrenalin

Pada latihan olahraga sekresi hormon adrenalin meningkat (Viru, 1985; Kjaer, 1996; Stich, 2000). Peningkatan sekresi hormon ini dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan melalui berbagai proses.

(a) Peningkatan metabolisme

Adrenalin dapat meningkatkan laju metabolisme melalui aktivasi reseptor beta-2 dan peningkatan aktivitas jantung (Guyton, 1996 ; Ganong, 2001).

(b) Peningkatan lipolisis

Adrenalin akan meningkatkan lipolisis melalui aktivasi enzim lipase (Guyton, 1996 ; Ganong, 2001). Peningkatan lipolisis dapat meningkatkan aktivitas peroksisom dan peningkatan aktivitas peroksisom dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(c) Autooksidasi

Adrenalin mengandung gugusan difenol. Gugusan ini merupakan senyawa yang mudah mengalami oksidasi (Demopoulos, 1985; Halliwell, 1999).

(d) Mobilisasi dan aktivasi leukosit

Adrenalin dapat meningkatkan mobilisasi (Damayanti, 2000) dan aktivasi leukosit. (Pedersen, 2000-a) sehingga dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan.

(12) Peningkatan sekresi sitokin

Latihan olahraga diketahui dapat meningkatkan sekresi dari beberapa jenis sitokin pro peradangan, antara lain interleukin (IL)-1, IL-6 dan TNF- α

(Ostrowski, 1999, Pedersen-2000a). Kenaikan sekresi sitokin pro peradangan dapat meningkatkan kemampuan leukosit untuk membentuk senyawa oksidan (Oh-Ishi, 1997).

(13) Berat badan

Berat badan dapat mempengaruhi konsumsi oksigen sehingga secara tidak langsung berpotensi mempengaruhi pembentukan senyawa oksidan pada latihan olahraga.

(14) Umur

Umur berpotensi mempengaruhi derajat stres oksidatif yang terjadi pada latihan olahraga. Terjadinya peningkatan stres oksidatif karena pengaruh umur pada latihan olahraga antara lain dilaporkan oleh Bejma (1999) dan Ji (2001). Faktor yang menjadi penyebab terjadinya peningkatan ini belum terlalu jelas akan tetapi diduga disebabkan antara lain oleh meningkatnya kebocoran elektron pada sistem redoks sel (Ji, 2001) dan terjadinya defisit sistem antioksidan (Wijaya, 1997; Beckman, 1998).

(15) Kadar glukosa darah

Glukosa darah diketahui dapat menghambat sekresi adrenalin (Virus, 1985; Pedersen, 2000-a), menghambat sekresi sitokin pro-peradangan (Nehlsen, 1997) serta mobilisasi dan aktivasi leukosit pada latihan olahraga (Nieman, 1998; Mitchell, 1998), sehingga kadar glukosa darah berpotensi mempengaruhi pembentukan senyawa radikal dan oksidan lain.

(16) Kolesterol darah

Lemak tak jenuh merupakan molekul yang mudah mengalami stres oksidatif (Suryohudoyo, 1993; Halliwell, 1999). Di dalam darah kolesterol merupakan

senyawa ester yang mengandung molekul lemak tak jenuh sehingga berpotensi mengalami stres oksidatif pada latihan olahraga.

(17) Intensitas latihan

Intensitas latihan dapat mempengaruhi banyak jenis fungsi biologis antara lain dapat meningkatkan aktivitas metabolisme dan konsumsi oksigen (Wilmore, 1994), sekresi hormon seperti adrenalin (Kjaer, 1996) dan mobilisasi serta aktivasi leukosit (Pedersen, 2000-a). Keadaan tersebut berpotensi meningkatkan senyawa oksidan dan stres oksidatif.

2.6 Pengukuran Derajat Stres Oksidatif

Indikator yang digunakan untuk mengukur suatu keadaan yang disebut dengan stres oksidatif adalah dengan mengukur oksidan dan antioksidan. Dalam penelitian ini parameter yang digunakan untuk mengukur oksidan dalam tubuh adalah kadar MDA plasma, sedangkan untuk mengukur antioksidan menggunakan aktivitas enzim SOD eritrosit.

2.6.1 Pengukuran kadar MDA plasma

Uji TBARS (*Thiobarbituric Acid reactive Substance*) atau uji TBA dari Uchiyama & Mihara (dalam Patellongi, 1999). Prinsip dari metode ini adalah akibat pengaruh panas dan asam akan menyebabkan dekomposisi lipid peroksida membentuk MDA (*malondialdehyde*). Sejumlah kecil MDA diproduksi selama peroksidasi dan dapat bereaksi dengan TBA menghasilkan produk berwarna. Keuntungannya adalah MDA yang diukur dalam uji TBA menghasilkan kromogen berwarna merah muda yang selanjutnya diukur pada panjang gelombang 532 nm

atau *fluorescen* 553 nm. Selama tes TBA bereaksi dengan sebagian besar aldehid yang merupakan turunan dari peroksida asam lemak tidak jenuh (Rohman, 2001).

2.6.2 Pengukuran SOD pada Eritrosit

Superoksidan Dismutase (SOD) merupakan salah satu parameter yang dapat digunakan untuk menilai adanya oksigen reaktif secara tidak berlangsung. SOD merupakan enzim antioksidan yang berguna untuk pertahanan terhadap senyawa oksigen reaktif, ada 2 jenis SOD yaitu SOD intraseluler (CuZnSOD) dan (MnSOD) dan ekstraseluler. Pemeriksaan SOD dilakukan dengan mengukur SOD pada eritrosit sehingga dapat diasumsikan SOD yang diperiksa adalah SOD intraseluler (FKUI, 2001).

Aktivitas SOD (U/mL) dan GPX ($\mu\text{mol/L}$ NADPH per minute per milimeter) da dalam plasma, diukur dengan model L'Abbé dan Fisher, sedangkan untuk mengukur aktivitas SOD pada eritrosit, terlebih dahulu RBC akan dihemolisis dengan air destilasi dingin, dan diekstrak menggunakan ethanol/cloroform dengan perbandingan 1 : 1 (FKUI, 2001).

2.7 Respon Fisiologi terhadap Polutan

Pencemaran udara adalah kehadiran satu atau lebih substansi fisik, kimia, atau biologi di atmosfer dalam jumlah yang dapat membahayakan kesehatan manusia, hewan, dan tumbuhan, mengganggu estetika dan kenyamanan, atau merusak properti.

Pencemaran udara dapat ditimbulkan oleh sumber-sumber alami maupun kegiatan manusia. Beberapa definisi gangguan fisik seperti polusi suara, panas, radiasi atau polusi cahaya dianggap sebagai polusi udara. Sifat alami udara mengakibatkan dampak pencemaran udara dapat bersifat langsung dan lokal, regional, maupun global.

Respon – respon fisiologik terhadap polutan juga akan mempengaruhi penampilan olahraga. Konsumsi oksigen maksimal berkurang signifikan (4 – 5 %) bila kandungan karboxihemoglobin melebihi 5 % , dan mulai titik ini penurunan konsumsi O₂ maksimal terjadi secara linier (Horvart 1982). Pengaruh yang merugikan dari karbonmonoksida dapat dirasakan dalam 1 -2 jam berada dalam kota padat lalu lintas serta mengandung asap. Hal ini tidak hanya menurunkan penampilan daya tahan secara signifikan, tetapi juga merusak ketajaman penglihatan dan fungsi mental pada beberapa cabang olahraga, dan dapat menyebabkan kesalahan penilaian. Karbonmonoksida juga dapat menyebabkan stres pada atlet karena terjadinya sakit kepala, terutama dalam udara yang panas.

Polusi udara luar diakibatkan karena ada beberapa kandungan polutan yang biasanya memang ada dalam udara luar, namun dengan kadar yang jauh lebih tinggi. Bisa juga polusi disebabkan adanya berbagai polutan baru yang sebelumnya tidak ada. Sumber-sumber polutan ialah industri, kendaraan dan bencana alam 98% dari semua polutan udara berupa CO, SO₂, berbagai gas hidrokarbon dan apa yang disebut *particulate matter* (PM).

Polusi udara dalam rumah dan kantor dapat berasal dari polusi udara diluar rumah (yang masuk melalui jendela, lubang angin, dan sebagainya), tetapi dapat

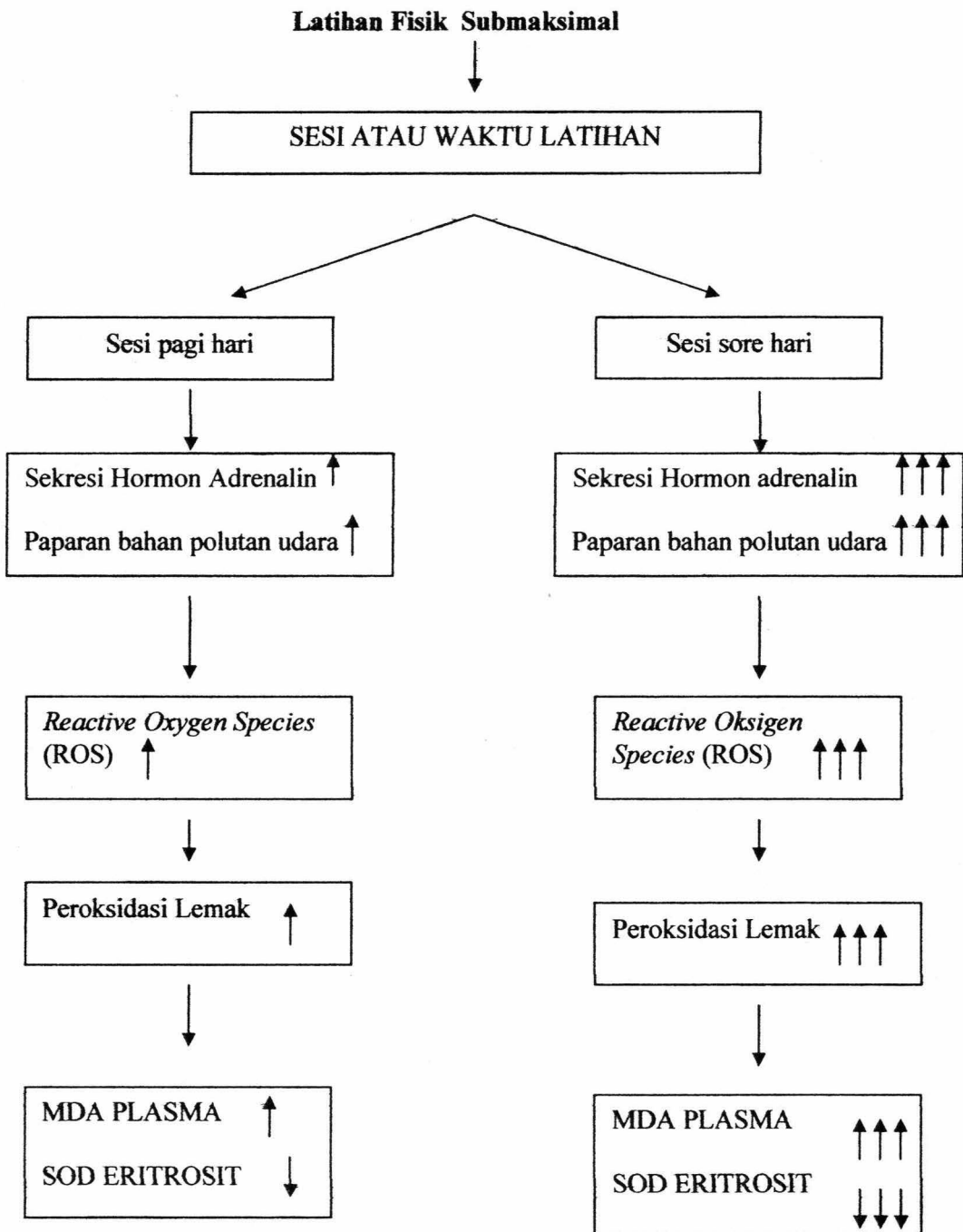
juga timbul dari dalam rumah itu sendiri, misalnya dari asap rokok, berbagai macam pengharum ruangan, alat pendingin, penggunaan alat fotokopi, kompor, dan bahan bangunan tertentu.

Polusi udara akan menyebabkan peningkatan yang luar biasa dari ROS (*Reactive Oksigen Singlet*) udara yang kemudian secara langsung akan mengakibatkan stres oksidatif pada paru. Disamping itu, secara tidak langsung polusi udara akan mengakibatkan sel-sel saluran pernapasan yang terpapar untuk mensintesis ROS melalui berbagai mekanisme yang berbeda. Dengan demikian bila keadaan ini berkepanjangan, maka dapat mengakibatkan timbulnya beberapa penyakit paru pada orang yang sebelumnya sehat ataupun memperparah penyakit paru yang telah ada.

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL & HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual Penelitian



Keterangan:

Sesi latihan atau waktu latihan adalah jumlah program latihan yang harus disusun dan yang harus dilakukan dalam satu kali pertemuan. Pada umumnya sesi latihan bisa dilakukan pada pagi ataupun sore hari. Bahkan pada olahragawan profesional umumnya dalam satu hari dapat melakukan dua sesi latihan.

Pada sesi latihan pagi hari kondisi lingkungan sangat mendukung dimana pada waktu pagi hari polusi udara masih rendah, temperatur lebih dingin dibandingkan dengan kondisi sore hari. Disamping itu sekresi dari hormon adrenalin pada waktu sore hari, semakin meningkat dibandingkan pada pagi hari.

Proses pembentukan senyawa oksidan dan terjadinya stres oksidatif pada latihan olahraga disebabkan beberapa proses biologis seperti peningkatan ventilasi pernafasan yang dapat meningkatkan inhalasi bahan polutan serta peningkatan sekresi hormon adrenalin.

Pada sore hari polusi udara meningkat dibandingkan pada pagi hari, dengan meningkatnya polusi udara juga akan meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang kemudian secara langsung akan mengakibatkan stres oksidatif pada paru. Disamping itu, secara tidak langsung polusi udara akan mengakibatkan sel-sel pernapasan yang terpapar untuk ikut mensintesis ROS melalui berbagai mekanisme yang berbeda. Dengan meningkatnya aktivitas ROS maka berpotensi menimbulkan radikal bebas. Pembentukan radikal bebas dapat berpotensi mengakibatkan peningkatan peroksidasi lemak, oksidasi glutathion, dan kerusakan oksidatif protein.

Pada latihan olahraga sekresi hormon adrenalin meningkat, latihan yang dilakukan pada sore hari akan lebih meningkatkan sekresi hormon adrenalin

karena hormon tersebut sedang dalam tingkat yang optimal. Dengan demikian hormon adrenalin akan meningkatkan laju metabolisme dan peningkatan aktivitas jantung sehingga pada waktu latihan sore hari dengan meningkatnya laju metabolisme secara otomatis kebutuhan oksigen akan meningkat sehingga dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif dan juga meningkatkan produksi radikal bebas (ROS).

Dengan meningkatnya produksi radikal bebas maka akan dapat berpotensi mengakibatkan peningkatan peroksidasi lemak. MDA plasma merupakan salah satu indikator yang memiliki sensitivitas reaksi paling tinggi ketika dalam suatu jaringan terdapat radikal bebas. Dan apabila semakin banyak jumlah *reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk maka semakin banyak enzim antioksidan yang digunakan untuk menetralsirnya, dan semakin banyak pula ROS yang gagal dinetralsir oleh enzim antioksidan. Maka senyawa antioksidan akan menurun misalnya terjadi penurunan pada enzim *superoxyde dismutase* (SOD)

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan tinjauan pustaka dan permasalahan yang telah diuraikan diatas, maka hipotesis penelitian adalah sebagai berikut:.

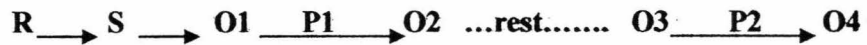
1. Kadar MDA plasma pada latihan sesi sore hari lebih tinggi dibandingkan latihan sesi pagi hari setelah latihan submaksimal
2. Aktivitas enzim SOD eritrosit pada latihan sesi sore hari lebih rendah dibandingkan latihan sesi pagi hari setelah latihan submaksimal .

BAB 4**MATERI DAN METODE PENELITIAN****4.1 Jenis Penelitian**

Penelitian yang akan dilakukan adalah jenis penelitian *eksperimental laboratories*

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *The Pretest Posttest One Group Design* (Zainuddin, 2000).



R = Randomisasi

S = Subyek penelitian

O1 = *Pretest* kelompok latihan sesi pagi hari

P1 = Diberi latihan fisik submaksimal

O2 = *Posttest* kelompok latihan sesi pagi hari

..... = Subyek istirahat

O3 = *Pretest* kelompok latihan sesi sore hari

P2 = Diberi latihan fisik submaksimal

O4 = *Posttest* kelompok latihan sesi sore hari

4.3 Populasi dan Subyek Penelitian

4.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah Mahasiswa Program Studi Ilmu Keolahragaan FIK Universitas Negeri Surabaya Angkatan 2008 dengan jenis kelamin laki-laki, dengan usia antara 21 – 25 tahun dan berat badan antara 45 – 60 kg.

4.3.2 Subyek

Penentuan subyek dalam penelitian menggunakan teknik randomisasi dengan beberapa kriteria antara lain: kondisi sehat, bukan perokok, bukan pengguna obat-obatan terlarang, denyut nadi awal 60-80 denyut/menit, subyek penelitian mengkonsumsi makanan 2 jam sebelum latihan, bersedia menjadi subyek penelitian dengan mengisi formulir persetujuan, dan mampu melakukan latihan fisik submaksimal (80% HR max) dengan cara mengayuh sepeda di atas *Ergocycle*.

Untuk menentukan besar subyek dalam penelitian ini pada rumus dari Higgins & Kleinbaum (1985:114) yang mensyaratkan adanya penelitian sejenis sebagai patokan.

Rumus:

$$n = \frac{1}{1 - f} X \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \times S_c^2}{(Xc - Xt)^2}$$

Keterangan:

n = besarnya subyek

Xt = rerata kelompok eksperimen

Xc = rerata kelompok kontrol

S_c = Simpangan baku kelompok kontrol

f = proporsi kegagalan

Z_α = Probabilitas tipe 1 = 1,65 ($\alpha = 0,05$ satu arah)

Z_β = Probabilitas tipe 2 = 1,28 ($\beta = 0,1$ satu arah)

Dalam penelitian ini patokan yang digunakan adalah penelitian dari Andiana (2008):

Dengan nilai rerata dan simpangan baku untuk aktivitas enzim SOD eritrosit adalah sebagai berikut:

X_c (rerata SOD eritrosit kelompok kontrol)	= 150,27
X_t (rerata SOD eritrosit kelompok eksperimen)	= 125,33
S_c (simpangan baku kelompok kontrol)	= 12,97
f (proporsi kegagalan 20 %)	= 0,2

Besar subyek diperoleh dengan $n = 7,09769091304$ dibulatkan menjadi 8, berarti jumlah subyek minimal yang digunakan dalam tiap kelompok untuk variabel aktivitas enzim SOD eritrosit adalah 8 orang (perhitungan besar subyek dapat dilihat pada lampiran).

X_c (rerata MDA plasma kelompok kontrol)	= 8,54
X_t (rerata MDA plasma kelompok eksperimen)	= 7,83
S_c (simpangan baku kelompok kontrol)	= 0,36
f (proporsi kegagalan 20 %)	= 0,2

Besar subyek diperoleh dengan $n = 6,747118$ yang dibulatkan menjadi 7, berarti jumlah subyek minimal yang digunakan dalam tiap kelompok untuk variabel kadar MDA plasma adalah 7 orang (perhitungan besar subyek dapat dilihat pada lampiran).

Dalam penelitian ini untuk subyek disesuaikan menjadi 8 orang.

a. Kriteria inklusi :

1). Berjenis kelamin laki-laki, dengan pertimbangan bahwa :

- Laki-laki lebih mempunyai kemampuan fisik yang lebih baik dari pada perempuan sehingga mampu melakukan aktivitas mengayuh *ergocycle* 8 – 9 menit dengan intensitas submaksimal.
 - Siklus hormon pada laki-laki lebih teratur dibandingkan pada perempuan sehingga mampu melakukan aktivitas sesuai dengan latihannya.
- 2). Umur 21 tahun s/d 25 tahun
 - 3). Mempunyai IMT (indeks massa tubuh) yang normal
- b. Kriteria eksklusi :
- 1). Tidak bersedia mengisi *informed consent*
 - 2). Sakit
- c. Drop out
- 1). Kramp ketika mengayuh *ergocycle*
 - 2). Tidak kuat saat proses pengambilan darah

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Identifikasi variabel

- a. Variabel bebas
 1. Latihan fisik submaksimal sesi pagi hari
 2. Latihan fisik submaksimal sesi sore hari
- b. Variabel tergantung

Derajat stres oksidatif dengan indikator :

 1. Kadar MDA plasma dan
 2. Aktivitas enzim SOD eritrosit
- c. Variabel kendali
 1. Jenis kelamin subyek penelitian
 2. Umur

3. Aktifitas fisik sehari-hari

4. Jam tidur malam

d. Varibel Moderator

1. Tinggi badan

2. Berat badan

4.4.2 Definisi Operasional Variabel

1. Latihan fisik submaksimal

Yang dimaksud dengan latihan fisik submaksimal dalam penelitian ini adalah suatu kegiatan fisik yang dilakukan dengan mengayuh *ergocycle* sampai mencapai 80% *HRmax* dan kemudian dipertahankan selama 6 menit. Aktivitas ini dilakukan di Laboratorium Olahraga ASSFC UNESA dan dilakukan di luar ruangan

2. Derajat stres oksidatif

a) MDA adalah senyawa yang bersifat toksik yang merupakan hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lemak. Pengukuran MDA plasma dilakukan dengan metode TBA (*thiobarbituric acid*) dari Uchiyama dan Mihara dengan satuan nmol/ml yang diukur setelah melakukan aktivitas.

b). Aktivitas enzim SOD adalah pada saat sebelum dan sesudah latihan fisik submaksimal,. Daya hambat enzim SOD terhadap pembentukan *Nbt di formasson* dengan satuan %

3. Jenis kelamin subyek penelitian

Jenis kelamin subyek penelitian dalam penelitian ini adalah jenis kelamin laki-laki, mahasiswa Program Studi Ilmu Keolahragaan angkatan 2008

4. Umur

Penelitian ini menggunakan subyek (subyek penelitian) yang berumur antara 21-25 tahun berdasarkan akte kelahiran yang dimiliki oleh subyek.

5. Aktifitas fisik sehari-hari

Aktifitas fisik sehari-hari pada penelitian ini adalah aktifitas subyek (subyek penelitian) yang dibatasi minimal 2 hari sebelum pengukuran tidak melakukan aktifitas yang melelahkan (tidak melebihi dari 50 %VO₂max).

7. Waktu tidur malam

Waktu tidur malam adalah waktu ketika subyek penelitian tidur pada malam hari sebelum hari pengambilan data.

8. Tinggi badan

Tinggi badan diukur dengan posisi berdiri tegak tanpa alas kaki menggunakan alat *Continental Scale Corp.* buatan Amerika. Satuan tinggi badan adalah sentimeter (cm) dengan ketelitian satu angka dibelakang koma.

9. Berat badan

Berat badan diukur dengan posisi berdiri tegak tanpa alas kaki menggunakan alat *Continental Scale Corp.* buatan Amerika. Satuan berat badan adalah kilogram (kg) dengan ketelitian satu angka dibelakang koma.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian di laboratorium olahraga *Achilles Sport Science Fitness Center (ASSFC)* Universitas Negeri Surabaya dan pemeriksaan laboratorium dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Pengambilan data dilaksanakan bulan juli 2011.

4.6 Instrumen Penelitian

1. *Ergocycle Technogym* untuk latihan fisik submaksimal
2. *Heart Rate Monitor* untuk mengetahui denyut nadi
3. *Stethoscope (Litmann, Mercury Sphygmanometer)* untuk pemeriksaan kesehatan fisik subyek penelitian
4. Perlengkapan dan alat pengambilan darah, berupa: *stopwatch* digital, *water bath*, sentrifuge, transferpette bipet merk RIR-2, kertas saring (wattman), spuit 5 cc, botol (10 cc, 23 cc, 50 cc, dan 100 cc); tabung reaksi, gelas ukur, (50 cc dan 100 cc), tabung eppendorf, vortex, yellow tip, freezer, blue tip, termos berisi es, parafilm, glasswool, spektrofotometer (merk Dioda Array HP 8452 A) dan (Hitachi Photometer 4020, Boehringer).
5. *Continental Scale Corp* untuk mengukur tinggi badan dan berat badan
6. *Stopwatch* untuk mengontrol waktu latihan
7. Alkohol 70 % dan kapas steril untuk membersihkan permukaan kulit pada tempat pengambilan darah.

4.7 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian digunakan untuk mengetahui tahap-tahap yang dilakukan selama penelitian, sehingga resiko kegagalan dalam penelitian dapat dihindari. Dalam penelitian ini prosedur penelitian akan dibagi menjadi persiapan penelitian dan pelaksanaan pengambilan data.

4.7.1 Persiapan Penelitian

Beberapa persiapan yang harus dilakukan meliputi:

1. Mempersiapkan subyek penelitian

2. Menghubungi Ketua Laboratorium Achilles Sport Science Fitness Center UNESA
3. Menghubungi Ketua Departemen Biokimia FK Unair
4. Mempersiapkan sarana dan prasarana penelitian.
5. Pengisian form kesanggupan menjadi subyek penelitian (*information & informed for consent*) oleh subyek. (form terlampir)
6. Pemeriksaan kesehatan dan fisik (tinggi badan, berat badan, tekanan darah, denyut nadi istirahat dan denyut nadi latihan) subyek melalui pengisian form pemeriksaan kesehatan dilakukan oleh dokter dan petugas laboratorium olahraga yang sudah profesional (form terlampir)

4.7.2 Pelaksanaan pengambilan data

Pelaksanaan pengambilan data akan dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Memberikan pengarahan kepada subyek penelitian mengenai batasan tidur malam, makan 2 jam sebelum latihan, dan aktifitas fisik yang dilakukan 1 hari menjelang pengambilan data.
2. Melakukan pemeriksaan kesehatan dan fisik subyek penelitian, dilakukan oleh tim laboratorium olahraga dan didampingi oleh dokter
3. Melakukan pengambilan darah pada subyek yang dilakukan oleh tim laboratorium Biokimia dan didampingi oleh dokter sebagai hasil *pretest* (sebelum melakukan aktivitas) yang dilakukan dengan posisi duduk dan tangan dalam keadaan rileks
4. Dilakukan pemasangan alat *Polar heart rate monitor* di bagian dada kiri subyek penelitian.

5. Memberikan *exercise* kepada subyek penelitian yaitu pemberian aktivitas fisik submaksimal hingga mencapai 80% *HRmax* dengan menggunakan *ergocycle* dan kemudian aktivitas ini dipertahankan selama 6 menit, pada waktu latihan didampingi oleh seorang petugas laboratorium olahraga dan didampingi oleh seorang dokter.
6. Setelah melakukan latihan submaksimal subyek penelitian istirahat dengan cara duduk diam atau pasif dan kemudian segera dilakukan pengambilan darah pada subyek sebagai hasil *posttest* (dilakukan dengan posisi duduk) oleh petugas laboratorium biokimia

4.8 Pemeriksaan kadar MDA plasma dan *Superoksida Dismutase* Eritrosit

Pemeriksaan dilakukan para petugas laboratorium Biokimia yang sudah berpengalaman dan didampingi oleh seorang dokter untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengukuran.

4.8.1 Pemeriksaan Kadar MDA plasma

Pemeriksaan kadar MDA adalah sebagai berikut:

1. Diambil plasma darah 0,5 cc
2. Diambil larutan PBS 4,3 cc
3. Kemudian digerus
4. Disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit
5. Diambil supernatan 4 ml
6. kemudian ditambah larutan TCA 15 % 1 ml
7. Ditambah 1 ml TBA 0,37 % dalam HCl 0,25 N
8. Dipanaskan dengan *water bath* 80°C selama 15 menit
9. Didinginkan dalam suhu ruangan
10. Disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit

11. kemudian diukur absorbansi supernatan pada 532 nm

4.8.2 Pemeriksaan aktivitas enzim SOD eritrosit

1. Persiapan Reagent

- a) WST working solution : campurkan 1 ml WST solution dengan 19 ml SOD assay buffer solution (bisa bertahan 2 bulan dalam suhu 4° C)
- b) Enzim Working Solution : sentrifuse SOD ezyme solution selama 5 detik (penting karena SOD ezyme solution berupa cairan dengan dua lapis dan harus dicampurkan sebelum digunakan, campurkan 15 µl SOD ezyme solution dengan 2.5 ml SOD dilution buffer (bisa bertahan dalam suhu 4°C)

2. Persiapan Sampel Darah

- a) Darah subyek penelitian dikumpulkan dengan mempergunakan citrate/EDTA
- b) Centrifuse 1000 G selama 10 menit dalam suhu 4 °C
- c) Ambil lapisan plasma tanpa mengenai buffy layer kemudian simpan dalam suhu minus 80 °C sampai digunakan
- d) Ambil buffy layer
- e) Campurkan lagi eritrosit dengan 5x ice cold destilated water
- f) Sentrifugasi 10.000 G selama 10 menit
- g) Ambil lapisan supernatant kemudian simpan dalam suhu minus 80°C sampai dipergunakan

3. Prosedur pemeriksaan SOD

- a) Tambahkan 20 µl larutan subyek pada cuvet subyek dan cuvet blank 2
- b) Tambahkan 20 µl H₂O pada cuvet blank 1 dan blank 3

- c) Tambahkan 200 μ l WST working solution pada tiap cuvet (cuvet subyek, cuvet blank 1, cuvet blank 2, cuvet blank 3)
- d) Tambahkan 20 μ l dilution buffer pada cuvet blank 2 dan cuvet blank 3
- e) Tambahkan 20 μ l enzyme working solution pada cuvet subyek
- f) Campur dengan rata, karena superoxide akan dilepaskan segera setelah penambahan enzyme working solution maka gunakan multiple pipet untuk menghindari jeda waktu yang akan berpengaruh terhadap hasil.
- g) Inkubasi plates pada suhu 37°C selama 20 menit
- h) Baca absorbansi pada gelombang 450nm dengan mempergunakan microplate reader
- i) Hitung aktifitas SOD (presentase inhibisi) dengan mempergunakan rumus sebagai

$$SOD\text{Activity}(inhibition\ rate\ \%) = \frac{(A_{blank\ 1} - A_{blank\ 3}) - (A_{sample} - A_{blank\ 2})}{(A_{blank\ 1} - A_{blank\ 2})} \times 100$$

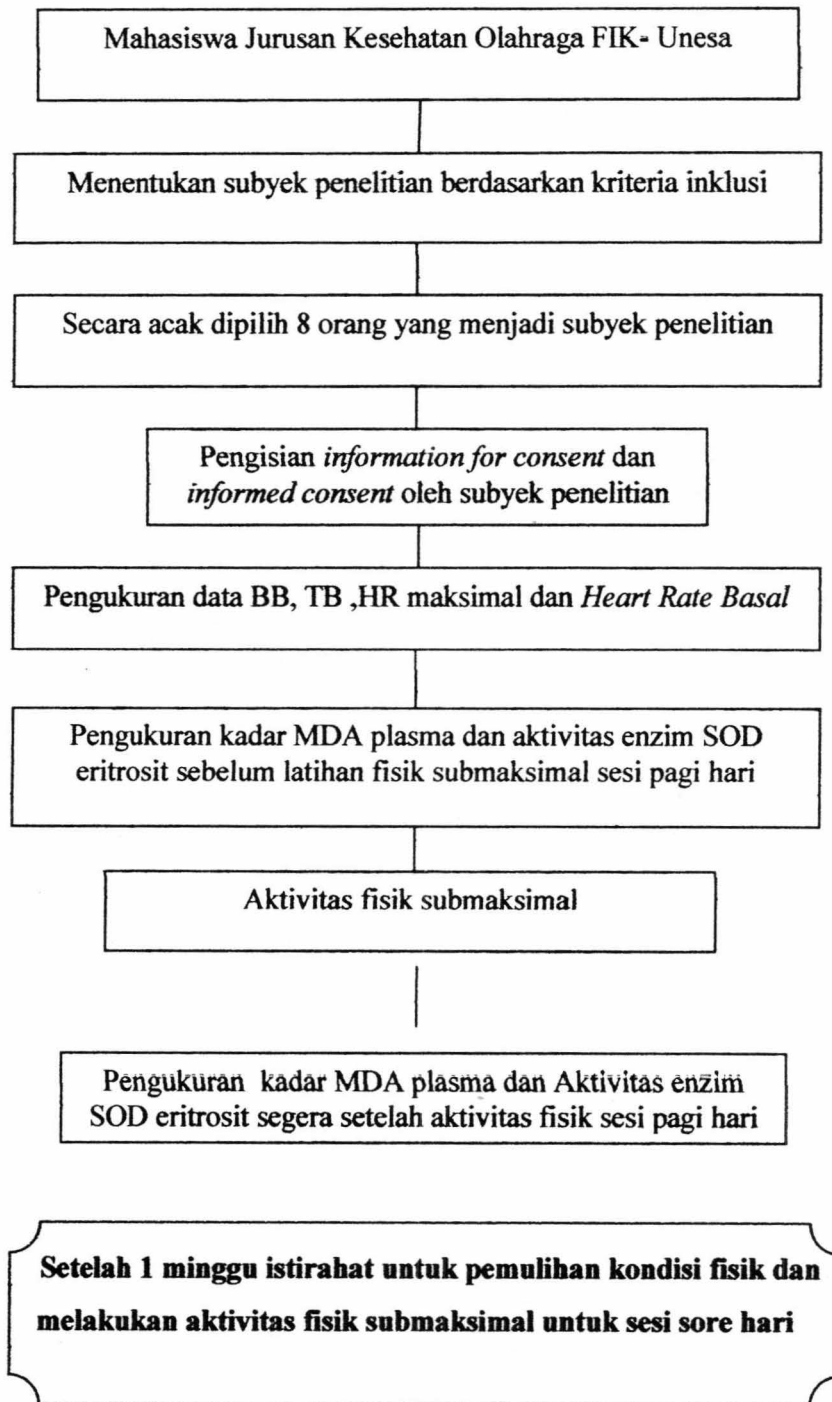
- j) Larutan yang disediakan dalam KIT : Kit Contents

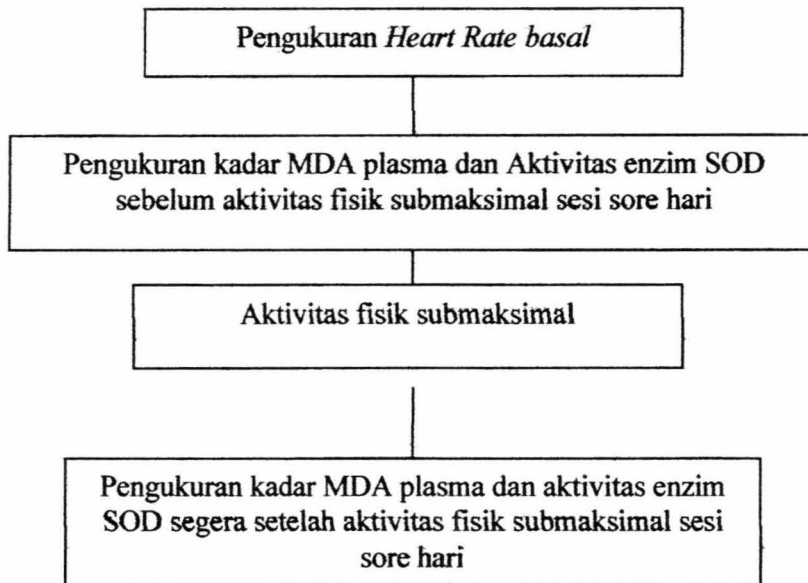
Component	K335-100	Color Code	Parts
	100 assays	Cap Color	Number
WST Solution	1 ml	Red	K335-100-1
SOD Enzyme Solution	20 μ l	Green	K335-100-2
SOD Assay Buffer	20 ml	WM	K335-100-3
SOD Dilution Buffer	10ml	NM	K335-100-4

- k) Skematik penambahan campuran pada tiap – tiap cuvet

	Subyek	Blank 1	Blank 2	Blank 3
Subyek Solution	20 μ l		20 μ l	
ddH ₂ O		20 μ l		20 μ l
WST WORKING Solution	20 μ l	20 μ l	20 μ l	20 μ l
Enzyme Working Solution	20 μ l	20 μ l		
Dilution Buffer			20 μ l	20 μ l

4.9 Kerangka Operasional Penelitian





4.10 Teknis Analisis Data

Data ini diolah dengan statistika pada derajat signifikansi 5%, melalui bantuan program SPSS 15.

1. Uji statistik deskriptif
2. Uji normalitas
3. Uji homogenitas
4. Uji t –test berpasangan
5. Uji t-test 2 sampel bebas

BAB 5

ANALISIS HASIL PENELITIAN

Dari hasil penelitian diperoleh data berupa variabel kadar MDA plasma (nmol/ml), aktivitas enzim SOD eritrosit (%), berat badan dan tinggi badan. Pengukuran terhadap variabel kadar MDA plasma dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu: (1) Sebelum melakukan latihan submaksimal, dan (2) Segera setelah melakukan latihan fisik submaksimal. Pengukuran terhadap variabel aktivitas enzim SOD eritrosit dilakukan sebanyak 2 kali, yaitu : (1) Sebelum melakukan latihan submaksimal, (2) Segera setelah melakukan latihan fisik submaksimal. Sedangkan pengukuran terhadap variabel berat badan dan tinggi badan hanya dilakukan sekali.

Selanjutnya data hasil penelitian diolah dengan statistik deskriptif dan statistik inferensial (uji normalitas, uji t-berpasangan dan uji t-2 sampel bebas). Seluruh data dikerjakan dengan menggunakan program komputer *SPSS 17.0 for Windows* dengan taraf signifikansi sebesar 0,05.

5.1 Hasil Statistik Deskriptif

5.1.1 Variabel berat badan dan tinggi badan

Data deskriptif variabel berat badan dan tinggi badan subyek penelitian dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Statistik Deskriptif

Variabel Berat Badan (Kg) dan Tinggi Badan (cm) subyek penelitian

Variabel	Rerata \pm SD	minimum	maksimum
Berat Badan	61,00 \pm 11,69	47	79
Tinggi Badan	165,13 \pm 7,16	159	180

Perhitungan data selengkapnya dapat dilihat di lampiran 11

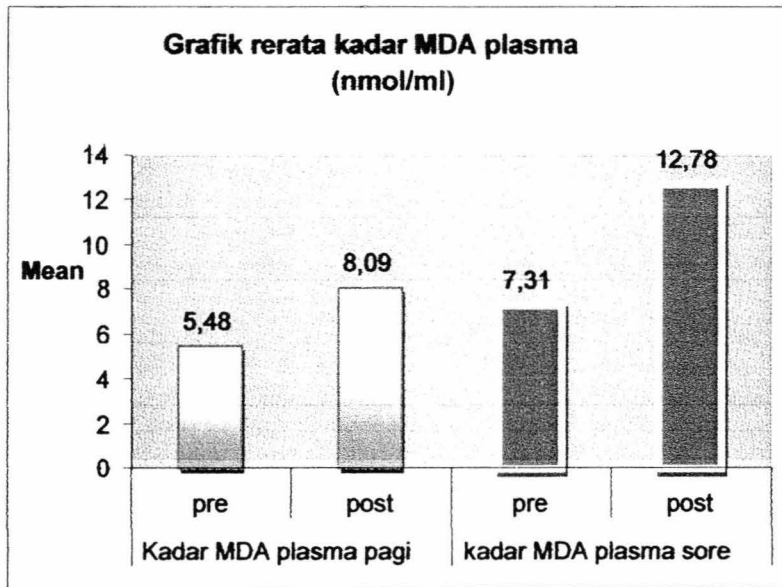
5.1.2 Variabel kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit

Data deskriptif variabel kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit subyek penelitian dalam penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.2

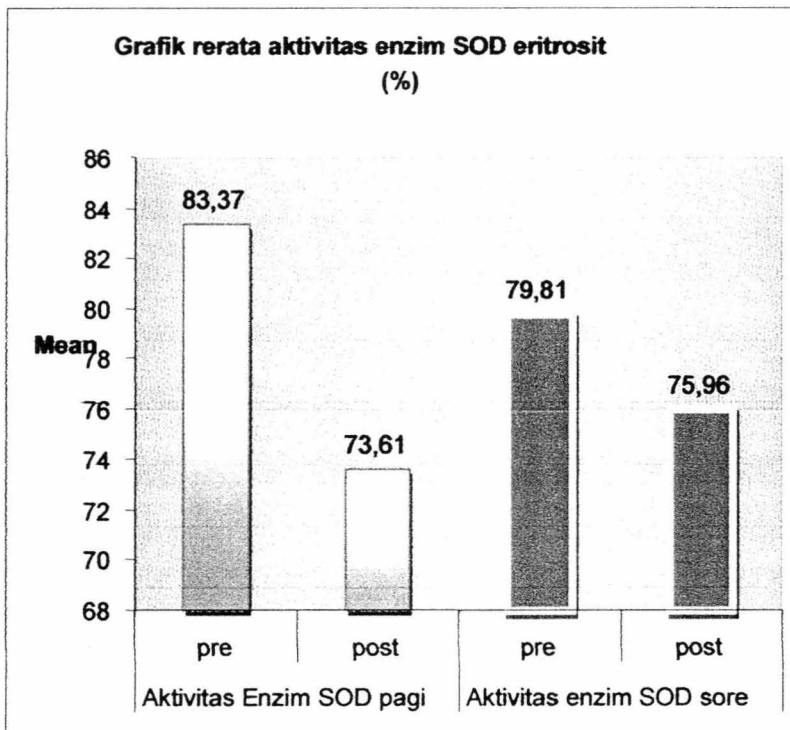
Tabel 5.2 Nilai Rerata dan SD Variabel Penelitian kadar MDA plasma (nmol/ml) dan aktivitas enzim SOD eritrosit (%)

Variabel	Latihan Submaksimal Sesi Pagi Hari (Rerata \pm SD)		Latihan Submaksimal Sesi Sore Hari (Rerata \pm SD)	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	5,48 \pm 3,24	8,09 \pm 3,05	7,32 \pm 2,92	12,78 \pm 2,89
Aktivitas Enzim SOD eritrosit (%)	83,37 \pm 9,24	73,61 \pm 11,10	79,81 \pm 8,90	75,96 \pm 9,81

Perhitungan data selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 11



Gambar 5.2 Diagram Batang Nilai Rerata Kadar MDA Plasma (nmol/ml)



Gambar 5.3 Diagram Batang Nilai Rerata Aktivitas Enzim SOD Eritrosit (%)

5.2 Uji Normalitas

5.2.1 Variabel kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit

Hasil perhitungan uji normalitas yang disajikan dalam tabel 5.3

Tabel 5.3 Uji Normalitas Variabel Kadar MDA plasma (nmol/ml) dan Aktivitas enzim SOD eritrosit (%)

Variabel	Latihan Submaksimal Sesi Pagi Hari (p)		Latihan Submaksimal Sesi Sore Hari (p)	
	Sebelum	Sesudah	Sebelum	Sesudah
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	0,67	0,95	0,57	0,74
Aktivitas Enzim SOD eritrosit (%)	0,81	0,99	0,87	0,68

Berdasarkan tabel 5.3 diperoleh nilai $p > 0.05$. Hal ini berarti bahwa seluruh data untuk variabel kadar MDA plasma dan aktivitas enzim SOD eritrosit berdistribusi normal.

5.3 Hasil Uji t – berpasangan

Uji t berpasangan dilakukan untuk menganalisis apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar MDA plasma sebelum latihan dan setelah latihan, dan juga apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum latihan dan setelah latihan. Uji t berpasangan menggunakan taraf signifikansi 0,05 ($p = 0,05$). Bila nilai p hasil Uji t berpasangan lebih kecil dari 0,05 ($p < 0,05$), maka dapat disimpulkan

bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara sebelum latihan dan setelah latihan. Nilai p dari Uji t berpasangan dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Perubahan antar waktu dalam kelompok latihan submaksimal sesi pagi hari dan sore hari

Variabel	Kelompok	Sebelum	Setelah	p
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	Pagi hari	5,48 ± 3,24	8,09 ± 3,05	0,002
	Sore hari	7,32 ± 2,92	12,78 ± 2,89	0,000
Aktivitas enzim SOD eritrosit (%)	Pagi hari	83,37 ± 9,24	73,61 ± 11,10	0,027
	Sore hari	79,81 ± 8,90	75,96 ± 9,81	0,001

Dari tabel 5.4 diperoleh nilai $p < 0,05$. Berarti hipotesis diterima, maka disimpulkan bahwa terdapat : 1). Ada peningkatan kadar MDA plasma secara bermakna (0,002) segera setelah latihan fisik submaksimal pada sesi pagi hari, 2). Ada peningkatan kadar MDA plasma secara bermakna (0,000) segera setelah latihan fisik submaksimal pada sesi sore hari, 3). Ada penurunan aktivitas enzim SOD secara bermakna (0,027) segera setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi hari, 4). Ada penurunan aktivitas enzim SOD secara bermakna (0,001) segera setelah latihan fisik submaksimal sesi sore hari.

5.4 Hasil Uji t dua sampel bebas

Tabel 5.5 Hasil uji beda dari kadar MDA plasma (nmol/ml) dan Aktivitas enzim SOD eritrosit (%) pada sesi latihan fisik submaksimal pagi hari dan sore hari

Variabel	Kelompok	Rerata±SD sebelum	Rerata±SD setelah	Rerata±SD perubahan sebelum - setelah	p
Kadar MDA plasma (nmol/ml)	Pagi hari	5,48 ± 3,24	8,09 ± 3,05	2,61 ± 1,49	0,002
	Sore hari	7,32 ± 2,92	12,78 ± 2,89	5,47 ± 1,57	
Aktivitas enzim SOD eritrosit (%)	Pagi hari	83,37 ± 9,24	73,61 ± 11,10	- 9,76 ± 9,86	0,128
	Sore hari	79,81 ± 8,90	75,96 ± 9,81	- 3,85 ± 2,06	

Dari tabel 5.5 didapatkan hasil bahwa:

1. Perbedaan kadar MDA plasma post test pada kelompok latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan latihan fisik submaksimal sesi sore hari memiliki nilai $p = 0,002$. Jika $p < 0,05$ maka hipotesis penelitian diterima. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan pada kadar MDA plasma setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan sore hari.
2. Perbedaan aktivitas enzim SOD eritrosit post test pada kelompok latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan latihan fisik submaksimal sesi sore hari memiliki nilai $p = 0,128$. Jika $p > 0,05$ maka hipotesis penelitian ditolak. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan pengaruh yang signifikan pada aktivitas enzim SOD eritrosit antara latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan latihan fisik submaksimal sesi sore hari.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal sesi pagi dan sore hari terhadap derajat stres oksidatif yaitu kadar *Malodialdehyde* (MDA) plasma dan aktivitas enzim *superoksida dismutase* (SOD). Pembahasan dalam penelitian ini dibagi menjadi 3 sub bab, yaitu : pembahasan metodologi penelitian, pembahasan subyek penelitian dan latihan, pembahasan hasil penelitian.

6.1 Pembahasan Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian yang menggunakan jenis penelitian *eksperimental laboratories*, dengan pertimbangan karena jenis penelitian ini merupakan salah satu metode penelitian yang tepat untuk menyelidiki hubungan sebab akibat (Zainuddin, 2000).

6.2 Pembahasan Subyek Penelitian dan Latihan

Subyek penelitian dalam penelitian ini berjumlah 8 orang dan berusia 21-25 tahun, karena usia tersebut sudah tergolong dewasa. Pada usia ini fungsi biologis lebih stabil, dipilih mahasiswa laki – laki dimaksudkan mempunyai sistem hormonal yang lebih stabil jika dibanding dengan mahasiswa yang berkelamin wanita (terdapat

siklus menstruasi). Selain itu orang laki –laki mempunyai daya tahan tubuh yang lebih kuat terhadap pergantian cuaca maupun suhu udara (Kumala, 1996).

Latihan olahraga dalam penelitian ini adalah latihan olahraga submaksimal dengan durasi waktu 6 menit. Intensitas latihan yang digunakan adalah intensitas submaksimal (80% HRmaksimal) yang sebanding 78% dari VO_{2max} sehingga resiko cedera yang membahayakan subyek penelitian lebih kecil (Astrand, 1986). Aktivitas fisik submaksimal yang memerlukan waktu 1-6 menit, dimana kecepatan dan daya tahan menjadi sangat dominan dalam menentukan keberhasilan olahraga seseorang merupakan aktifitas fisik submaksimal (Bompa, 1983). Penelitian ini menggunakan latihan sepeda dengan *Ergocycle merk Technogym* dengan pertimbangan lebih mudah pelaksanaannya karena berat tubuh saat mengayuh sepeda ditopang oleh sadel (tempat duduk) sehingga faktor berat badan kecil pengaruhnya terhadap kerja fisik. Dan *ergocycle merk Technogym* terdapat monitor digital yang berisi *display* kecepatan kayuhan (rpm), beban (kp/watt), waktu (menit/detik), sehingga dosis latihan yang diberikan dapat dikontrol. Dengan menggunakan *Infra Red PolarTM Heart Monitor* yang dipasangkan pada subyek penelitian, dapat diketahui perubahan *heart rate* yang terjadi selama latihan.

6.3 Pembahasan Hasil Penelitian.

Dalam pembahasan hasil penelitian ini akan dibahas tentang kadar MDA plasma awal, kadar MDA plasma segera setelah latihan fisik submaksimal, aktivitas

enzim SOD awal dan aktivitas enzim SOD segera setelah latihan fisik submaksimal yang dilakukan pada sesi pagi hari dan sore hari..

6.3.1 Kadar MDA plasma awal/ sebelum latihan fisik submaksimal

Hasil analisis pada variabel kadar MDA plasma sebelum latihan olahraga pada sesi pagi hari diperoleh nilai rerata sebesar 5,484 nmol/ml dan pada sesi sore hari 7,317 nmol/ml. Malondialdehyde (MDA) adalah merupakan salah satu indikator yang digunakan untuk mengukur terjadinya stres oksidatif (Halliwell, 1999). MDA adalah senyawa yang bersifat toksik yang merupakan hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lemak (Comporti dalam Khataria, 2001). Menurut Ji (1996) ada beberapa faktor yang mempengaruhi tingkat peroksidasi lemak akibat latihan fisik antara lain: interaksi diet, penyakit, obat-obatan dan tingkat partisipasi seseorang terhadap latihan fisik atau olahraga.

Menurut Dale (1995) kondisi kejiwaan dan ritme sirkadian dimana didapatkan bahwa lebih tinggi pada sore hari dibandingkan pada pagi hari, suhu lingkungan dan ritme sirkadian dimana sekresi pada sore hari lebih tinggi dibandingkan pada pagi hari (viru, 1985, dalam harjanto, 2003).

Pada waktu sore hari kadar polusi udara mengalami peningkatan daripada pagi hari. Menurut penelitian bahwa udara yang tercemar menyebabkan tingginya kadar MDA plasma (Afriyanti, 2007) sehingga kadar MDA plasma pada sore hari sebelum latihan lebih tinggi daripada pagi hari karena disebabkan udara yang tercemar.

6.3.2 Kadar MDA plasma segera setelah latihan fisik submaksimal

Nilai rerata kadar MDA plasma segera setelah latihan fisik submaksimal untuk sesi sore hari adalah 12,783 nmol/ml dan untuk latihan fisik submaksimal sesi sore hari adalah 8,090 nmol/ml (lihat tabel 5.2). Alasan peneliti untuk mengukur kadar MDA plasma segera setelah latihan fisik submaksimal adalah ingin membuktikan apakah ada perbedaan peningkatan yang signifikan antara latihan submaksimal sesi pagi hari dan sesi sore hari

Berdasarkan hasil uji t dua sampel bebas kadar MDA plasma segera setelah latihan fisik submaksimal antara sesi pagi hari dan sesi sore hari dalam penelitian ini menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$) seperti tampak pada tabel 5.6. Kondisi ini menggambarkan bahwa kadar MDA plasma setelah latihan fisik submaksimal sesi sore lebih tinggi daripada setelah latihan fisik submaksimal sesi pagi hari ($p = 0,002$).

Peningkatan kadar MDA plasma setelah melakukan olahraga merupakan suatu fenomena fisiologis yang disebabkan oleh terjadinya peningkatan konsumsi oksigen (peningkatan respirasi) dan disertai dengan proses reduksi yang dapat merangsang oksigen. Karena proses inilah sehingga terjadi peningkatan reaksi pembentukan superoksida anion, hidroksi peroksida, radikal hidroksil, oksigen bebas dan komponen radikal bebas yang lain (Spencer, 1994). Pada latihan olahraga terjadi peningkatan ventilasi pernafasan (Fox, 1993, Wilmore, 1994)). Meningkatnya ventilasi dapat meningkatkan inhalasi bahan polutan yang seterusnya dapat meningkatkan pembentukan senyawa oksidan dan stress oksidatif.

Dalam penelitian ini, subyek penelitian mendapatkan beban fisik dengan cara mengayuh sepeda (ergocycle technogym) selama 6 menit dengan kecepatan yang konstan dan dilakukan pada pagi hari dan sore hari di luar ruangan. Menurut penelitian ini kadar MDA plasma pada sore hari lebih tinggi dibandingkan pada pagi hari dan ini disebabkan karena bahan polutan dan suhu lingkungan pada sore hari lebih tinggi dibandingkan pada pagi hari. sehingga akan mengakibatkan pada sore hari akan lebih peningkatan dalam hal inhalasi terhadap bahan polutan.

Bahan pencemar udara (polutan) tersebut dapat berupa gas: gas senyawa karbon (CO), senyawa sulfur (SO₂), senyawa nitrogen (NO₂), senyawa logam (Pb), senyawa oksigen (O₃); atau berupa partikel (asap, debu, uap, kabut), yang biasanya gas dan zat pencemar ini berkaitan dengan aktivitasnya sebagai oksidan di dalam tubuh (Yunus, 1996). Udara tercemar, yang berisikan oksidan-oksidan kuat, dalam kadar yang berlebihan akan menyebabkan gangguan pada sistem pernapasan, pada akhirnya berkembang menjadi penyakit pernapasan obstruksi kronik (PPOK). Pada keadaan normal tubuh mempunyai sistem pertahanan terhadap radikal bebas dan protease, yang disebut dengan antioksidan dan antiprotease. Antioksidan sekaligus antiprotease berfungsi melindungi tubuh dari kerusakan oleh radikal anion superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil yang diproduksi oleh sel-sel radang (leukosit). Namun jika produksi radikal bebas yang berlebihan tidak diimbangi dengan antioksidan yang cukup, maka dapat menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara oksidan (radikal bebas) dengan antioksidan yang disebut dengan stres oksidatif. Stres oksidatif ini berefek negatif terhadap pembelahan sel,

pertumbuhan sel, reperasi sel yang rusak, dan ini berlaku secara umum (Miharja, dalam Afriyanti, 2007).

Berbagai penyakit yang telah diteliti dan diduga kuat berkaitan dengan aktivitas radikal bebas. Penyakit-penyakit tersebut mencakup lebih dari 50 kelainan seperti Stroke, Asma, Pankreatitis, Berbagai penyakit radang usus, Penyumbatan kronis pembuluh darah di jantung, Penyakit parkinson, Sel Sickle Leukemia, Arthritis rematoid, Perdarahan otak & tekanan darah tinggi, bahkan AIDS (Albert, 2003)

6.3.3 Aktivitas Enzim SOD eritrosit awal / sebelum latihan fisik submaksimal

Menurut Haliwell antioksidan yang terdapat dalam tubuh kita dapat dibagi menjadi dua yaitu : antioksidan yang terletak didalam sel atau antioksidan enzimatik dan antioksidan yang terletak diluar sel atau antioksidan non enzimatik. Superoksida Dismutase adalah merupakan salah satu indikator yang digunakan untuk mencegah pembentukan senyawa radikal atau reaksi antara senyawa radikal atau oksidan lain dengan molekul tubuh (Harjanto, 2003). Hasil analisis pada variabel aktivitas enzim SOD eritrosit sebelum olahraga submaksimal sesi pagi hari sebesar 83,370 % dan nilai rerata sebelum latihan fisik submaksimal sesi sore hari diperoleh nilai rerata sebesar 79,807 %. Dalam kondisi normal, tubuh akan memproduksi antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh akibat meningkatnya jumlah produksi dari radikal bebas (Reall dalam indah, 2001). Jadi produksi antioksidan ini mutlak diperlukan sebagai salah satu sistem proteksi dari tingkat seluler.

bahan-bahan dan reaksi-reaksi kimia yang dapat meniadakan radikal bebas disebut *antioxidants*. Sebaliknya bahan-bahan dan reaksi-reaksi kimia yang dapat menimbulkan radikal bebas disebut *prooxidants*. Dalam keadaan normal terdapat keseimbangan antara prooksidan dan antioksidan. Stres oksidatif adalah keadaan dimana terdapat peningkatan prooksidan tanpa diimbangi oleh peningkatan antioksidan yang memadai (Widodo dalam Wicaksono, 2001:25).

Tidak seimbangnya antara pertahanan antioksidan tubuh dan radikal bebas menyebabkan stres oksidatif. Intensitas dan durasi latihan berpengaruh terhadap tingkat stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan terganggunya integritas membran, terjadinya *apoptosis*, tidak bekerjanya enzim (salah satunya enzim SOD), dan kerusakan DNA (Niess dkk, 1999:22).

Berdasarkan pendapat ini subyek penelitian dianggap mempunyai interkasi diet, kondisi fisik dan respon terhadap latihan olahraga yang hampir sama. Dengan demikian faktor tersebut dianggap tidak akan mempengaruhi hasil analisis antara kedua kelompok setelah latihan olahraga.

6.3.4 Aktivitas enzim SOD eritrosit segera setelah latihan fisik submaksimal

Nilai rerata aktivitas enzim SOD segera setelah latihan fisik submaksimal untuk kelompok sesi sore hari adalah 75,962 %, dan untuk kelompok latihan submaksimal sesi pagi hari adalah 73,611 % (lihat tabel 5.2). Alasan peneliti untuk mengukur aktivitas enzim SOD eritrosit segera setelah latihan fisik submaksimal adalah ingin membuktikan apakah ada perbedaan penurunan yang signifikan pada latihan submaksimal sesi pagi hari dan sesi sore hari.

Berdasarkan hasil uji t 2 sampel bebas aktivitas enzim SOD eritrosit segera setelah latihan fisik submaksimal antara sesi pagi hari dan sesi sore hari dalam penelitian ini menunjukkan penurunan tidak berbeda bermakna dengan nilai $p = 0,128$ ($p > 0,05$) seperti tampak pada tabel 5.6. Kondisi ini menggambarkan bahwa walaupun latihan fisik submaksimal sesi pagi hari dan sesi sore hari dengan latihan dan beban yang sama, penurunan aktivitas enzim SOD eritrosit yang dihasilkan tidak berbeda ($p = 0,128$).

Pada penelitian ini tidak ada perbedaan antara latihan pada pagi hari dan sore hari dan kemungkinan ini diakibatkan beberapa faktor karena antioksidan terdiri dari dua yaitu antioksidan endogen dan antioksidan eksogen

antioksidan alami dalam tubuh manusia yaitu Superoksida dismutase, Glutation peroksidase, Katalase yang siap menetralsir radikal bebas yang berlebihan agar tetap seimbang. Sedangkan antioksidan yang kita makan dari luar melalui makanan atau melalui *food suplemen* untuk membantu tubuh melawan kelebihan radikal bebas, kita sebut antioksidan eksogen (Albert, 2003).

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan :

1. Kadar MDA plasma pada latihan sore hari lebih tinggi dibandingkan dengan latihan sesi pagi hari setelah latihan submaksimal.
2. Aktivitas enzim SOD eritrosit pada latihan sesi sore hari tidak lebih rendah dibandingkan dengan latihan sesi pagi hari setelah latihan submaksimal.

7.2 Saran

Berdasarkan pada pelaksanaan penelitian dan hasil penelitian yang telah didapatkan, maka peneliti menyampaikan beberapa saran sebagai berikut :

1. Masih perlu diteliti dengan bentuk latihan fisik atau lingkungan yang berbeda agar diketahui kemungkinan –kemungkinan pengaruh tentang waktu latihan terhadap sistem faal tubuh khususnya yang menyangkut tentang stres oksidatif.
2. Pada penelitian ini orang coba tidak diasramakan, sehingga perlakuan terhadap orang coba diluar penelitian tidak terkontrol. Harapannya dalam penelitian-penelitian selanjutnya perlu dikembangkan suatu penelitian dengan diasramakan, sehingga dapat meminimalkan perbedaan kondisi awal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afriyanti, Esi, S.Kp 2007. Ringkasan Kadar Peroksidasi Lipid Dalam Tubuh Akibat Polusi Udara: Prestudi terhadap kadar malondialdehid (MDA) anak jalanan. Portal Penelitian Universitas Andalas.
- Albert, Dr. 2003. Radikal Bebas dan Antioksidan. www.medikaholistik.com
- Andiana, Olivia. 2008. Pengaruh Latihan Interval Istirahat Aktif dan Istirahat Pasif Terhadap Derajat Stres Oksidatif. Tesis Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Aslan, Recep., Sekeroglu, M.Ramazan., Tarakcioglu, Mehmet., Bayiroglu, Fahri & Meral, Ismail. 1998. Effect of Acute and Regular Exercise on Antioxidative Enzymes, Tissue Damage Markers and Membran Lipid Peroxidation of Erythrocytes in Sedentary Students. *Journal of Medical Sciences*, 28: 411-414.
- Astrand PO and Rodahl K, 1986. Textbook of Work Physiology , McGraw-Hill Book Company New York. 412-413
- Basset DR, Hoeley ET, 2000. Limiting Factor for Maximum Oxygen Uptake and Determinant of Endurance performance. *Med & Sci in Sport & Exercise* 32: 70-84.
- Blokehealth.com. 2004. Exercise And The Free Radicals; Exercise And Oxidative Damage. (Online), (<http://www.mjholland.fsnet.co.uk/blokehealth/Exercise.htm> diakses 15 Juni 2004).
- Bompa, Tudor O. 1983. Theory and Methodology of Training: The Key to Athletic Performance . Kendall/Hunt Publishing Company, IOWA. USA
- Bompa, Tudor O. 1994. Theory and Methodology of Training: The Key to Athletic Performance . Kendall/Hunt Publishing Company, IOWA. USA. Hal: 2-3.
- Burngadner, Wendi. 2008. *What's the Best Time of Day to Exercise*. (<http://sportmedicine.about.com>) diakses 11 April 2011.
- Brooks GA, Fahey TD, 1984. Exercise Physiology Human Bioenergetics and Its Application . New York : Macmillan Publishing Company, pp 701-715.
- Clarkson, Priscilla M & Thompson, Heather S. 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health?. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72(2): 637S-646S.

- Cooper, C.E., Vollaard, N.B., Choueiri, T. & Wilson, M.T. 2002. Exercise, Free Radicals and Oxidative Stress. *Biochem. Soc. Tras*, 30: 280-285.
- Elizabeth Quinn, 2008. Preventing Overtraining - When Less Is More (<http://sportmedicine.about.com>) diakses 13 April 2011
- Elizabeth Quinn, 2010. When is The Best Time to Exercise (<http://sportmedicine.about.com>) diakses 13 April 2011
- Favier, A.E (Ed.). 1995. How to Demonstrate The Occurrence of an Oxidative Stress In Human? Dalam Analysis of Free Radical In Biological System Favier et.al. Switzerland: Birkhauser Verlag Basel.
- Fox El, Bowers R.W & Foss ML. 1993. The Pysiological Basis of Physical Education and Athletics (4th Ed.). Philadelphia: Saunders College.
- Fox El, Bowers R.W & Foss ML. 1998. The Pysiological Basis of Physical Education and Athletics (4th Ed.). Philadelphia: Saunders College.
- Gollnick P, Bayly MW, Hodgson RD, 1986. Exersice Intensity, Training Diet and Lactate Concentration in Muscle and Blood. *Med and Sci Sport Exerc* (18) : 3 : 334-339.
- Goodwin ML, 2007. Blood Lactate Measurments and Analysis During Exercise : A Guide for Clinicians. *J of Diabetes Sci and Tech* 1 (4) : 558-569.
- Gul, Mustafa., Atalay, Mustafa & Hanninen, Osmo. 2003. Endurance Training and Glutathione-Dependent Antioxidant Defense Mechanism In Heart of The Diabetic Rats. *Journal of Sports Science and Medicine*, 2: 53-61.
- Guyton, A. C & John E.H, 2004. Text Book of Medical Physiology. Tenth edition. Elsevier Saunder, 1600 John F, Kennedy Boulevard, Suite 1800. Philadelphia Pennsylvania 19103-2899
- Harjanto, 2003. Petanda Biologis dan Faktor yang Mempengaruhi Derajat Stres Oksidatif pada Latihan Aerobik Sesaat. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Haryaningsih, Mariany. 2000. Pengaruh Latihan Dengan Treadmill Terhadap Kadar MDA Homogenat dan Perfusat Jantung Tikus (*Rattus norvegicus*) In Situ yang Diperlakukan Iskemia-Referfusi dengan Preparasi Langendorff. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- Heyward, Vivian H. 1997. Advanced Fitness Assesment and Exercise Prescription (3th Ed.). USA: Human Kinetics.
- Higgins, J.E. & Kleinbaun A.P. 1985. Determining Sample Size in Introduction to Randomized Clinical Trial. (Higgins JE eds). Family Health International.

- Inal, Mine., Akyuz, Fahrettin., Turgut, Akin & Getsfrid, M.Wade. 2001. Effect of Aerobic and Anaerobic Metabolism on Free Radical Generation Swimmers. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, (Online), Vol.33, No.4, April 2001, (http://www.discoverfitness.com/Research_Updates/Effect%20of.html, diakses 16 Juni 2004).
- Indah F, Ellys. 2001. Pengaruh Rumput Laut (*Euchema Spinosum*) Terhadap Aktivitas Radikal Bebas Pada Hepar Tikus (*Rattus Novergitus Strain Wistar*) yang Mendapat Diet Kolesterol Tinggi. Tugas Akhir tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Janssen Peter GJM, 1987. Training Lactate Pulse Rate. *Oule Finland : Polar Electro Oy*, pp 26, 51-53, 57-58.
- Jenkins, R.R., Krause, K. & Schofield, L.S. 1993. Influence of Exercise on Clearance of Oxidant Stres and Activation of Caspases in Rat Thymocytes. *Medical Science of Sports Exercise*, 25: 213-217.
- Jewett, S.L., L.J. Eddy & P. Hochstein. 1989. Is The Autoxidation of Catecholamines Involved In Ischemia-Reperfusion Injury? *Free Radical Biological Medicine*, 6: 185-188.
- Ji, Li, Li. 1996. Exercise, Oxidative Stress, and Antioksidants. *The American Journal of Sports Medicine*, 24(6): 20S-24S.
- Kent, Michael. 1994. *The Oxford Dictionary of Sports Science And Medicine*. New York: Oxford University Press.
- Khataria, Ratnaeni, Yuga. 2001. Pengaruh Pemberian Dekok dan Instan Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) Terhadap Kadar Malondialdehyde (MDA) Pada Serum, Paru, dan Hepar Tikus Wistar yang Dipapar Asap Rokok Kretek Subakut. Tugas Akhir tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Kraemer, William J. 2003. *Strength Training Basics. The Physician and Sportsmedicine*, 31(8). (Online), (<http://www.physsportsmed.com/issues/2003/0803/kraemer.htm>, diakses 17 April 2005).
- Kumaidah E. 2002. Pengaruh Pemulihan Aktif Dengan Bersepeda dan Naik turun Bangku Terhadap Penurunan Kadar Laktat Darah. Tesis. Program Pascasarjana Universitas Airlangga.
- Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Deitrick RW. 1991. The Exercise-Induced Oxidative Stress Paradox: The Effects of Physical Exercise Training. *Am Med Sci* 317 :295 –300, .
- Leeuwenburgh, C. & Heinecke, J.W. 2001. Oxidative Stress and Antioxidants in Exercise. *Journal of Medicinal Chemistry*, 8 (7): 829-838.

- Marks, Allan D., Marks, Dawn B. & Smith, Collen M. 1996. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Terjemahan oleh Brahm U. Pedit. 2000. Jakarta: EGC.
- Mayes PA, 1985. *Harper's Biochemistry*, 25th edition. Edited by : Murray RK, Graner DK, Mayes PA, Rodwell VW. New York : McGraw-Hill, pp 149-159, 173,177
- McArdle, William D, Katch, Frank I. & Katch, Victor L. 2001. *Exercise Physiology: Energy, Nutrition, and Human Performance*. Philadelphia etc: Lippincott Williams and Wilkins.
- McBride, Jeffrey M & Kraemer, William J. 1999. Free Radicals, Exercise, and Antioxidants. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 13(2): 175-183.
- McGovern P, Dowd B, Gjerdingen D, Moscovice I, Kochevar L, Lohman W. 1997. Time of Work and the Postpartum Health of Employed Women. *Med Care.*;
- Melvins H. William, *Nutrition for Fitness and Sport*, Iowa: Wm. C. Brown Publishers, 1991, p. 25.1
- Mohhebbi, H. Azizi H. 2011. Maximal Fat Oxidation at the Different Exercise Intensity in Obese and Normal Weight Men in the Morning and Evening. Faculty of Education. University of Alicante. *Journal of Human Sport & Exercise* 1988-5202.
- Niess, A.M., H.H. Dickhuth, H. Northoff & E. Fehrenbach. 1999. Free Radicals and Oxidative Stress in Exercise Immunological Aspects. *Exercise Immunology Review*, 5: 22-56.
- Nossek J, 1992. *General Theory of Training*. Logos : National Institute for Sport, Pan African Press. Ltd. Hal:9-11
- Parks, D.A. & Granger, D.N. 1986. Xanthine Oxidase: Biochemistry, Distribution and Physiology. *Acta Physiol Scand Suppl*, 548: 87-99.
- Patellongi, Ilhamjaya & Badriah, Laelatul, Dewi. 2003. Pengaruh Intensitas Latihan Fisik Terhadap Kerusakan Jaringan. *Jurnal IPTEK Olahraga*, 5(1): 1-19.
- Pidcock J., 2001. Carbohydrate Protection Against Muscle Damage. Last Modified: December, 01, 2004, (onLine), (<http://www.worldclimbing.com>, diakses 22 Maret 2008)

- Sen, Chandan K. 1995. Oxidants and Antioxidants in Exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79(3): 675-686.
- Setijowati, N., Sujudi, H., Astuti, T. & Widodo, Aris. 1998. Pengaruh Radikal Bebas dan Vitamin E Terhadap Jumlah Circulating Endotel Pada Darah Tikus Yang Dipapar Asap Rokok Kretek Secara Kronik. *Majalah Kedokteran Unibraw*, XIV(3): 94-99.
- Sjodin, Bertil., Westing, Hellsten, Ylva. & Apple, Fred S. 1990. Biochemical Mechanisms for Oxygen Free Radical Formation During Exercise. *Sports Medicine*, 10(4): 236-254.
- Soekarman. 1991. Energi dan Sistem Energi Predominan Pada Olahraga. Jakarta: KONI.
- Spencer, S.S., 1994. Principles of Surgery (6th edition). McGraw Hill, Inc. Health Provesion Division.
- Sugiharto. 2000. Pembentukan Radikal Bebas Oksigen Dalam Aktivitas Fisik. *Lab Jurnal Ilmu Keolahraagaan dan Pendidikan Jasmani*, 10(1): 22-32.
- Sugiharto. 2003. Adaptasi Fisiologis Tubuh Terhadap Dosis Latihan Fisik. Makalah disajikan dalam pelatihan senam aerobik. *Jurnal Laboratorium Ilmu keolahraagaan*. Universitas Negeri Malang.
- Supriadi. 2000. Pengaruh Latihan Aerobik dan Anaerobik Terhadap Luas Penampang Serabut Otot Merah (Slow Twitch) dan Otot Putih (Fast Twitch) Pada Tikus Wistar. Tesis tidak diterbitkan. Surabaya: Program Pasca Sarjana UNAIR.
- Venom 2007. Active Recovery – A Three Fold Breakdown. Venom@bcbodbuilding.com
- Wicaksono, Himawan. 2001. Efek Pemberian Kombinasi Klorokuin dan Asam Askorbat Terhadap Aktivitas Radikal Bebas Jaringan Hepar, dan Lien Mencit Balb/c yang Diinfeksi Plasmodium Berghei. Tugas Akhir tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Widodo JP. Poernomo H. Machfud MH, 1993. Metode Penelitian dan Statistik Terapan, Surabaya, Airlangga University Press, hal 57-58.
- Wikipedia, 2011. The Free Encyclopedia (Online), ([http://en.wikipedia.org/wiki/Wikipedia: Manual of Style](http://en.wikipedia.org/wiki/Wikipedia:Manual_of_Style), diakses 22 Maret 2011)
- Willmore JH & Costill DL, 2008. **Physiology of Sport and Exercise**. USA : Human Kinetics, pp 216-236.

- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Wirahadikusumah, Muhamad. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Bandung: Penerbit ITB Bandung.
- Yunus, Moch. 2000. *Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kerusakan Membran Sel Eritrosit Tikus Wistar Yang Mendapat Latihan Anaerobik*. Usulan Penelitian tidak diterbitkan. Surabaya: Program Pasca Sarjana UNAIR.
- Zainuddin, Muhamad. 2000. *Metodologi Penelitian*. Surabaya: Pasca Sarjana Unair.

Lampiran 1 :

107



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 037/EC/KEPK/FKUA/2011

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

Perbandingan Pengaruh Latihan Fisik Submaksimal Sesi Pagi dan Sesi Sore Hari Terhadap Derajat Stres Oksidatif

PENELITI UTAMA :

Indra Himawan Susanto

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

**Achilles Sport Science and Fitness Center Universitas Negeri Surabaya, dan
Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga**

DINYATAKAN LAIK ETIK.



Surabaya, 26 September 2011

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Indra Himawan Susanto'.



UNIVERSITAS AIRLANGGA

FAKULTAS KEDOKTERAN

Kampus A, Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp. 031-5020251, 5030252
Faks. 031-5022472 Website : <http://www.fk.unair.ac.id> E-mail : dekan@fk.unair.ac.id

No. : 2900/H3.1.1/PPd.17/2011
Lamp. : -
Hal : Ijin penelitian

Surabaya, 2 Agustus 2011

Kepada Yth,
Rektor
Universitas Negeri Surabaya
Surabaya

Sehubungan dengan rencana penelitian tesis mahasiswa Program Studi Magister Fakultas Kedokteran Universitas
Airlangga :

Nama	: Indra Himawan Susanto
NIM.	: 010945006
Program Studi	: Ilmu Kesehatan Olahraga
Judul penelitian	: Perbedaan Pengaruh Latihan Fisik Submaksimal Sesi Pagi dan Sesi Sore Hari Terhadap Derajat Stres Oksidatif

dengan ini kami mohon bantuan Saudara untuk memberikan ijin bagi mahasiswa tersebut untuk dapat melakukan penelitian tesis di :

Laboratorium Olahraga ASSFC UNESA

Demikian atas bantuan Saudara, kami sampaikan terima kasih.



Dekan,

Prof. Dr. Agung Pranoto, dr., M.Kes., Sp.PD.K-EMD.FINASIM
NIP. 195601041983121001

Tembusan disampaikan kepada Yth :
- Ketua Laboratorium Olahraga ASSFC UNESA
- Yang bersangkutan

Nomor : 26/ASSFC-UNESA/VIII/2011

Lamp : -

Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.

Dekan Ilmu Kesehatan Olahraga

Universitas Airlangga

Di –

Surabaya

Dengan hormat,

Berdasarkan surat saudara nomor: 2900/H3.1.1/PPd.17/2011 tanggal 2 Agustus 2011 perihal ijin penelitian tesis atas nama:

Nama : Indra Himawan Susanto

NIM : 010945006

Program Studi : Ilmu Kesehatan Olahraga - Universitas Airlangga

Judul Penelitian : Perbedaan Pengaruh Latihan Fisik Submaksimal Sesi Pagi dan Sesi Sore Hari Terhadap Derajat Stres Oksidatif

Telah melakukan penelitian di laboratorium olahraga di Achilles Sport Science and Fitness Center Unesa.

Demikian surat ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 12 Agustus 2011

Wakil Manager ASSFC UNESA



Dr. Oce Wiriawan, M. Kes.

NIP. 197305291998031001

Tembusan:

- Direktur ASSFC UNESA
- Arsip

Lampiran 4**PERHITUNGAN BESAR SAMPEL**

Berdasarkan pada rumus Higgins dan Kleinbaum (1985), digunakan pada penelitian serupa yang dilakukan oleh Andiana (2008) :

Rumus :

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot SD^2}{(Xc - Xt)^2}$$

Dimana :

- n = Jumlah subyek penelitian
- Xt = Rata-rata kelompok eksperimen
- Xc = Rata-rata kelompok kontrol
- SD = Simpang baku yang memiliki koefisien varian terbesar diantara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.
- f = Proporsi kegagalan
- Z α = Devisiasi standart $\alpha = 0,05$ satu arah = 1,65
- Z β = Devisiasi standart $\beta = 0,1$ satu arah = 1,28

Dengan nilai rerata dan simpangan baku untuk aktivitas enzim SOD eritrosit adalah sebagai berikut:

Xc (rerata SOD eritrosit kelompok kontrol)	= 150,27
Xt (rerata SOD eritrosit kelompok eksperimen)	= 125,33
Sc (simpangan baku kelompok kontrol)	= 12,97
f (proporsi kegagalan 20 %)	= 0,2

Sedangkan nilai rerata simpangan baku untuk kadar Mda plasma adalah sebagai berikut:

Xc (rerata MDA plasma kelompok kontrol)	= 8,54
Xt (rerata MDA plasma kelompok eksperimen)	= 7,83
Sc (simpangan baku kelompok kontrol)	= 0,36
f (proporsi kegagalan 20 %)	= 0,2

a. Hasil perhitungan untuk variabel aktivitas enzim SOD eritrosit adalah:

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot SD^2}{(Xc - Xt)^2}$$

$$n = \frac{1}{1-0,2} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 25,93804^2}{(200,0209 - 249,5449)^2}$$

$$n = \frac{1}{0.8} \times \frac{20,9952 \cdot 672,78191904}{(-49,524)^2}$$

$$n = 1,25 \times \frac{14125,190946628}{2452,626576}$$

$$n = 1,25 \times 5,7592097732$$

$$n = 7,199012216508$$

$$n = 8$$

b. Hasil perhitungan untuk variable kadar MDA plasma adalah:

$$n = \frac{1}{1-f} \times \frac{2(Z\alpha + Z\beta)^2 \cdot Sc^2}{(Xc - Xt)^2}$$

$$n = \frac{1}{1-0,2} \times \frac{2(1,65 + 1,28)^2 \cdot 1,06627^2}{(4,8892 - 5,5565)^2}$$

$$n = \frac{1}{0.8} \times \frac{20,9952 \cdot 1,0729555129}{(-0,6673)^2}$$

$$n = 1,25 \times 5,058939$$

$$n = 6,323674$$

$$n = 7$$

Lampiran 5**PENJELASAN UNTUK MENDAPAT PERSETUJUAN
(Information for consent)****Penjelasan dan informasi yang diberikan antara lain :**

1. Penelitian ini perlu dilakukan untuk mengetahui perbedaan pengaruh latihan fisik submaksimal sesi pagi dengan sesi sore hari terhadap derajat stres oksidatif.
2. Subyek diikutsertakan dalam penelitian karena bermanfaat/penting bagi subyek bahwa latihan submaksimal sesi pagi dan sore hari berpengaruh terhadap derajat stres oksidatif
3. Subyek diukur tinggi badan menggunakan *Stadiometer*, berat badan diukur menggunakan timbangan dalam satuan kg, kadar Mda dan Aktivitas Enzim SOD sebelum dan sesudah latihan. Pemeriksaan laboratorium dibantu oleh tim laboratorium Biokimia FK Unair. Pemeriksaan kesehatan oleh petugas medis dari Departemen Faal FK Unair.
4. Pengambilan darah dilakukan 2 kali (sebelum dan sesudah latihan) pada vena mediana cubiti sebesar 3 cc oleh petugas laboratorium Biokimia FK Unair. Pada saat pengambilan darah akan sedikit menimbulkan rasa sakit.
5. Bentuk latihan olahraga dan pengambilan darah ini tidak menimbulkan efek samping, bila terjadi sesuatu pada saat latihan maka semua biaya perawatan menjadi tanggung jawab peneliti.
6. Untuk meminimalkan resiko terjadinya cedera, penelitian ini dipantau oleh 3 orang petugas (1 orang dokter, petugas laboratorium Biokimia Unair, dan petugas laboratorium olahraga ASSFC UNESA).
7. Untuk melindungi subyek penelitian dari risiko mendapatkan perlakuan diskriminatif yang tidak diinginkan dari pihak manapun, semua catatan baik nama, alamat subyek penelitian yang bersifat pribadi dirahasiakan sepenuhnya (*anonymous*).
8. Penelitian ini bersifat bebas dan tanpa paksaan, subyek bebas mengundurkan diri sewaktu-waktu sebagai sampel dari penelitian ini jika merasa dirugikan tanpa adanya sangsi yang memberatkan

Surabaya,.....2011

Pemberi Penjelasan,

(Indra Himawan Susanto)

Lampiran 6

**SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN
SEBAGAI SUBYEK PENELITIAN
(*Informed consent*)**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama :
Umur :
Alamat :
No Telp/Hp :

Dengan ini saya menyatakan bahwa, setelah memperoleh penjelasan sepenuhnya dan menyadari tujuan, manfaat serta risiko yang mungkin timbul dalam penelitian yang berjudul :

“PERBEDAAN PENGARUH LATIHAN FISIK SUBMAKSIMAL PADA SESI PAGI DAN SESI SORE HARI TERHADAP DERAJAT STRES OKSIDATIF “

Dengan sukarela saya setuju untuk diikutsertakan dan bersedia menjadi subyek, dengan catatan bila suatu waktu saya merasa dirugikan dalam bentuk apapun, maka saya akan mengundurkan diri dan membatalkan persetujuan ini tanpa sanksi apapun yang memberatkan saya dikemudian hari.

Surabaya, 2011

Yang membuat pernyataan,

Saksi 1

Saksi 2

(.....)

(.....)

(.....)

Penanggung Jawab Penelitian,

(Indra Himawan Susanto)

Lampiran 7

JADWAL KEGIATAN PENELITIAN

No	KEGIATAN	Bulan																							
		III				IV				V				VI				VII				VIII			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	Studi kepustakaan				■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■					
2.	Pembuatan Proposal					■	■	■	■	■															
3.	Konsultasi dan Koreksi Proposal						■	■	■	■	■														
4.	Persiapan Ujian Proposal									■	■	■													
5.	Ujian Proposal											■													
6.	Persiapan Penelitian													■											
7.	Pelaksanaan penelitian														■	■									
8.	Pembahasan Hasil dan Konsultasi															■	■								
9.	Persiapan Ujian																■								
10.	Ujian Tesis																	■							
11.	Perbaikan dan Penyerahan tesis																		■	■					

Data Mentah Penelitian

No	Umur	TB (cm)	BB (kg)	Denyut	Denyut	MDA PLASMA (nmol/ml)				SOD ERITROSIT (%)			
				Nadi awal	Nadi awal	Pagi		Sore		Pagi		Sore	
				Pagi hari	Sore hari	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
1	21	180	79	64	76	3,722	5,160	4,441	12,639	81.48	70.37	73.08	69.23
2	21	171	67	60	75	6,023	9,763	6,167	9,763	81.48	74.07	73.08	69.23
3	21	163	56	70	78	4,873	8,900	5,448	9,907	88.89	81.48	84.62	80.77
4	21	163	51	65	80	4,154	7,318	9,475	15,372	88.89	85.19	88.46	84.62
5	21	164	75	67	70	1,709	5,448	4,441	10,769	92.59	88.89	88.46	84.62
6	20	159	47	78	79	4,298	4,585	12,208	16,091	66.67	59.26	65.38	61.54
7	21	158	52	67	69	6,455	10,050	10,194	16,810	92.59	59.26	88.46	88.46
8	20	163	61	70	72	12,639	13,502	6,167	10,913	74.37	70.37	76.92	69.23
	20.75	165.13	61	67.625	74.875	5,484	8,091	7,318	12,783	83.37	73.61	79.81	75.9625

Lampiran : 9

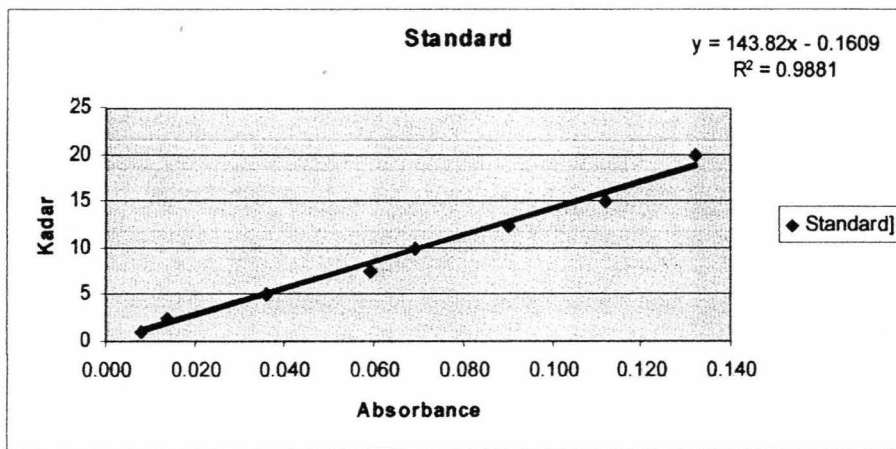


UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN
DEPARTEMEN BIODIAGNOSIS DAN KEDOKTERAN

Kampus A Jl. Mayjen Prof. Dr. Moestopo 47 Surabaya 60131 Telp. 031-5020251, 5030252-3
 ext 139,140,177 Faks. 031-5022472
 Website: <http://www.fk.unair.ac.id> – E-mail: biokimia@fk.unair.ac.id

Tabel Hasil Pengamatan pengukuran absorbansi untuk kurva standard MDA

Standard	Absorbance	Kadar MDA
1	0.008	1
2	0.014	2.5
3	0.036	5
4	0.059	7.5
5	0.069	10
6	0.090	12.5
7	0.112	15
8	0.132	20

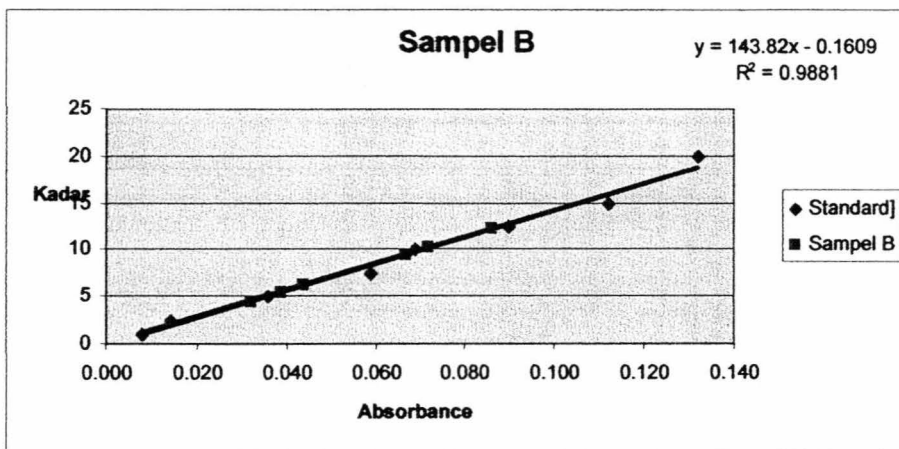


Kurva standard dibuat setelah pengukuran absorbansi sampel untuk mengetahui range absorbansi sampel sehingga dapat ditentukan konsentrasi yang digunakan, yang nilai absorbannya dapat mencakup nilai absorban sampel. Kurva standard yang diperoleh dari persamaan kurva melalui titik nol adalah $y = 143.82x - 0.1609$, $R^2 = 0.9881$

Lampiran : 9

Tabel Hasil Pengamatan pengukuran absorbansi untuk sampel B

Sampel B	Absorbance	Kadar MDA
1	0.032	4.441
2	0.044	6.167
3	0.039	5.448
4	0.067	9.475
5	0.032	4.441
6	0.086	12.208
7	0.072	10.194
8	0.044	6.167

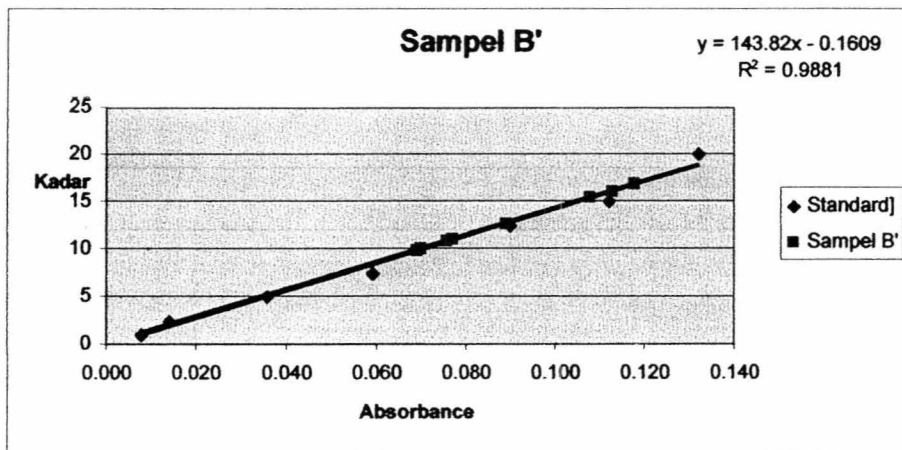


Gambar kurva kadar sampel B

Lampiran : 9

Tabel Hasil Pengamatan pengukuran absorbansi untuk kurva sampel B'

Sampel B'	Absorbance	Kadar MDA
1	0.089	12.639
2	0.069	9.763
3	0.070	9.907
4	0.108	15.372
5	0.076	10.769
6	0.113	16.091
7	0.118	16.810
8	0.077	10.913

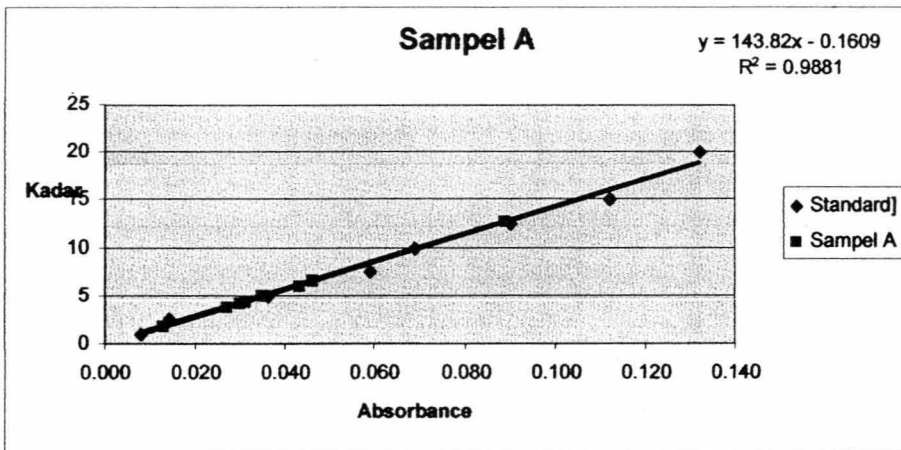


Gambar kurva kadar sampel B'

Lampiran : 9

Tabel Hasil Pengamatan pengukuran absorbansi untuk kurva sampel A

Sampel A	Absorbance	Kadar MDA
1	0.027	3.722
2	0.043	6.023
3	0.035	4.873
4	0.030	4.154
5	0.013	1.709
6	0.031	4.298
7	0.046	6.455
8	0.089	12.639

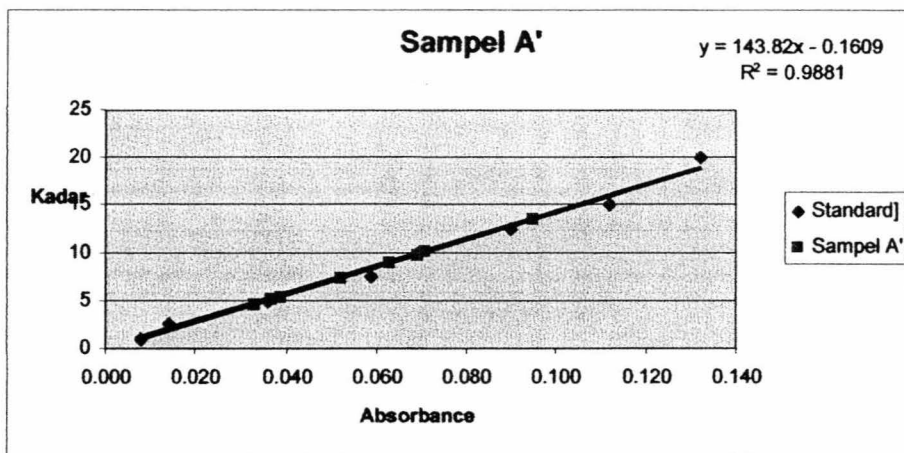


Gambar kurva kadar sampel A

Lampiran : 9

Tabel Hasil Pengamatan pengukuran absorbansi untuk kurva sampel A'

Sampel A'	Absorbance	Kadar MDA
1	0.037	5.160
2	0.069	9.763
3	0.063	8.900
4	0.052	7.318
5	0.039	5.448
6	0.033	4.585
7	0.071	10.050
8	0.095	13.502



Gambar kurva kadar sampel A'

ore

	Negative control
1	0.096
2	0.098
3	0.100
4	0.104
5	0.107
6	0.109
7	0.113
8	0.117
9	0.119
10	0.121
11	0.122
A	0.026
$\sqrt{5}$	0.0052

s	Absorban Sample B							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.239	0.243	0.255	0.232	0.223	0.211	0.202	0.153
2	0.239	0.245	0.255	0.232	0.223	0.211	0.202	0.153
3	0.241	0.245	0.255	0.234	0.224	0.213	0.203	0.154
4	0.241	0.247	0.257	0.234	0.225	0.215	0.202	0.156
5	0.241	0.247	0.256	0.233	0.224	0.216	0.204	0.156
6	0.243	0.247	0.256	0.233	0.225	0.216	0.203	0.157
7	0.244	0.248	0.257	0.235	0.225	0.217	0.203	0.157
8	0.244	0.248	0.258	0.235	0.224	0.219	0.204	0.158
9	0.245	0.249	0.259	0.236	0.225	0.219	0.205	0.159
10	0.246	0.248	0.259	0.235	0.226	0.220	0.205	0.159
11	0.246	0.250	0.259	0.235	0.226	0.220	0.205	0.159
A	0.007	0.007	0.004	0.003	0.003	0.009	0.003	0.006
$\sqrt{5}$	0.0014	0.0014	0.0008	0.0006	0.0006	0.0018	0.0006	0.0012

s	Absorban Sample B'							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.237	0.217	0.246	0.221	0.230	0.196	0.215	0.183
2	0.237	0.218	0.246	0.221	0.230	0.196	0.015	0.185
3	0.239	0.22	0.247	0.221	0.231	0.198	0.216	0.185
4	0.239	0.22	0.248	0.222	0.231	0.199	0.216	0.187
5	0.239	0.221	0.248	0.223	0.232	0.199	0.215	0.187
6	0.241	0.223	0.249	0.223	0.233	0.201	0.216	0.189
7	0.242	0.224	0.248	0.224	0.233	0.203	0.217	0.189
8	0.242	0.223	0.249	0.225	0.233	0.204	0.217	0.190
9	0.243	0.224	0.25	0.224	0.234	0.205	0.218	0.191
10	0.244	0.225	0.25	0.226	0.234	0.205	0.218	0.191
11	0.245	0.225	0.251	0.225	0.234	0.206	0.218	0.191
	0.008	0.008	0.005	0.004	0.004	0.01	0.003	0.008
/5	0.0016	0.0016	0.001	0.0008	0.0008	0.002	0.0006	0.0016

adar SOD	1	2	3	4	5	6	7	8
	73.08%	73.08%	84.62%	88.46%	88.46%	65.38%	88.46%	76.92%
	69.23%	69.23%	80.77%	84.62%	84.62%	61.54%	88.46%	69.23%

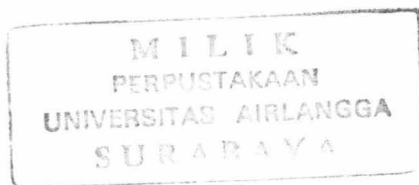
agi

	Negative control
1	0.094
2	0.097
3	0.101
4	0.104
5	0.107
6	0.109
7	0.112
8	0.114
9	0.116
10	0.119
11	0.121
	0.027
/5	0.0054

s	Absorban Sample A							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.246	0.250	0.261	0.270	0.225	0.210	0.204	0.185
2	0.246	0.250	0.261	0.271	0.227	0.210	0.204	0.187
3	0.247	0.251	0.261	0.269	0.226	0.212	0.204	0.187
4	0.248	0.251	0.262	0.270	0.225	0.213	0.204	0.188
5	0.248	0.252	0.263	0.271	0.227	0.212	0.205	0.188
6	0.249	0.252	0.262	0.271	0.228	0.215	0.205	0.188
7	0.249	0.253	0.264	0.272	0.228	0.215	0.204	0.189
8	0.250	0.253	0.264	0.272	0.227	0.214	0.205	0.190
9	0.250	0.254	0.265	0.271	0.227	0.216	0.206	0.191
10	0.251	0.255	0.264	0.273	0.227	0.216	0.206	0.192
11	0.251	0.255	0.264	0.273	0.227	0.219	0.206	0.192
	0.005	0.005	0.003	0.003	0.002	0.009	0.002	0.007
5	0.001	0.001	0.0006	0.0006	0.0004	0.0018	0.0004	0.0014

s	Absorban Sample A'							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1	0.245	0.221	0.250	0.255	0.231	0.198	0.215	0.158
2	0.245	0.221	0.251	0.256	0.229	0.200	0.217	0.158
3	0.247	0.223	0.251	0.255	0.229	0.201	0.219	0.159
4	0.248	0.223	0.253	0.256	0.265	0.202	0.221	0.160
5	0.249	0.224	0.253	0.257	0.230	0.203	0.222	0.161
6	0.249	0.225	0.253	0.257	0.231	0.204	0.222	0.162
7	0.250	0.226	0.254	0.258	0.231	0.206	0.223	0.161
8	0.251	0.226	0.255	0.258	0.232	0.207	0.224	0.162
9	0.252	0.227	0.254	0.259	0.233	0.208	0.225	0.164
10	0.252	0.229	0.255	0.259	0.233	0.209	0.225	0.165
11	0.253	0.228	0.255	0.259	0.234	0.209	0.226	0.166
	0.008	0.007	0.005	0.004	0.003	0.011	0.011	0.008
5	0.0016	0.0014	0.001	0.0008	0.0006	0.0022	0.0022	0.0016

adar SOD	1	2	3	4	5	6	7	8
	81.48%	81.48%	88.89%	88.89%	92.59%	66.67%	92.59%	74.37%
	70.37%	74.07%	81.48%	85.19%	88.89%	59.26%	59.26%	70.37%



Lampiran : 10**A. Metode Penelitian Pengukuran MDA**

Konsentrasi MDA dalam material biologi telah digunakan secara luas sebagai indikator dan kerusakan oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas (Zakaria, 1996). Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radiakl bebas secara langsung sangat sulit dilakukan karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil dan reaksinya pun berlangsung cepat (Halliwell and Gutteridge, 1989).

Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan pereaksi thiobarbituric acid (TBA) dengan melalui reaksi dengan penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA – TBA (Conti *et al.*, 1991). Senyawa ini berwarna merah jambu yang dapat diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Senyawa 1,1,3,3-tetraetoksipropana atau malondialdehyde terebutylammonium salt digunakan dalam pembuatan kurva standard karena 1,1,3,3-tetraetoksipropana dapat dioksidasi dalam suasana asam menjadi senyawa aldehid yang dapat bereaksi dengan TBA (Conti *et al.*, 1991). Walaupun metoda ini tidak spesifik namun metoda ini diterima sebagai petanda (marker) peroksidasi lemak dari banyak peneliti (Finand, 2006)

Prosedur pemeriksaan MDA:

1. Timbang 1 gram sampel.
2. Selanjutnya ditambah 9 ml larutan PBS dingin, lalu digerus.
3. Disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
4. Setelah itu diambil 4 ml supernatan
5. Kemudian supernatan tersebut ditambah 1 ml larutan TCA 15%
6. Selanjutnya diberikan 1 ml larutan TBA 0,37% dalam HCl 0,25 N
7. Setelah itu dipanaskan dalam waterbath 80° C selama 15 menit.
8. Kemudian didinginkan pada suhu ruang selama 60 menit.
9. Setelah didinginkan disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit.
10. Kemudian mengukur absorbansi supernatan MDA sampel pada spektrofotometer dengan $\lambda = 532$ nm.
11. Dihitung kadar MDA dengan menggunakan persamaan garis regresi dari kurva standar (baku) larutan MDA

Lampiran : 10**B. Pemeriksaan aktivitas enzim SOD eritrosit**

1. Persiapan Reagent

- a) WST working solution : campurkan 1 ml WST solution dengan 19 ml SOD assay buffer solution (bisa bertahan 2 bulan dalam suhu 4° C)
- b) Enzim Working Solution : sentrifuse SOD ezyme solution selama 5 detik (penting karena SOD ezyme solution berupa cairan dengan dua lapis dan harus dicampurkan sebelum digunakan, campurkan 15 µl SOD ezyme solution dengan 2.5 ml SOD dilution buffer (bisa bertahan dalam suhu 4°C)

2. Persiapan Subyek Darah

- a) Darah subyek penelitian dikumpulkan dengan mempergunakan citrate/EDTA
- b) Centrifuse 1000 G selama 10 menit dalam suhu 4 °C
- c) Ambil lapisan plasma tanpa mengenai buffy layer kemudian simpan dalam suhu minus 80 °C sampai digunakan
- d) Ambil buffy layer
- e) Campurkan lagi eritrosit dengan 5x ice cold destilated water
- f) Sentrifugasi 10.000 G selama 10 menit
- g) Ambil lapisan supernatant kemudian simpan dalam suhu minus 80°C sampai dipergunakan

3. Prosedur pemeriksaan SOD

- a) Tambahkan 20 µl larutan subyek pada cuvet subyek dan cuvet blank 2
- b) Tambahkan 20 µl H₂O pada cuvet blank 1 dan blank 3
- c) Tambahkan 200 µl WST working solution pada tiap cuvet (cuvet subyek, cuvet blank 1, cuvet blank 2, cuvet blank 3)

Lampiran : 10

- d) Tambahkan 20 µl dilution buffer pada cuvet blank 2 dan cuvet blank 3
- e) Tambahkan 20 µl enzyme working solution pada cuvet subyek
- f) Campur dengan rata, karena superoxide akan dilepaskan segera setelah penambahan enzyme working solution maka gunakan multiple pipet untuk menghindari jeda waktu yang akan berpengaruh terhadap hasil.
- g) Inkubasi plates pada suhu 37°C selama 20 menit
- h) Baca absorbansi pada gelombang 450nm dengan mempergunakan microplate reader
- i) Hitung aktifitas SOD (presentase inhibisi) dengan mempergunakan rumus sebagai

$$SOD\ Activity\ (inhibition\ rate\ \%) = \frac{(A_{blank\ 1} - A_{blank\ 3}) - (A_{sample} - A_{blank\ 2})}{(A_{blank\ 1} - A_{blank\ 2})} \times 100$$

- j) Larutan yang disediakan dalam KIT : Kit Contents

Component	K335-100	Color Code	Parts
	100 assays	Cap Color	Number
WST Solution	1 ml	Red	K335-100-1
SOD Enzyme Solution	20µl	Green	K335-100-2
SOD Assay Buffer	20 ml	WM	K335-100-3
SOD Dilution Buffer	10ml	NM	K335-100-4

- k) Skematik penambahan campuran pada tiap – tiap cuvet

	Subyek	Blank 1	Blank 2	Blank 3
Subyek Solution	20µl		20µl	
ddH ₂ O		20µl		20µl
WST WORKING Solution	20µl	20µl	20µl	20µl
Enzyme Working Solution	20µl	20µl		
Dilution Buffer			20µl	20µl

LAMPIRAN 11 : HASIL ANALISIS STATISTIK**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MDA pagi pre	MDA pagi post
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5.4841	8.0908
	Std. Deviation	3.23665	3.04801
Most Extreme Differences	Absolute	.257	.182
	Positive	.257	.182
	Negative	-.168	-.125
Kolmogorov-Smirnov Z		.727	.515
Asymp. Sig. (2-tailed)		.666	.954

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests**T-Test****Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MDA pagi post	8.0908	8	3.04801	1.07763
	MDA pagi pre	5.4841	8	3.23665	1.14433

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MDA pagi post - MDA pagi pre	2.60663	1.49563	.52879	1.35625	3.85700	4.929	7	.002

NPar Tests**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		MDA sore pre	MDA sore post
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.3176	12.7830
	Std. Deviation	2.91638	2.89897
Most Extreme Differences	Absolute	.278	.241
	Positive	.278	.241
	Negative	-.162	-.189
Kolmogorov-Smirnov Z		.787	.680
Asymp. Sig. (2-tailed)		.565	.744

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MDA sore post	12.7830	8	2.89897	1.02494
	MDA sore pre	7.3176	8	2.91638	1.03110

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MDA sore post - MDA sore pre	5.46538	1.56982	.55502	4.15297	6.77778	9.847	7	.000

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SOD pagi pre	SOD pagi post
N		8	8
Normal Parameters a,b	Mean	83.3700	73.6113
	Std. Deviation	9.24269	11.10060
Most Extreme Differences	Absolute	.225	.152
	Positive	.159	.152
	Negative	-.225	-.136
Kolmogorov-Smirnov Z		.636	.430
Asymp. Sig. (2-tailed)		.813	.993

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MDA pagi post	8.0908	8	3.04801	1.07763
	MDA pagi pre	5.4841	8	3.23665	1.14433

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MDA pagi post - MDA pagi pre	2.60663	1.49563	.52879	1.35625	3.85700	4.929	7	.002

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		SOD sore pre	SOD sore post
N		8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	79.8075	75.9625
	Std. Deviation	8.90238	9.80665
Most Extreme Differences	Absolute	.209	.254
	Positive	.166	.254
	Negative	-.209	-.188
Kolmogorov-Smirnov Z		.592	.718
Asymp. Sig. (2-tailed)		.874	.681

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MDA sore post	12.7830	8	2.89897	1.02494
	MDA sore pre	7.3176	8	2.91638	1.03110

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MDA sore post - MDA sore pre	5.46538	1.56982	.55502	4.15297	6.77778	9.847	7	.000

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	MDAsore	5.4654	8	1.56982	.55502
	MDApagi	2.6066	8	1.49563	.52879
Pair 2	SODsore	-3.8450	8	2.05524	.72664
	SODpagi	-9.7588	8	9.86016	3.48609

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	MDAsore - MDApagi	2.85875	2.13250	.75395	1.07594	4.64156	3.792	7	.007
Pair 2	SODsore - SODpagi	5.91375	11.56080	4.08736	-3.75132	15.57882	1.447	7	.191

T-Test

Group Statistics

	Waktu	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
MDA	Pagi	8	2.6066	1.49563	.52879
	Sore	8	5.4654	1.56982	.55502
SOD	Pagi	8	-9.7588	9.86016	3.48609
	Sore	8	-3.8450	2.05524	.72664

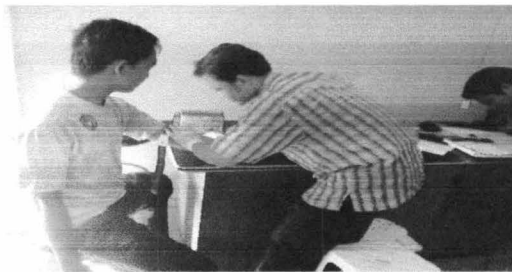
Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
MDA	Equal variances assumed	.002	.967	-3.729	14	.002	-2.85875	.76659	-4.50292	-1.21458
	Equal variances not assumed			-3.729	13.967	.002	-2.85875	.76659	-4.50328	-1.21422
SOD	Equal variances assumed	3.960	.066	-1.661	14	.119	-5.91375	3.56102	-13.55138	1.72388
	Equal variances not assumed			-1.661	7.607	.137	-5.91375	3.56102	-14.19989	2.37239

Lampiran 12 : Dokumentasi Penelitian



Gambar : Pemeriksaan Heart Rate



Gambar : Proses pengambilan sampel darah



Gambar: Proses pelaksanaan latihan submaksimal