

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Latihan Fisik**

##### **2.1.1. Pengertian latihan fisik**

Latihan merupakan suatu aktivitas fisik yang direncanakan, dan memiliki tujuan untuk meningkatkan kebugaran atau menjaga kebugaran tubuh (Powers & Edward, 2007:321). Hal senada juga dikemukakan oleh Bompa (1983:294) bahwa latihan adalah suatu aktivitas olahraga yang sistematis dalam jangka yang lama, progresif dan individual yang bertujuan untuk membentuk fungsi fisiologis dan psikologis manusia untuk memenuhi tugas yang dibutuhkan. Pada prinsipnya latihan adalah memberikan tekanan fisik secara teratur, sistematis, berkesinambungan sehingga dapat meningkatkan kemampuan fisik di dalam melakukan aktivitas (Fox dkk, 1993:69).

##### **2.1.2. Metode latihan fisik**

Ada 2 metode dasar yang digunakan untuk program suatu latihan, yaitu: latihan kontinyu dan latihan interval (Fox dkk, 1993:299).

###### **1) Latihan interval**

Latihan interval adalah suatu sistem latihan yang diselingi oleh interval yang berupa masa istirahat. Jadi, latihan (misalnya lari) – istirahat – latihan – istirahat – latihan dan seterusnya (Harsono, 1988:156). Menurut Wikipedia (2008:1) latihan interval adalah latihan yang dilakukan dengan pengulangan intensitas tinggi dan diikuti oleh periode istirahat/aktivitas rendah. Hal senada juga dikemukakan oleh Fox dkk (1993:300) bahwa latihan interval adalah suatu rangkaian latihan yang berulang dan berganti dengan masa istirahat. Latihan interval ini merupakan program latihan kondisi fisik yang dapat dilaksanakan untuk seluruh cabang olahraga.

Menurut Soekarman (1987:77) latihan interval dibedakan menjadi 2, yaitu: interval kerja (*work interval*) dan interval istirahat (*relief interval*). Interval kerja adalah bagian dari interval training yang terdiri dari kerja yang berat (intensitasnya yang tinggi) seperti lari 100m, sedangkan Interval istirahat adalah bagian dari interval training di mana ada waktu untuk istirahat. Maksud dari istirahat ini ialah memberi kesempatan tubuh untuk pulih asal (Soekarman, 1987:77). Interval istirahat ini dibagi menjadi interval istirahat aktif dan pasif. Yang dimaksud istirahat aktif adalah melakukan kegiatan ringan diantara aktivitas yang berat (seperti jogging kecil), sedangkan istirahat pasif adalah tidak melakukan kegiatan yang berat (hanya duduk, atau jalan).

Menurut Rushall (1990:11), latihan interval terbagi menjadi 3, yaitu:

a. *Long Interval Training*

Digunakan untuk olahraga yang mengembangkan sistem energi aerobik sebagai energi utama, dengan bentuk latihan sebagai berikut:

- Durasi kerja : 2 – 5 menit
- Intensitas kerja : 75 – 80 % dari kerja terbaiknya
- Durasi pemulihan : 2 – 8 menit
- Ratio kerja dan istirahat : 1:1 sampai 1:2
- Banyaknya pengulangan : 2 sampai 12 kali ulangan

b. *Intermediate Interval Training*

Digunakan untuk pengembangan latihan yang menggunakan sistem energi aerobik dan anaerobik, baik ketahanan aerobik maupun ketahanan anaerobik. Dengan bentuk latihan sebagai berikut:

- Durasi kerja : 30 detik – 2 menit
- Intensitas kerja : 90 – 95 % dari kerja terbaiknya
- Durasi pemulihan : 2 – 6 menit

Ratio kerja dan istirahat : 1:2 sampai 1:3

Banyaknya pengulangan : 3 sampai 12 kali ulangan

c. *Short Interval Training*

Digunakan untuk pengembangan ATP-PC sebagai sistem energi utama, khususnya untuk kekuatan otot (*muscular power*) yang tinggi. Dengan bentuk latihan sebagai berikut:

Durasi kerja : 5 – 30 detik

Intensitas kerja : > 95 % dari kerja terbaiknya

Durasi pemulihan : 15 – 150 detik

Ratio kerja dan istirahat : 1:3 sampai 1:5

Banyaknya pengulangan : 5 sampai 20 kali ulangan

Fox dkk (1993:299) menegaskan bahwa latihan interval ini mempunyai manfaat yang lebih baik dibandingkan dengan metode latihan lainnya dalam meningkatkan kondisi fisik. Manfaat tersebut, antara lain:

- a. Dapat mengendalikan dengan tepat beban yang diberikan pada waktu latihan.
- b. Dengan pengamatan sehari-hari secara sistematis mudah mengetahui kemajuan.
- c. Dapat diterapkan dalam semua cabang olahraga.
- d. Dapat menerapkan latihan beban bertambah secara bervariasi dengan dosis yang tepat sehingga latihan tidak membosankan, namun dapat mencapai sasaran.
- e. Energi potensial dapat meningkat lebih cepat dibandingkan metode lainnya.
- f. Tanpa membutuhkan peralatan yang khusus.

Selain itu, latihan interval juga lebih menurunkan kadar glukosa darah (segera setelah latihan) dibandingkan dengan latihan kontinyu (Iswati, 2005:1).

2) Latihan kontinyu

Latihan kontinyu adalah latihan yang dilakukan secara terus menerus tanpa diselingi istirahat, latihan ini paling tepat digunakan untuk meningkatkan daya tahan

(Idionline, 2004:1). Biasanya menggunakan 60-80% dari  $VO_{2max}$  (McArdle, 2001:489). Konsumsi oksigen selama latihan kontinyu berhubungan dengan produksi ATP untuk kontraksi otot yang lebih dominan pada mekanisme aerobik (Fox dkk, 1993:308).

Menurut Tangkudung (2006:50), ciri khas dari metode ini yaitu:

1. Dalam melaksanakan latihan dilakukan dengan intensitas yang konstan
2. Dalam pelaksanaannya memakan waktu yang relatif lama

Efek utama yang ditimbulkan akibat melakukan latihan kontinyu, antara lain: dapat meningkatkan konsumsi oksigen, dapat merubah *low caloric user* menjadi *high caloric user*, dapat memobilisasi dan utilisasi *free fatty acid* (Suharto, 1978:3). Metode latihan kontinyu ini dianjurkan untuk latihan peningkatan daya tahan secara keseluruhan dan mengurangi kelelahan yang berarti. Metode ini akan menimbulkan peningkatan efektivitas kerja organ dalam tubuh. Selain itu juga dapat meningkatkan *self control* atlet pada waktu melakukan latihan yang melelahkan, dan kemampuannya untuk merangsang beberapa kelompok otot yang memegang peranan di dalam pelaksanaan latihan cabang olahraga (Tangkudung, 2006:50). Karena latihan kontinyu ini memiliki durasi latihan yang lebih lama, dan panjang memungkinkan terjadinya kejenuhan pada atlet (Nasution, 2002:41).

### **2.1.3. Penentuan dosis beban latihan**

Penentuan dosis latihan adalah menetapkan tentang ukuran beban latihan yang harus dilakukan oleh atlet untuk jangka waktu tertentu. Adaptasi fisiologis dari suatu program latihan, terutama ditentukan oleh intensitas beban latihan yang overload. Menurut McArdle (2001:478) ada 7 cara berbeda yang digunakan untuk mengukur intensitas latihan secara cepat, antara lain:

1. Energi yang dihabiskan tiap unit waktu (*energy expended per unit time*),  
contoh:  $9 \text{ kcal} \cdot \text{min}^{-1}$  atau  $37,8 \text{ kJ} \cdot \text{min}^{-1}$ .
2. Tingkat energi absolut (*absolute exercise level or power output*).

3. Tingkatan metabolisme relatif yang dinyatakan dalam persentase  $VO_{2\max}$ .
4. *Onset of Blood Lactate (OBLA)*, contoh: 4 mM laktat
5. Denyut jantung saat olahraga atau persentase dari denyut jantung maksimal (*percentage of maximum heart rate*), contoh:  $180 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$  atau  $80\% \text{ HR}_{\max}$
6. Pengukuran metabolisme istirahat (*Multiples of Resting Metabolic Rate*), contoh: 6 METs
7. Penilaian penggunaan beban (*Rating of Perceived Exertion*), contoh: RPE = 14.

Dibawah ini akan dijelaskan secara ringkas tentang metode tersebut:

#### 1) *Energy expended per unit time*

*Energy expended per unit time* berarti sejumlah energi yang dihabiskan untuk melaksanakan suatu aktivitas tiap satuan waktu. Pada umumnya dihitung menurut jumlah oksigen yang dikonsumsi selama melakukan aktivitas (Fox, 1984:24). Menggunakan satuan  $\text{kcal} \cdot \text{min}^{-1}$  atau  $\text{kJ} \cdot \text{min}^{-1}$  (McArdle, 2001:478).

#### 2) *Absolute exercise level or power output*

*Power output* merupakan *work output* yang dinyatakan dalam *power unit* (*work per unit of time*) (Fox dkk, 1993:84). Contoh: *cycle*/putaran pada  $900 \text{ kg} \cdot \text{m} \cdot \text{min}^{-1}$  atau 147 W, yang ditulis dalam rumus:

$$\text{Power} = \frac{\text{Work}}{\text{Time}} \quad \text{atau} \quad \text{Power} = \frac{(F \times D)}{t}$$

Keterangan: W = Work (kg-m)

F = Force (kg)

D = Distance (meter)

P = Power (kg-m /min atau watt)

#### 3) *Relative metabolic level*

*Relative metabolic level* adalah tingkatan metabolisme relatif dinyatakan dalam persentase  $VO_{2\max}$  (McArdle, 2001:478).  $VO_{2\max}$  adalah volume oksigen maksimum

yang dikonsumsi oleh tubuh setiap menit ketika melakukan olahraga, juga ketika bernapas dalam air (Powers & Edward, 2007:424). Konsumsi oksigen ini berbanding lurus dengan energi yang dikeluarkan (Seiler, 1996:1). Ketika kita mengukur konsumsi oksigen, secara tidak langsung kita juga mengukur kapasitas aerobik maksimal individu. Persentase  $VO_{2max}$  biasanya digunakan dalam menentukan besar/kecilnya intensitas suatu latihan, sedangkan  $VO_{2max}$  digunakan untuk mengukur kebugaran jantung (Franklin, 2000:107). Dinyatakan dalam rumus:

$$VO_2 = HR \times SV \times (CaO_2 - CvO_2)$$

Dimana :

$VO_2$  = Konsumsi oksigen (mL/minute)

HR = *Heart rate* (beat/minute)

SV = Stroke volume (mL/beat)

$CaO_2 - CvO_2$  = Perbedaan oksigen arteri dan vena (mL oksigen/dL darah)

Besarnya  $VO_{2max}$  ini dipengaruhi oleh umur, berat badan, tinggi badan, jenis kelamin, massa otot, aktivitas, kondisi fisik, dan penyakit (Franklin, 2000:107).

#### 4) OBLA (Onset of Blood Lactate)

Intensitas latihan bisa ditentukan dari ambang laktat (*lactate threshold*) dan permulaan akumulasi laktat darah (*onset of blood lactate acumulation*). Menurut Powers & Edward (2007:59), OBLA didefinisikan sebagai intensitas latihan (atau konsumsi oksigen) ketika kadar laktat darah mencapai 4 milimol per Liter. Beberapa ahli fisiologi olahraga lebih senang menggunakan OBLA sebagai penentu intensitas latihan daripada menggunakan ambang laktat (Wilmore & Costill, 2005:1).

Salahsatu faktor yang dapat menimbulkan kelelahan adalah penumpukan asam laktat. Pembentukan asam laktat akan meningkatkan konsentrasi  $H^+$  dan ion ini akan menghambat terjadinya kontraksi  $H^+$  juga menghambat kerja enzim anaerobik (Soekarman, 1987:38). Asam laktat darah pada latihan kontinyu akan lebih cepat

kembali ke normal daripada latihan interval, hal ini terjadi karena sebagian besar asam laktat dioksidasi melalui sistem aerobik (lebih dari 60%) (Patellongi dkk, 2000:71). Ambang batas anaerobik untuk laktat sebesar 4 mM. Berlatih pada ambang laktat (*lactate threshold*) atau sedikit di atas ambang laktat, merupakan salahsatu latihan yang dapat meningkatkan kapasitas aerobik seseorang (McArdle, 2001:481; Janssen, 1993:167).

#### 5) *Heart rate method*

Setiap latihan biasanya ditentukan dari besarnya denyut jantung yang harus dicapai atau yang biasa dikenal dengan *Target Heart Rate* (THR). Metode ini lebih menekankan pada kemampuan sistem kerja jantung-paru. Contoh:  $180 \text{ b} \cdot \text{min}^{-1}$  atau  $80\% \text{ HR}_{\text{max}}$ . Menurut Soekarman (1987:64) ada dua macam cara untuk menentukan THR, yaitu:

##### 1. Cadangan denyut jantung (*Heart Rate Reserve* = HRR)

$\text{HRR} = \text{denyut jantung maksimal} - \text{denyut jantung istirahat}$

$\text{Target Heart Rate} = 75\% \text{ HRR} + \text{denyut jantung istirahat}$ .

Bila denyut jantung maksimal 220, denyut jantung istirahat 70, maka

$\text{THR} = 75\% (\text{denyut jantung maksimal} - \text{denyut jantung istirahat}) + \text{denyut jantung istirahat}$   
 $= 75/100 \times (220 - 70) + 70 = \pm 180 \text{ per menit}$ .

Jadi pada setiap latihan yang harus dicapai ialah beban yang menaikkan denyut jantung sampai 180. kalau terlatih maka denyut jantung istirahat akan menurun sehingga HRR meningkat dan THR menjadi berubah sehingga beban latihan juga dapat ditingkatkan.

Contoh: denyut jantung istirahat adalah 50, maka:

$$\text{THR} : 75 / 100 (220 - 50) + 50 = 177$$

## 2. Denyut jantung maksimal (*Maximal Heart Rate*)

Karena denyut jantung itu dipengaruhi oleh umur, maka pengukuran:

$$\text{HR max} = 220 - \text{umur}$$

Untuk olahraga prestasi:

$$\text{Denyut nadi latihan (training zone)} = (80-90) \% \times \text{HR max}$$

Untuk olahraga kesehatan:

$$\text{Denyut nadi latihan (training zone)} = (70-85) \% \times \text{HR max}$$

Apabila dibandingkan THR, HRR dengan HR max maka didapatkan hasil:

**Tabel 2.1. Perbandingan THR, HRR dan HR max**  
(Sumber: Soekarman, 1987:64)

THR (denyut/menit)	% HRR	%HR max
186	90	93
180	85	90
173	80	87
166	75	83
160	70	80
153	65	76
146	60	73

## 6) MET (metabolic equivalent)

MET adalah salahsatu cara yang digunakan untuk mengukur energi total yang dikeluarkan selama melakukan aktivitas fisik (Mahler dkk, 2004:139). MET merupakan singkatan dari *Metabolic Equivalent* (McArdle, 2001:478). Satu MET didefinisikan sebagai jumlah 3,5 mililiter oksigen yang dikeluarkan tiap satu menit untuk masing-masing kilogram (2,2 pon) berat badan dan ditulis  $1 \text{ MET} = 3,5 \text{ mL/kg} \cdot \text{min}^{-1}$  (Fox dkk, 1993:78; Yarboro, 2006:1).

Dalam beberapa kasus, MET sebanding dengan  $3,5 \text{ mL/kg} \cdot \text{min}^{-1}$  merupakan konstanta yang dapat digunakan pada pria dan wanita, anak laki-laki dan anak perempuan, tua dan muda, orang gemuk dan kurus, dan juga pada orang yang memiliki kesegaran jasmani baik tinggi maupun rendah. Menurut Fox (1993:79) MET bisa digunakan untuk mengklasifikasikan olahraga dengan intensitas yang berbeda, yaitu:



olahraga dengan intensitas ringan ( $< 3$  MET), intensitas optimal ( $< 8$  MET), dan olahraga yang berat ( $> 12$  MET).

### 7) RPE (rating of perceived exertion)

Untuk mengukur intensitas suatu latihan bisa dilihat dari konsumsi oksigen, heart rate, dan asam laktat. Selain itu bisa juga menggunakan RPE, yang merupakan singkatan dari *Rating of Perceived Exertion* (McArdle, 2001:481). RPE adalah derajat/tingkat ketegangan yang dialami saat melakukan pekerjaan fisik berdasarkan metode penilaian beban maksimum (Borg, 1998:1; Mahler dkk, 2004:58). Derajat ketegangan fisik ini diukur dari beberapa sumber, yaitu *cardiorespiratory system*, *musculoskeletal system*, *mechano*, *thermal* (berhubungan dengan panas tubuh), *chemo receptors* dan juga faktor psikologi (seperti: motivasi, program latihan, kebencian). Skala RPE ini dapat digunakan dalam berbagai macam bidang, seperti: ergonomik, rehabilitasi/klinis, program latihan/atlit, dan juga untuk mengukur mental *workload* (Borg, 1998:1). Skala Borg dapat dilihat pada tabel 2.2.

**Tabel 2.2. Skala RPE (*Rating of Perceived Exertion*) Borg  
(Sumber: Borg, 1998:1)**

RPE Scale	Equivalent % HRmax	Exercise Intensity % VO2max
6		
7 Very Very Light		
8		
9 Very Light	52-66	31-50
10		
11 Fairly Light		
12	61-85	51-75
13 Somewhat hard		
14	86-91	76-85
15 Hard		
16	92	85
17 Very Hard		
18		
19 Very Very Hard		

RPE secara efektif dapat menetapkan dan mengatur satu dosis latihan untuk intensitas yang sesuai dengan konsentrasi laktat darah. Misalnya 2,5 mM laktat (RPE  $\approx$  15), dan 4,0 mM laktat (RPE  $\approx$  18). Setiap individu akan lebih mudah dan cepat mempelajari metode RPE ini (McArdle, 2001:481).

## **2.2. Respon latihan fisik**

McArdle (2001:22) menyebutkan bahwa ada dua istilah latihan yang kita kenal yaitu *acute exercise* dan *chronic exercise*. *Acute exercise* adalah latihan yang dilakukan hanya sekali saja atau disebut juga dengan *exercise*, sedangkan *chronic exercise* adalah latihan yang dilakukan secara berulang-ulang sampai beberapa hari/sampai beberapa bulan (*training*). Hal yang perlu diperhatikan, dengan melakukan *training* (pelatihan/program latihan) akan terjadi perubahan di dalam 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 respon. Sedangkan perubahan yang terjadi karena *training* disebut adaptasi.

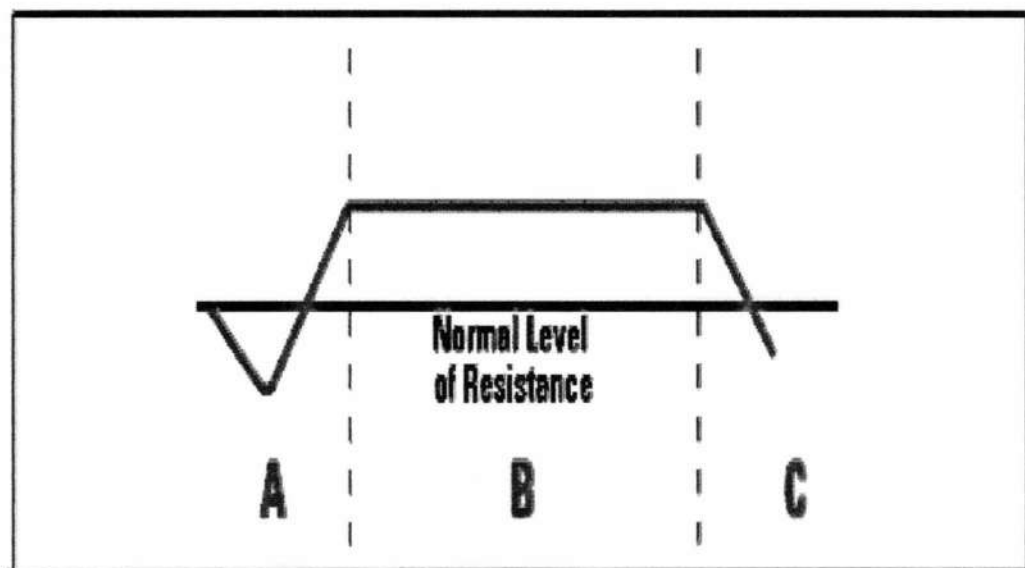
Respon fisik yang tampak menurut *Football Association England* (2006:1), antara lain: denyut jantung berdetak lebih keras dan lebih cepat, bernapas lebih cepat dan dalam, berkeringat, suhu tubuh meningkat, merasa haus, otot-otot terasa berkontraksi.

### **2.2.1. Respon secara umum**

Respon merupakan “jawaban sewaktu” menyebabkan terjadinya perubahan fungsi organ tubuh yang bersifat sementara dan berlangsung tiba-tiba, sebagai akibat dari aktivitas fisik. Perubahan fungsi ini akan hilang dengan segera dan kembali normal setelah aktivitas dihentikan (Sugiharto, 2003:7). Respon tubuh terhadap latihan fisik merupakan usaha tubuh dalam menjaga homeostatis (keseimbangan). Respon diartikan sebagai perubahan yang terjadi pada saat melakukan aktivitas fisik, seperti: peningkatan frekuensi pernapasan, denyut jantung, tekanan darah, yang akan menjadi

normal beberapa saat setelah aktivitas fisik dihentikan (Patellongi, 1999:23). Setiap latihan fisik atau latihan akan menimbulkan respon atau tanggapan dari organ tubuh terhadap dosis/beban latihan yang diberikan, hal ini merupakan usaha penyesuaian diri dalam rangka menjaga keseimbangan lingkungan yang stabil atau bisa disebut juga dengan homeostasis.

Respon adaptasi tubuh terhadap beban latihan olahraga menurut Rushall & Pyke (1990:4) diwujudkan dengan fenomena respon “sindroma adaptasi umum” atau *general adaptation syndrome* (GAS). Teori tentang GAS ini ditemukan oleh Hans De Selye pada tahun 1936, yang mengemukakan bagaimana respon tubuh manusia ketika menghadapi stres (Mehdi, 2007:1). Sedangkan olahraga merupakan salahsatu stres fisik. Hans De Selye membagi respon GAS menjadi 3 tahap, yaitu: tahap alarm, tahap adaptasi dan tahap kelelahan (seperti yang terlihat dalam gambar 2.1).



**Gambar 2.1. Tahapan *General Adaptation Syndrome***  
(Sumber: Mehdi, 2007:1)

**Keterangan Gambar:**

- A. Reaksi Alarm. Tubuh menunjukkan terjadinya perubahan pertama kali ketika ada stressor. Pada waktu yang sama, ketahanan tubuh akan berkurang. Jika stressornya cukup kuat (seperti kepanasan yang tinggi, perubahan temperatur yang ekstrim) akan dapat mengakibatkan kematian.
- B. Tahap daya tahan. Daya tahan terjadi ketika stressor berlangsung terus menerus dan mampu ditanggapi tubuh dengan adaptasi. Perubahan reaksi tubuh yang terjadi ketika reaksi alarm, sudah hampir menghilang, dan daya tahan tubuh naik diatas normal. Jika tahapan ini berlangsung terlalu lama, maka hiperadaptasi dapat terjadi.
- C. Tahap kelelahan. Jika exposure diperpanjang dengan stressor yang sama, sampai tubuh telah dapat menyesuaikan. Maka dengan cepat, energi untuk adaptasi dilelahkan. Dan tanda reaksi alarm akan muncul kembali, tetapi sekarang tidak dapat diubah lagi, dan setiap individu dapat mengalami gejala dari gagal ginjal.

### 1. Tahap Alarm

Tahap alarm terjadi saat tubuh mulai mendeteksi stimulus yang berasal dari luar, dan akan ditanggapi dengan segera jika terjadi gangguan homeostatis (Mehdi, 2007:1). Tahap ini terjadi akibat adaptasi tubuh terhadap olahraga yang bersifat akut. Perubahan yang terjadi, antara lain: peningkatan denyut jantung istirahat, mobilisasi glikogen otot (Zuck, 2008:1), medula adrenal memproduksi epineprin dan norepineprin, sedangkan kortek adrenal akan memproduksi kortisol. Pada tahap ini ketahanan terhadap terjadinya infeksi akan menurun dan mekanisme sistem pertahanan tubuh akan diaktifkan, pada gambar 2.1. tahap alarm ini ditunjukkan dengan huruf "A".

### 2. Tahap Adaptasi

Tahap adaptasi adalah tahapan yang terjadi ketika tubuh menanggapi stres dengan adaptasi maksimal, hal ini ditandai dengan peningkatan kerja kortek adrenal, perubahan pada *muscle tone* (Zuck, 2008:1), tubuh menjadi lebih kuat, lebih cepat, peningkatan massa otot, dan sebagainya. Hans De Selye mengemukakan bahwa tahap adaptasi ini terjadi setelah 2 hari dari tahap alarm, dan akan terjadi adaptasi yang sempurna setelah 4 minggu latihan atau lebih (Mehdi, 2007:1). Waktu ini bervariasi, tergantung dari beban latihan dan kebugaran fisik masing-masing individu.

### 3. Tahap Kelelahan

Tahap kelelahan terjadi jika stres terus menerus berlangsung dan pertahanan tubuh akan menurun (Zuck, 2008:1) Tahap ini biasa disebut dengan *overtraining* atau

*overstress*. Kelelahan bisa terjadi karena stres yang terlalu besar atau stres yang frekuensinya terlalu tinggi, dalam kedua sebab ini tubuh tidak mampu untuk melakukan adaptasi sehingga terjadi kelelahan (Mehdi, 2007:1). *Overstress* menyebabkan terjadinya perubahan, seperti: ulceration gastrointestinal, kerja kortek adrenal yang hiperaktif (karena peningkatan konsentrasi kortisol dalam serum), menurunnya konsentrasi imunoglobulin dalam saliva (indikator *immuno-suppression*), kekakuan pada otot, tendon, dan sendi (Zuck, 2008:1).

### **2.2.2. Tinjauan radikal bebas**

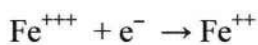
Seperti yang telah disebutkan diatas bahwa respon merupakan jawaban sewaktu, jika respon olahraga ditinjau dari sudut pandang radikal bebas dapat berupa: penurunan kontrol respirasi di mitokondria, hilangnya integritas struktur pada retikulum sarkoplasma, dan meningkatnya beberapa tanda dari peroksidasi lemak (Halliwell & Gutteridge, 1999:535). Selain itu juga terjadi peningkatan aktivitas enzim antioksidan. Olahraga yang bersifat akut dengan intensitas sedang, dapat menstimulasi aktivitas enzim antioksidan. Hal ini merupakan salahsatu mekanisme pertahanan dari sel jika terjadi stres oksidatif (Banerjee dkk, 2004:1).

Radikal bebas meningkat saat terjadi peningkatan konsumsi oksigen (peningkatan respirasi) dan disertai dengan proses reduksi yang dapat merangsang oksigen. Selama olahraga akan terjadi peningkatan konsumsi oksigen sebesar 10 sampai 15 kali, sedangkan aliran oksigen yang menuju otot aktif akan meningkat sekitar 100 kali (Kanter, 1998:9). Peningkatan kebutuhan oksigen akan menyebabkan terjadinya peningkatan proses oksidasi di dalam tubuh. Salahsatu hasil samping dari proses oksidasi adalah molekul oksigen yang tidak stabil seperti radikal bebas. Hal inilah yang dapat menjelaskan bahwa peningkatan metabolisme saat olahraga akan dapat meningkatkan produksi radikal bebas.

## 2.3. Oksidan dan Radikal Bebas

### 2.3.1. Definisi oksidan dan radikal bebas

Pengertian oksidan dan radikal bebas sering dianggap sama karena keduanya memiliki kemiripan sifat. Kedua jenis senyawa ini juga memiliki aktivitas yang sama dan memberikan akibat yang hampir sama, meskipun melalui proses yang berbeda. Dalam ilmu kimia, pengertian oksidan adalah senyawa penerima elektron (*electron acceptor*), yaitu senyawa yang dapat menarik elektron (Winarsi, 2007:13), misalnya ion ferri ( $\text{Fe}^{+++}$ ).



Sedangkan radikal bebas dapat didefinisikan sebagai atom atau sekelompok atom yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Halliwell, 1991:14; Marieb, 2001:81; Mayes, 1993:217).

Muatan radikal bebas bisa positif, negatif, atau netral. Radikal bebas ini memiliki daya reaktifitas yang tinggi dan tidak stabil. Radikal bebas dapat menginduksi reaksi berantai, jika berada dalam kondisi normal akan berjalan lambat, dan jika ada rantai inisiator bisa berjalan cepat/terakselerasi. Seperti jika ada radikal bebas yang lain (Robbins dkk, 1984:39).

### 2.3.2. Macam radikal bebas

Di dalam tubuh terdapat berbagai macam radikal bebas yang dikelompokkan berdasarkan nama atomnya. Ada empat jenis atom yang sering membentuk senyawa radikal di dalam tubuh, yaitu: radikal karbon, radikal oksigen, radikal sulfur dan radikal nitrogen (Halliwell & Gutteridge, 1999:37).

#### 1) Radikal karbon

Radikal karbon (*carbon centred radical*) merupakan salahsatu jenis radikal bebas yang elektron tidak berpasangannya terdapat pada karbon (Halliwell &

Gutteridge, 1999:37). Radikal karbon dapat terbentuk bila terjadi abstraksi dari suatu atom yang berikatan dengan atom karbon, seperti atom H pada rantai hidrokarbon.

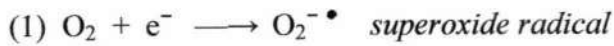
Contoh: *Trichloromethyl* ( $\text{CCl}_3^\bullet$ ) merupakan salahsatu jenis dari radikal karbon.  $\text{CCl}_3^\bullet$  dibentuk selama metabolisme  $\text{CCl}_4$  di dalam hati, dapat menimbulkan efek toksik.

Radikal karbon akan bereaksi sangat cepat dengan  $\text{O}_2$ , untuk membentuk *peroxyl radicals*, reaksinya:  $\text{CCl}_3^\bullet + \text{O}_2 \longrightarrow \text{CCl}_3\text{O}_2^\bullet$

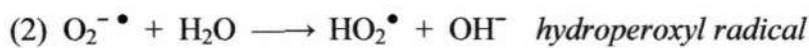
## 2) Radikal oksigen

Senyawa oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*) mengandung elektron yang tidak berpasangan, yaitu elektron yang menempati orbitalnya sendirian. Elektron ini mempunyai kecenderungan untuk menarik elektron dari molekul lainnya, oleh karena itu elektron ini dikatakan sebagai radikal bebas yang mempunyai daya reaktivitas yang tinggi. Oksigen ( $\text{O}_2$ ) lebih mudah berubah menjadi oksigen yang lebih reaktif, hal inilah yang dinamakan radikal bebas oksigen (Guyton, 2007:547). Radikal bebas oksigen berasal dari oksigen yang diperlukan oleh semua organisme aerobik termasuk manusia. Organisme aerobik memerlukan oksigen ( $\text{O}_2$ ) untuk membentuk energi yang berupa *adenosin triphosphate* (ATP) melalui proses oksidasi yang terjadi di dalam mitokondria. Dalam keadaan normal tubuh manusia juga mengandung radikal bebas, karena selalu terjadi proses oksidasi yang hasil sampingnya berupa molekul oksigen yang tidak stabil.

Molekul oksigen adalah *diradical* (terdiri dari 2 elektron yang tidak berpasangan dengan *parallel spin configuration*). Setiap elektron harus mempunyai *opposite spin* untuk menduduki orbit yang sama, maka harus dilakukan penambahan satu elektron pada molekul oksigen selama proses reduksi (Clarkson &Thompson, 2000:642). Berikut ini adalah tahapan proses reduksi oksigen dari radikal bebas, yang meliputi 4 tahap, yaitu:



Elektron yang tidak berpasangan ini mempunyai ikatan yang tidak stabil 2 elektron dengan spin antiparalel. Agar O dapat menerima sepasang elektron dari suatu substrat, spin salahsatu elektron pada  $\text{O}_2$  atau spin salahsatu dari pasangan elektron pada substrat harus berubah dan proses reduksi satu elektron pada  $\text{O}_2$  ini menghasilkan superoksida.  $\text{O}_2$  sebenarnya adalah suatu biradikal, molekul ini memiliki dua elektron yang tidak berpasangan. Karena memiliki spin paralel, kedua elektron tersebut tidak dapat membentuk pasangan yang stabil secara termodinamis, dan berada di orbital yang terpisah (Marks dkk, 1996:323). Radikal superoksida merupakan salahsatu ROS hasil dari proses reduksi  $\text{O}_2$  dengan sebuah elektron.



Superoksida ini hanya memiliki satu elektron yang tidak berpasangan oleh karena itu, kurang radikal jika dibandingkan dengan  $\text{O}_2$  yang memiliki 2 elektron tidak berpasangan. Jika superoksida ini memperoleh tambahan  $\text{H}_2\text{O}$  akan menghasilkan hidroperoksil (Marks dkk, 1996:323).



Hidrogen peroksida merupakan hasil reaksi dari hidroperoksil yang mendapatkan tambahan satu elektron. Walaupun jika dilihat dari definisinya hidrogen peroksida ini bukan termasuk radikal bebas, tetapi merupakan oksidan yang sangat penting dalam pembentukan radikal hidroksil. Karena hidrogen peroksida dapat mengawali terbentuknya radikal bebas, jika hidrogen peroksida ini bertemu dengan  $\text{Fe}^{2+}$  atau logam transisi lainnya akan menghasilkan radikal hidroksil melalui reaksi Fenton (Marks dkk, 1996:324).



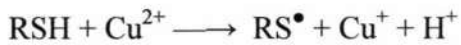
$\text{H}_2\text{O}_2$  merupakan bentuk tereduksi separuh dari  $\text{O}_2$ , telah menerima 2 elektron. Oleh karena itu bukan merupakan radikal oksigen, namun dianggap sebagai spesies



oksigen reaktif karena dengan cepat dapat dirubah menjadi radikal hidroksil (Marks dkk, 1996:324). Semua derivat oksigen sangat reaktif karena mempunyai konfigurasi elektron yang berubah-ubah (Clarkson &Thompson, 2000:642).

### 3) Radikal sulfur

Radikal sulfur (*sulfur centred radical*) merupakan salahsatu jenis radikal bebas yang elektron tidak berpasangannya terdapat pada sulfur. Contoh: *thiyl radical* merupakan salahsatu jenis dari radikal sulfur, gabungan oksida dan thiol (R – SH) dalam logam transisi akan membentuk produk lain, seperti *thiyl radicals* (RS<sup>•</sup>) (Halliwell & Gutteridge, 1999:37).



### 4) Radikal nitrogen

Radikal nitrogen (*nitrogen centred radical*) terbentuk selama proses oksidasi *phenylhydrazine* dalam eritrosit, contohnya: *phenyldiazine radical* (Halliwell & Gutteridge, 1999:37). Rumus radikal nitrogen: C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N = N<sup>•</sup>

### 2.3.3. Pembentukan radikal bebas selama aktivitas fisik

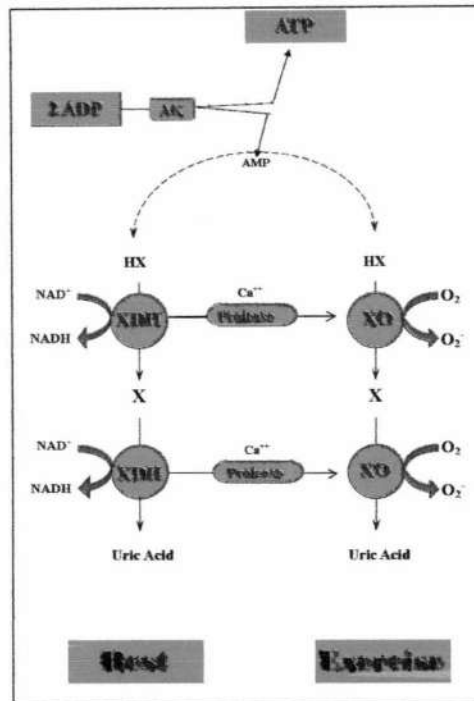
Sampai saat ini sumber dan modulator pembentukan senyawa oksidan pada saat olahraga belum diketahui dengan jelas, terdapat berbagai proses biologis yang diduga dapat menjadi sumber atau modulator pembentukan senyawa oksidan (Harjanto, 2003:43). Dalam keadaan normal tubuh juga membentuk radikal bebas saat terjadi metabolisme, umumnya pada reaksi redoks. Pembentukan radikal bebas oksigen merupakan penyebab utama terjadinya kerusakan sel atau jaringan pada latihan fisik (Sjodin dkk, 1990:236). Menurut Sjodin dkk (1990:236) pembentukan radikal bebas selama latihan dibagi menjadi 2 yaitu: pembentukan radikal bebas karena xantin oksidasi dan respirasi. Menurut Packer (1995:1) pembentukan radikal bebas selama latihan dibagi menjadi 3 yaitu: pembentukan radikal bebas selama respirasi, mekanisme iskemia-reperfusi, dan autooksidasi katekolamin. Sedangkan Clarkson & Thompson

(2000:637) membaginya menjadi 3, yaitu: karena peningkatan katekolamin, produksi asam laktat dan proses inflamasi. Di bawah ini proses pembentukan radikal bebas selama latihan akan dibagi menjadi 6, yaitu: pembentukan radikal bebas karena xantin oksidase, respirasi, asam laktat, mekanisme iskemia-reperfusi, autooksidasi katekolamin, dan inflamasi.

(1) Pembentukan radikal bebas karena xantin oksidase

Banyak penelitian yang menyebutkan bahwa xantin oksidase dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan akibat pembentukan radikal bebas oksigen. Xantin oksidase adalah suatu enzim yang mereduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O_2$  di dalam sitosol. Pada jaringan yang tidak rusak xantin oksidase terdapat sebagai suatu dehidrogenase yang dapat menggunakan  $NAD^+$  (bukan  $O_2$ ) sebagai akseptor elektron di dalam jalur degradasi protein (Marks dkk, 1996:330). Xantin oksidase akan meningkat jumlahnya ketika terjadi kerusakan jaringan selama iskemia di usus, ginjal, jantung, paru-paru, otak dan juga pada otot rangka. Xantin oksidase ini mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin, dan xantin menjadi asam urat, dalam reaksi ini NAD digunakan sebagai elektron penerima (Yunus, 2001:7).

Pada gambar 2.2 menggambarkan tentang reaksi dari *adenylate kinase* (AK) yang memimpin pembentukan ATP dan AMP dari 2 ADP. Dalam sel otot AMP dioksidasi oleh *hipoxanthine* (HX) yang selanjutnya akan menjadi *uric acid* (UA) dalam kapiler endotel sel. Selama kondisi normal saat istirahat reaksi ini dikatalisator oleh *xanthine dehydrogenase* (XDH) dengan NAD yang bermanfaat sebagai elektron penerima. Selama latihan berat atau dalam keadaan iskemia enzim ini akan mengganti *xanthine oxydase* (XO) dengan sebagian regulasi proteolisis dengan kalsium yang mengaktifkan protease. *Xanthine oxydase* dalam molekul oksigen bermanfaat sebagai elektron penerima dan juga sebagai bahan membentuk radikal bebas oksigen (Sjodin dkk, 1990:241).



**Gambar 2.2 Reaksi Xantin Oksidase dalam Kondisi Istirahat dan Latihan (Sumber: Sjodin dkk, 1990:241)**

(2) Pembentukan radikal bebas karena peningkatan konsumsi oksigen

Latihan dapat meningkatkan 10-20 kali lipat kebutuhan oksigen dalam tubuh sedangkan di dalam otot akan terjadi peningkatan kebutuhan oksigen antara 100-200 kali lipat. Sebagian besar pembentukan oksigen terjadi di dalam air, tetapi sebagian kecil (2-4%) oksigen akan dirubah menjadi superoksida melalui transport elektron. Jika superoksida ini memperoleh tambahan H<sub>2</sub>O akan menghasilkan hidroperoksil. Hidroperoksil yang mendapat tambahan satu elektron akan menghasilkan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan salahsatu oksidan yang mengawali terbentuknya radikal hidroksil (Mackenzie, 2004:1)

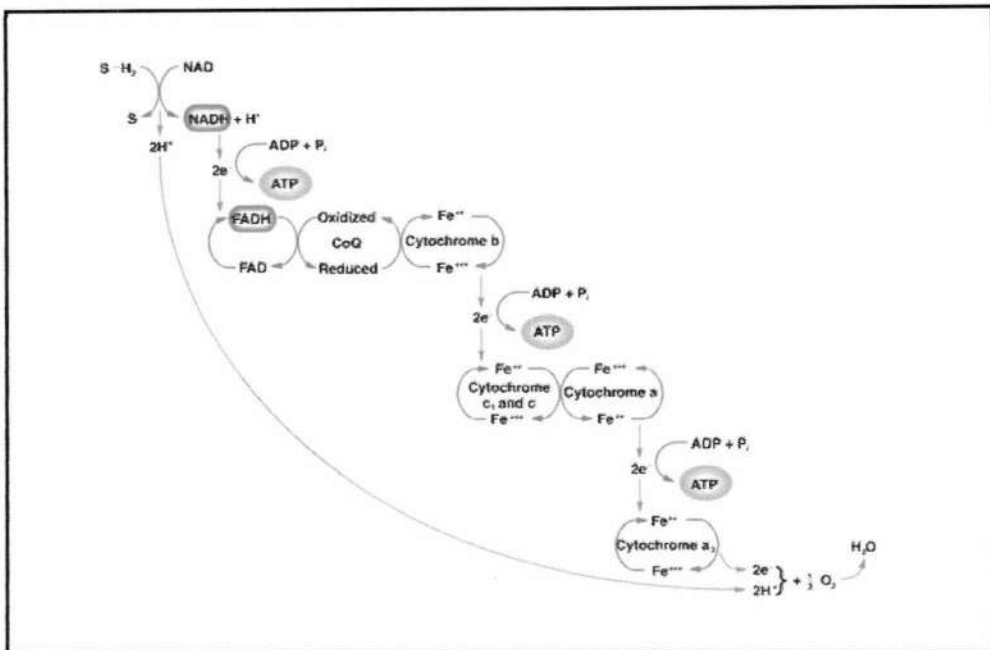
Radikal bebas meningkat saat terjadi peningkatan konsumsi oksigen (peningkatan respirasi) dan disertai dengan proses reduksi yang dapat merangsang oksigen. Karena proses inilah sehingga terjadi peningkatan reaksi pembentukan superoksida anion, hidrogen peroksida, radikal hidroksil, oksigen bebas, dan komponen radikal bebas yang lain (Spencer, 1994:141). Hal senada juga dikemukakan oleh Reall

(2003:3) bahwa konsumsi oksigen akan meningkat selama latihan akan menyebabkan terjadinya peningkatan produksi radikal bebas. Produksi radikal bebas yang melebihi normal akan menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan (Reall, 2003:3). Setiap proses penggunaan oksigen sebagai energi sangat berpotensi meningkatkan produksi radikal bebas bermuatan partikel kimia. Hal ini akan menyebabkan membran sel dari sel darah merah dan sel otot mudah terjadi kerusakan (Pidcock, 2001:1). Latihan yang dilakukan dengan frekuensi tidak menentu akan menyebabkan proses metabolisme yang kurang sempurna, hal inilah yang memicu terjadinya stres oksidatif.

Proses oksidasi terjadi ketika ada peningkatan kebutuhan oksigen, perpindahan atom oksigen, atau transport elektron (lihat gambar 2.3). Hampir 4-5% oksigen yang dikonsumsi akan menjadi elektron bebas dalam rantai respirasi dan dibentuk menjadi salahsatu jenis radikal bebas yaitu radikal superoksida (Clarkson & Thompson, 2000:637; Macintosh, 1992:210). Setiap aktivitas fisik akan menyebabkan peningkatan kebutuhan oksigen, sehingga proses oksidasi di dalam tubuh juga ikut meningkat. Salahsatu hasil samping dari proses oksidasi adalah molekul oksigen yang tidak stabil seperti radikal bebas. Radikal bebas ini dapat merusak pembentukan ikatan kimia melalui proses oksidasi sehingga dapat menghancurkan dan merusak jaringan tubuh.

### (3) Pembentukan radikal bebas karena produksi asam laktat

Tingginya kecepatan metabolisme pada latihan fisik anerobik akan mengakibatkan terjadinya penumpukan asam laktat. Hal ini terjadi akibat kecepatan kebutuhan energi melebihi kecepatan dan kemampuan sistem transportasi oksigen untuk mensuplai oksigen ke dalam mitokondria. Pada keadaan insufisiensi oksigen ini, asam piruvat yang semestinya bersama CoA membentuk asetil CoA untuk kemudian membentuk asam sitrat ke dalam siklus krebs di mitokondria, justru berubah menjadi asam laktat di sitoplasma sel otot. Asam laktat yang terbentuk akan berdifusi ke darah, sehingga asam laktat meningkat (Yunus, 2001:8).



**Gambar 2.3. Sistem Transport Elektron (Sumber: Marks dkk, 1996:328)**

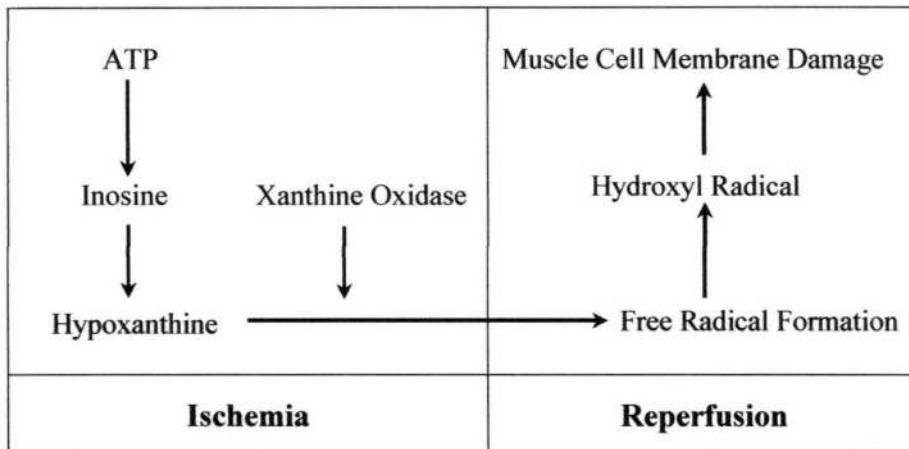
Produksi asam laktat yang meningkat akan merubah radikal bebas lemah (contohnya: radikal superoksida) menjadi radikal bebas yang kuat (contohnya: radikal hidroksil) sehingga berpotensi menimbulkan kerusakan jaringan (Clarkson & Thompson, 2000:637). Semakin banyak jumlah ROS yang terbentuk maka semakin banyak enzim antioksidan yang digunakan untuk menetralsirnya, dan semakin banyak pula ROS yang gagal dinetralsir oleh enzim antioksidan (Sjodin dkk, 1990:236). Senyawa oksigen reaktif yang tidak dapat dinetralsir akan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan jaringan.

#### (4) Pembentukan radikal bebas karena iskemia dan reperfusi

Iskemia merupakan suatu keadaan berkurang/hilangnya suplai oksigen sedangkan reperfusi adalah proses mengalirnya kembali O<sub>2</sub> pada jaringan yang mengalami iskemia (Halliwell & Gutteridge, 1999:202). Kembalinya distribusi darah selama otot bekerja akan menyebabkan terjadinya kondisi hipoksia pada ginjal, hati dan limfe. Intensitas latihan yang tinggi akan menyebabkan otot dalam keadaan hipoksia (kekurangan O<sub>2</sub>). Proses pengembalian oksigen setelah latihan akan menghasilkan

ROS, yaitu radikal bebas oksigen yang memiliki daya reaktivitas tinggi (Mackenzie, 2004:1).

Pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) akan meningkat selama terjadi iskemia dan reperfusi. Pada gambar 2.4 menunjukkan bahwa iskemia-reperfusi akan mengakibatkan terjadinya kerusakan jaringan, yang diperantarai oleh xanthin oksidase (merupakan bentuk aktif dari xanthin dehidrogenase). Proses pengaktifan ini menghasilkan kondisi yang iskemik, ketika terjadi reperfusi akan menimbulkan terbentuknya radikal bebas dan kemudian terjadi kerusakan jaringan (McBride & Kraemer, 1999:177).



**Gambar 2.4. Mekanisme Iskemia-Reperfusi**  
(Sumber: McBride & Kraemer, 1999:177)

(5) Pembentukan radikal bebas karena autooksidasi katekolamin

Autooksidasi dari katekolamin akan meningkatkan produksi hormon stres seperti adrenalin dan noradrenalin. Selama latihan akan meningkatkan terjadinya stres oksidatif karena dikeluarkannya hormon stres tersebut. Peningkatan terjadinya stres oksidatif akan diiringi dengan peningkatan produksi radikal bebas dan ROS (Mackenzie, 2004:1). Peningkatan autooksidasi katekolamin selama latihan akan menyebabkan produksi  $O^{2-}$  akan bereaksi dengan molekul sejenis seperti: proton (dismutasi) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). Pembentukan  $H_2O_2$  akan bereaksi dengan logam transisi untuk membentuk radikal hidroksil ( $HO^{\cdot}$ ). Radikal hidroksil ini

mempunyai daya toksik yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi struktur dan fungsi biomolekul, seperti: protein, lipid dan DNA (Packer, 1995:1).

Pengeluaran katekolamin ini berperan sangat penting dalam respon refleksi terhadap pembebanan mendadak dari lingkungan internal maupun eksternal, seperti: stres, nyeri, peradangan, olahraga, hipoglikemia, dan hipoksia. Pengeluaran tersebut diperantarai oleh transmisi impuls saraf yang di induksi oleh stres yang berasal dari ujung saraf sistem saraf simpatis (adrenergik) di hipotalamus (Marks dkk, 1996:685).

#### (6) Pembentukan radikal bebas karena terjadinya inflamasi

Ada mekanisme dasar yang menerangkan tentang bagaimana latihan dapat menyebabkan kerusakan. Mekanismenya yaitu terjadinya gangguan fungsi metabolisme yang secara mekanis ditunjukkan dengan terjadinya perobekan sel otot. Bila terjadi kerusakan otot segera merubah program latihan, karena jika hal tersebut dilanjutkan akan mempunyai dampak seperti pada *overtraining* (Bompa, 1990:202). Produksi radikal bebas akan meningkat selama inflamasi dan sebagai respon ketika terjadi kerusakan otot akibat *overexertion* (Clarkson & Thompson, 2000:637). Tidak semua pembentukan radikal bebas itu merugikan bagi tubuh. Radikal bebas yang keluar saat terjadi inflamasi digunakan untuk menghadapi serangan mikroorganisme patogen. Menurut McBride & Kraemer (1999:175) mekanisme pembentukan radikal bebas selama terjadinya inflamasi adalah daerah yang rusak atau fagositosis asing menyebabkan dikeluarkannya enzim proteolitik melalui proses degranulasi, enzim proteolitik ini dapat mengaktifkan radikal bebas.

Pada makhluk hidup, radikal bebas terbentuk di mitokondria, mikrosom, dan peroksisom melalui reaksi enzimatik yang berlangsung pada proses metabolisme normal atau pengaruh eksternal (Robbins dkk, 1984:41). Sedangkan menurut Evans (2000:648-649) produksi radikal bebas terjadi di dalam:

1) mitokondria, dengan adanya radikal bebas di dalam mitokondria ini akan menyebabkan enzim antioksidan akan berpindah di sekitar sarkoplasma;

2) kapiler endotel, jika tubuh dalam keadaan hipoksia atau tubuh mengalami proses reoksigenasi yang dilakukan selama latihan maka radikal bebas akan diproduksi; 3) pemecahan oksidatif, ketika ada sel yang meradang akan terjadi pemecahan secara oksidatif, gerak yang seperti inilah yang menyebabkan terjadinya kerusakan otot atau jaringan.

## **2.4. Antioksidan**

### **2.4.1. Definisi antioksidan**

Antioksidan didefinisikan sebagai substansi dalam konsentrasi yang lebih rendah jika dibandingkan dengan substrat yang dapat teroksidasi yang secara signifikan menghentikan atau mencegah oksidasi dari substrat tersebut (McBride & Kraemer, 1999:179). Menurut Wikipedia (2008:1), antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah terjadinya oksidasi dari molekul yang lain. Definisi lebih luas untuk antioksidan adalah senyawa yang melindungi sistem biologis dari dampak yang membahayakan, berasal dari proses oksidasi berlebihan.

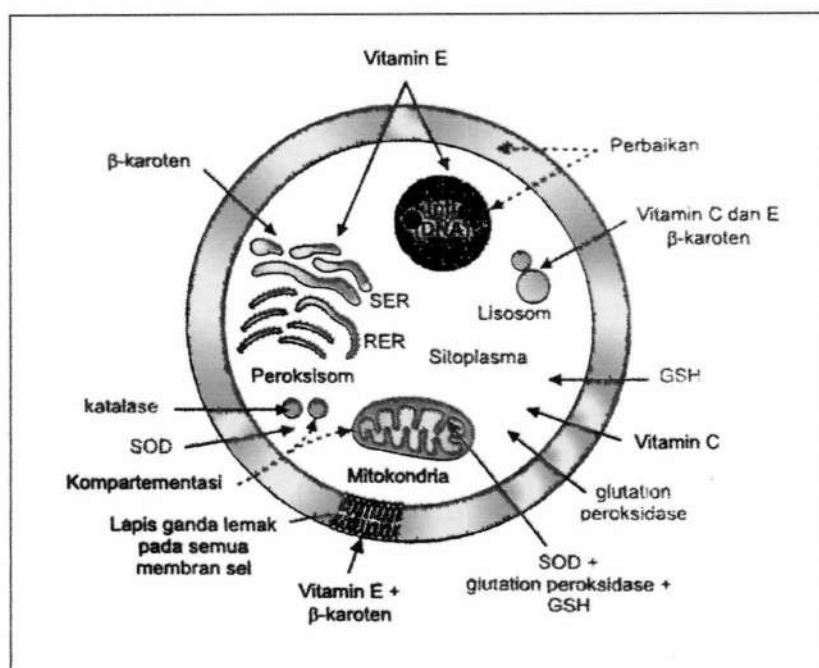
Olahraga yang dilakukan dengan durasi lama akan memicu terjadinya adaptasi fisiologi dari dalam tubuh untuk membentuk antioksidan, sebagai sistem pertahanan tubuh yang terdapat dalam jaringan. Meningkatnya sistem antioksidan ini merupakan suatu proteksi tubuh terhadap stres oksidatif yang terjadi karena dampak negatif dari latihan (Sen, 1995:1). Jadi olahraga yang dilakukan dengan durasi latihan yang lama akan meningkatkan produksi antioksidan sehingga kekebalan tubuh akan meningkat, dan dampak negatif dari latihan akan dapat dihindari.

### **2.4.2. Cara kerja antioksidan**

Cara kerja antioksidan yaitu dengan melindungi lipid dari peroksidasi akibat radikal bebas. Dalam kondisi yang normal, tubuh akan memproduksi antioksidan



sebagai sistem pertahanan tubuh akibat meningkatnya jumlah produksi dari radikal bebas (Reall, 2003:55). Tubuh sendiri sudah memiliki antioksidan alamiah, tetapi ada pula yang berasal dari makanan (Marlinda, 2004:2). Jadi produksi antioksidan ini mutlak diperlukan sebagai salahsatu sistem proteksi dari tingkat selular. Ringkasan tentang mekanisme pertahanan sel terhadap spesies oksigen reaktif dapat dilihat dalam gambar 2.5:



**Gambar 2.5. Mekanisme Pertahanan Sel Terhadap Spesies Oksigen Reaktif**  
(Sumber: Marks dkk, 1996:329)

Pertahanan sel terhadap spesies oksigen reaktif terdiri dari reduksi enzimatik spesies oksigen reaktif, pengeluaran spesies oksigen reaktif oleh vitamin antioksidan, perbaikan membran dan DNA yang rusak oleh enzim. Enzim superoksida dismutase dan glutathione peroksidase terdapat sebagai isozim dalam kompartemen yang berbeda tersebut. Vitamin antioksidan, vitamin E, vitamin C, dan beta-karoten juga mengalami kompartementasi; vitamin E dan beta-karoten larut dalam lemak dan ditemukan di dalam membran, sedangkan vitamin C larut dalam air dan terdapat di dalam sitosol (Marks dkk, 1996:329).

Sebenarnya senyawa oksigen reaktif terjadi akibat proses biologis normal tetapi apabila aktivitas senyawa tersebut tidak diredam akan dapat menimbulkan dampak negatif. Organisme aerobik dapat bertahan hidup karena tersedia sarana untuk meredam yang disebut dengan senyawa antioksidan. Antioksidan adalah senyawa pemberi elektron (elektron donor), sedangkan dalam artian biologis adalah senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan. Menurut Halliwell & Gutteridge (1999:106) antioksidan yang terdapat dalam tubuh kita dapat dibagi menjadi 2 yaitu: antioksidan yang terletak di dalam sel atau antioksidan enzimatik dan antioksidan yang terletak di luar sel (antioksidan non enzimatik).

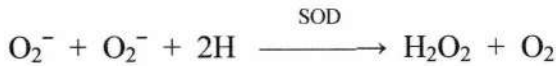
#### **2.4.3. Macam antioksidan**

Menurut Mates & Jimenez (1999:341) secara umum pembagian antioksidan dibedakan menjadi dua, yaitu:

##### **1. Antioksidan Enzimatik:**

###### **a. *Superoksida dismutase (SOD)***

SOD merupakan salahsatu sistem proteksi enzimatik terhadap radikal bebas yang bekerja dengan cara mencegah pembentukan radikal bebas baru atau mengubah radikal bebas yang ada dalam tubuh menjadi molekul yang kurang berdampak negatif (Maestro, 1991:48; Mates & Jimenez, 1999:341). Dismutasi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan  $O_2$  oleh SOD sering disebut sebagai pertahanan primer terhadap stres oksidatif karena superoksida adalah inisiator reaksi berantai yang kuat. Di dalam sitosol dan mitokondria sel terdapat bermacam-macam isoenzim superoksida dismutase. Aktivitas superoksida dismutase meningkat melalui induksi enzim oleh zat kimia atau keadaan yang meningkatkan pembentukan superoksida (Marks dkk, 1996:330). Ketika  $O_2$  dibentuk, enzim superoksida dismutase berfungsi sebagai katalisator pada proses dismutasi dari hidrogen peroksida, sebagaimana dapat kita lihat dalam reaksi berikut:



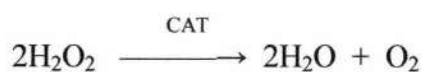
(Sumber: McArdle dkk, 2001:53; Mates & Jimenez, 1999:4)

Produksi superoksida dismutase ini akan meningkat saat seseorang melakukan latihan yang teratur dengan intensitas sedang sesuai dengan program latihan (Bledsoe, 2004:1). Salahsatu efek yang menguntungkan dari SOD, ketika terjadi proses peradangan pada jaringan SOD bertindak sebagai aktivator leukosit (Sjodin dkk, 1990:242). Superoksida dismutase ini sebagai enzim yang paling penting dalam menghilangkan radikal superoksida, dan aktivitasnya akan terus meningkat sampai 12-36 jam setelah terjadinya kerusakan jaringan (Menon dkk, 1990:461).

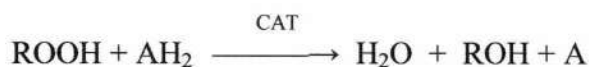
#### b. *Catalase* (CAT)

Katalase paling banyak ditemukan dalam peroksisom, dan sedikit di dalam fraksi sitosol dan mikrosom sel. Di dalam sel granulomatosa, katalase berfungsi untuk melindungi sel terhadap ledakan pernapasannya sendiri (Marks dkk, 1996:330). Enzim katalase ini mempercepat reaksi pembongkaran hidrogen peroksida, yang akan mengurangi reaksi pembentukan radikal bebas.

CAT bereaksi dengan  $\text{H}_2\text{O}_2$  dalam air dan molekul oksigen, dengan mendonorkan atom H (*methanol, ethanol, formic acid, phenol*) dapat mengaktifkan 1 mol peroksida dalam aktivitas peroksidase. Peranan CAT dapat dilihat dalam reaksi berikut ini:



(Sumber: McArdle dkk, 2001:53; Mates & Jimenez, 1999:6)



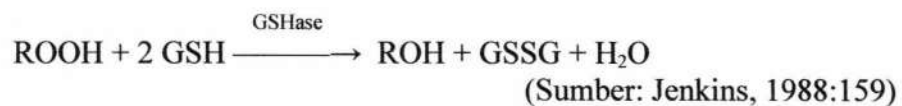
(Sumber: Mates & Jimenez, 1999:6)

Enzim katalase ini berfungsi melindungi sel dari hidrogen peroksida dari oksidan. Dalam kondisi normal, aktivitas dari enzim katalase ini kurang dibutuhkan (Mates &

Jimenez, 1999:6). Tetapi jika terjadi stres oksidatif, enzim katalase digunakan sebagai respon adaptasi dari sel.

### c. *Glutathione Peroxidase (GPx)*

Menurut Marks dkk (1996:331) *glutathione peroxidase* adalah suatu enzim yang mengkatalisis reduksi hidrogen peroksida dan peroksida lemak (LOOH) oleh glutathion ( $\gamma$ -glutamil-sisteinilglisin). Glutathione peroxidase (GPx) merupakan salahsatu antioksidan yang sangat penting dalam menjaga tubuh dan menjaga kelenjar tiroid dari kerusakan oksidatif (Huh dkk, 1998:1). Glutathione peroxidase ini digunakan sebagai katalisator dalam reaksi hidrogen peroksida/ROOH dan  $H_2O_2$  (Mates & Jimenez, 1999:6) dan juga digunakan sebagai sistem proteksi sel mamalia saat terjadi kerusakan oksidatif, sebagaimana ditunjukkan dalam reaksi berikut:



Selain itu *glutathione peroxidase* berfungsi sebagai proteksi enzim, koenzim, protein dan juga DNA dari pengaruh radikal bebas (Marks dkk, 1996:331).

Glutathion dalam sel eritrosit berperan sebagai antioksidan, untuk mencegah terjadinya oksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin. Ketika seseorang melakukan olahraga, aktivitas glutathion reduktase eritrosit akan meningkat. Meningkatnya aktivitas glutathion reduktase menunjukkan adanya respon terhadap stres oksidatif yang disebabkan oleh olahraga (Winarsi, 2007:109).

## 2. Antioksidan Non Enzimatik:

### a. *Beta carotene*

Beta karoten ini merupakan salahsatu substansi karotenoid (Kleiner dkk, 2004:1). Beta karoten berfungsi menghambat peroksidasi lemak terutama dengan bekerja sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai. Senyawa ini menerima sebuah elektron dari radikal peroksi lemak untuk membentuk zat penangkal radikal bebas

(Marks dkk, 1996:332). Beta karoten merupakan prekursor dari vitamin A/retinol. Sumber beta karoten bisa didapatkan dari hati, kuning telur, susu, mentega, bayam, wortel, brokoli, tomat dan peach (Frank, 1996:9).

#### b. Vitamin A

Vitamin A merupakan nutrient penting yang dibutuhkan tubuh karena vitamin A bertindak sebagai prekursor karotenoid. Karotenoid memiliki peranan yang cukup penting sebagai antioksidan yaitu dapat melindungi lemak dari peroksida yang bereaksi dengan radikal hidroperoksil lemak (Olson, 1990:187).

Vitamin A beserta derivatnya yang terdapat di alam mempunyai fungsi yang sangat penting dalam penglihatan, pembentukan embrio, fungsi testis dan melindungi epidermis. Beberapa penelitian terbaru menyebutkan tentang fungsi vitamin A sebagai antioksidan dalam membran sel yang menangkal kerusakan yang terjadi akibat radikal bebas (Livrea & Vidali, 1994:300). Tetapi di dalam reaksi pemutusan ikatan berantai dari radikal bebas, vitamin E lebih dibutuhkan daripada vitamin A.

#### c. *Ascorbic acid*/vitamin C

Asam askorbat merupakan vitamin yang larut dalam air yang bisa diperoleh dari buah, jus, tauge, bayam, brokoli, kiwi dan strawberi. Kebutuhan vitamin C dalam tiap harinya sekitar 60 mg (Frank, 1996:1). Vitamin C berfungsi sebagai pertahanan mitokondria jika di dalamnya terjadi kekurangan vitamin E (Ji, 1996:4). Vitamin C mempunyai mekanisme reduksi-oksidasi dan juga dapat mereduksi ion besi yang mengkatalisis reaksi fenton dalam pembentukan radikal hidroksil saat peroksidasi lemak (Packer, 1995:5). Oleh karena itu vitamin C juga disebut sebagai antioksidan karena mampu mengendalikan proses pembentukan radikal hidroksil.

#### d. Vitamin E

Vitamin E sebagai antioksidan akan melindungi dan mempertahankan sel-sel tubuh dari serangan radikal bebas. Mekanisme vitamin E ini dalam aktivitasnya sebagai

antioksidan berkaitan dengan kemampuannya untuk meningkatkan hidrogen fenolat yang ada pada atom karbon ke-6 cincin kromana kepada radikal bebas peroksil dari asam lemak ganda yang telah mengalami peroksidasi (Mayes, 1993:172; Kumala, 1996:200).

Vitamin E sering ditemukan pada semua membran sel (karena salahsatu fungsinya adalah melindungi membran sel dari peroksidasi), tetapi jumlah vitamin E paling banyak terdapat dalam membran mitokondria dan transport elektron. Vitamin E akan meningkat jumlahnya selama respirasi aerobik dan saat terjadi peningkatan jumlah radikal bebas akibat latihan yang tidak teratur.

Karena begitu pentingnya vitamin E ini sebagai antioksidan, ada suatu penelitian yang menemukan bahwa pada tikus yang menderita kekurangan vitamin E menyebabkan terjadinya penurunan daya tahan tubuh (Lauffer, 1992:232). Jika produksi antioksidan tidak seimbang akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Pada kondisi ini, aktivitas molekul radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dapat menimbulkan kerusakan seluler dan genetika (Trilaksani, 2003:1).

## **2.5. Stres Oksidatif**

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, 1999:247). Peningkatan terjadinya stres oksidatif akan mengakibatkan meningkatnya produksi radikal bebas (ROS). Stres oksidatif dapat terjadi karena:

### **1. Berkurangnya Produksi Antioksidan**

Berkurangnya produksi antioksidan disebabkan karena adanya mutasi sehingga mempengaruhi pertahanan enzim antioksidan, seperti cooper-zinc superoksida dismutase (CuZnSOD), MnSOD atau *glutathionine peroxidase* (Halliwell &

Gutteridge, 1999:246). Kekurangan antioksidan dan beberapa senyawa penting lain secara terus menerus dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Menurut penelitian di Jamaika menyebutkan bahwa anak yang menderita penyakit kekurangan protein/penyakit kwashiorkor menderita masalah yang berhubungan dengan stres oksidatif. Karena di dalam tubuhnya terdapat kadar glutathione (GSH) yang rendah dan produksi iron yang berlebih (Lauverman, 2004:1).

2. Meningkatnya jumlah produksi ROS/RNS (*reactive oxygen species/reactive nitrogen species*).

Dengan terjadinya peningkatan kebutuhan oksigen, maka sebagai hasil sampingnya diproduksi toksin yang merupakan hasil metabolisme ROS/RNS. Produksi sistem ROS/RNS yang melebihi normal (aktivitas fagositosis sel yang tidak biasa karena terjadi penyakit peradangan kronis, seperti pada *rheumatoid arthritis* dan *ulcerative colitis* (Halliwell & Gutteridge, 1999:246). Ketidakseimbangan antara pertahanan antioksidan tubuh dan radikal bebas menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Intensitas dan durasi latihan berpengaruh terhadap tingkat stres oksidatif, olahraga yang bersifat akut dan dilakukan oleh individu yang tidak terlatih akan dapat meningkatkan terjadinya stres oksidatif (Leeuwenburgh & Heinecke, 2001:835).

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

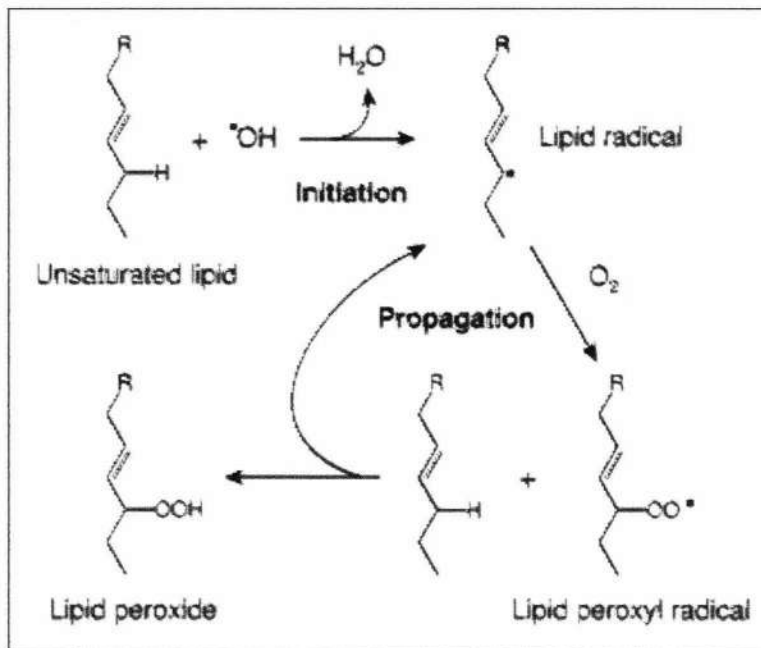
Terjadinya kerusakan sel disebabkan karena ROS (*reactive oxygen species*). ROS merupakan salahsatu dari radikal bebas yang reaktif anionnya membawa atom oksigen atau molekul yang membawa atom oksigen akan berpotensi menimbulkan radikal bebas. Contohnya: radikal hidroksil, superoksida, hidrogen peroksida, dan peroksinitrit. ROS *in vivo* saat respirasi aerobik terjadi karena diproduksi oleh asam lemak yang menghasilkan *peroxisomal  $\beta$ -oxidation*, komponen *xenobiotic* yang menghasilkan *microsomal cytochrome P450*, stimulasi fagositosis dari patogen atau *lipopolysaccharides*, metabolisme arginin, dan enzim spesifik jaringan (Aldrich,

2008:1). Pada kondisi yang normal, ROS dapat disingkirkan dengan aktivitas enzim antiradikal seperti: superoxide dismutase (SOD), catalase, atau glutathione (GSH) peroxidase. Sel sasaran ROS seperti: *polyunsaturated fatty acids* di membran lipid, protein essential, dan juga DNA.

Peristiwa stres oksidatif ini dapat menimbulkan terjadinya kerusakan pada beberapa komponen sel, seperti: lemak, protein, dan DNA.

### 2.5.1. Stres oksidatif pada lemak

Stres oksidatif pada lemak terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA (*polyunsaturated fatty acids*) (Winarsi, 2007:50). Yang menjadi target terjadinya stres oksidatif adalah peroksidasi lemak.



**Gambar 2.6. Tahapan Peroksidasi Lemak**  
(Sumber: Wikipedia, 2008:1)

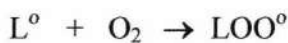
Peroksidasi lemak adalah suatu proses dimana radikal bebas “mencuri” elektron dari lipid didalam membran sel, hal ini yang menimbulkan kerusakan sel (Ji, 1996:21; Wikipedia, 2008:1). Terjadinya peroksidasi lemak merupakan inisiasi reaksi berantai oleh radikal hidrogen atau oksigen, yang menyebabkan teroksidasinya asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) (Winarsi, 2007:53). Asam lemak utama yang mengalami



peroksidasi lemak di dalam membran sel adalah PUFA (*polyunsaturated fatty acids*), karena mempunyai banyak ikatan rangkap antara *methylene* dan kelompok CH<sub>2</sub> (Marks dkk, 1996:624; Wikipedia, 2008:1). Reaksinya terdiri dari 3 tahap, yaitu: inisiasi, propagasi dan terminasi, yang ditunjukkan dalam gambar 2.6.

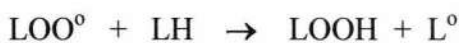
### 1. Inisiasi

Inisiasi merupakan salahsatu tahapan, dimana molekul radikal asam lemak diproduksi (Wikipedia, 2008:1). Pada tahap inisiasi, proses oksidasi dimulai oleh serangan dari sebuah radikal bebas pemula (R) dan pengambilan sebuah atom hidrogen dari PUFA (LH<sup>o</sup>). Tahap inisiasi ini menghasilkan sebuah *carbon-centered* radikal (LO<sup>o</sup>) yang secara cepat bereaksi dengan molekul oksigen untuk membentuk sebuah lemak peroksida radikal (LOO<sup>o</sup>). Reaksinya adalah:

$$\text{LH} + \text{R}^{\circ} \rightarrow \text{L}^{\circ} + \text{RH}, \text{ dilanjutkan dengan penambahan oksigen yaitu}$$


### 2. Propagasi

Tahap reaksi propagasi berantai terjadi karena stimulasi terbentuknya LOO<sup>o</sup>. Lemak peroksida radikal (LOO<sup>o</sup>) mengambil atom hidrogen dari LH lain sehingga terbentuk sebuah lipid hidroperoksida dan lemak radikal baru (L<sup>o</sup>). Reaksi ini terus berulang dan menimbulkan akumulasi dari hidroperoksida (LOOH<sup>o</sup>). Reaksinya adalah:



Tahap propagasi terus berlangsung selama terdapat PUFA atau molekul asam lemak.

### 3. Terminasi

Jika satu radikal bereaksi selalu menghasilkan radikal lain, reaksi ini dinamakan mekanisme reaksi berantai (*chain reaction mechanism*). Reaksi radikal ini akan berhenti ketika dua radikal bereaksi dan menghasilkan satu jenis anti-radikal (Wikipedia, 2008:1), tahap ini yang dinamakan terminasi. Pada tahap terminasi, reaksi

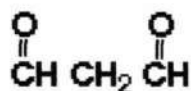
berantai dapat diputus oleh antioksidan atau akibat ikatan antar radikal bebas itu sendiri. Karena secara teoritis radikal bebas sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan radikal bebas lain untuk membentuk ikatan yang stabil. Hidroperoksida ( $\text{LOOH}^0$ ) dapat terurai menjadi spesies radikal bebas yang lain terutama terurai menjadi aldehid.

#### 4. Dampak

Jika tahap terminasi tidak dapat berlangsung cepat, maka akan menimbulkan terjadinya kerusakan membran sel, yang sebagian besar terdiri dari lipid (Wikipedia, 2008:1). Fototerapi yang menyebabkan terjadinya hemolisis pada membran sel darah merah, terjadi dengan cara ini. Akibat akhir dari peroksidasi lipid adalah terputusnya rantai karbon asam lemak yang menghasilkan berbagai senyawa bersifat toksik antara lain: MDA, *9-hidroksil nonenal*, *etana* (berasal dari asam lemak omega-6), dan *pentana* (berasal dari asam lemak omega-3) (Ji, 1996:21; Marks dkk, 1996:624; Suryohudoyo, 1993:14).

#### 2.5.2. Malondialdehyde (MDA)

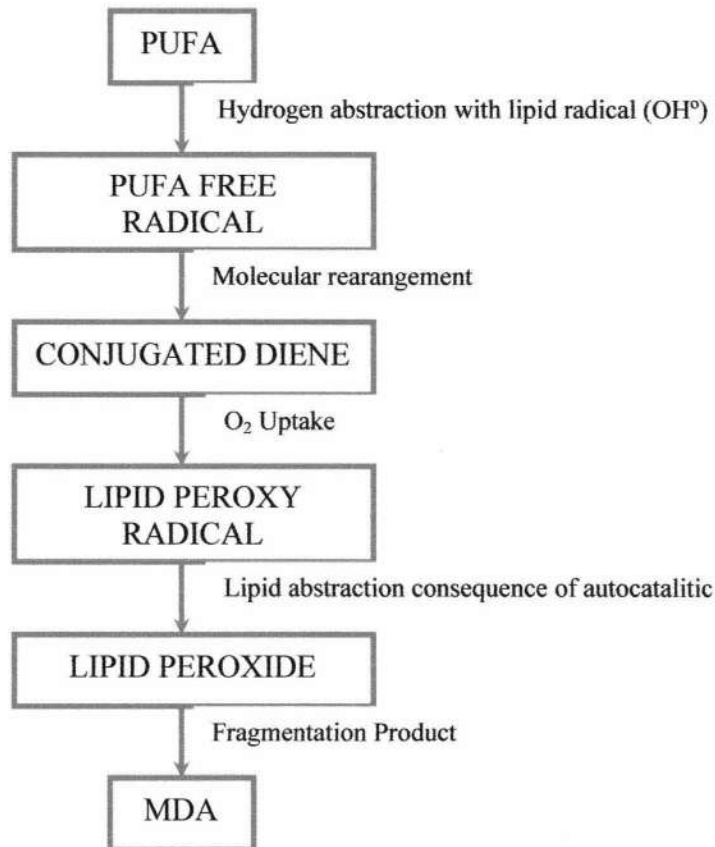
*Malondialdehyde* adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lemak di dalam tubuh (Wikipedia, 2008:1; Winarsi, 2007:55). Hal senada juga dikemukakan oleh Yunus (2001:12) *Malondialdehyde* adalah senyawa yang bersifat toksik yang merupakan hasil akhir dari terputusnya rantai karbon asam lemak pada proses peroksidasi lipid. MDA merupakan produk dekomposisi dari asam amino, karbohidrat kompleks, pentosa dan heksosa. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul  $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$ , dengan rumus bangun sebagai berikut:



**Malondialdehyde**

Tingginya kadar MDA di dalam tubuh salahsatunya disebabkan oleh meningkatnya aktivitas reaksi radikal bebas atau menurunnya sistem proteksi tubuh

terhadap radikal bebas (Halliwell & Gutteridge, 1999:221), sehingga dikeluarkannya MDA dianggap sebagai suatu petanda biologis yang digunakan untuk mengukur derajat stres oksidatif yang terjadi pada suatu organisme (McBride & Kraemer, 1999:177; Wikipedia, 2008:1). Proses pembentukan MDA dapat dilihat pada gambar 2.7.



**Gambar 2.7. Proses Pembentukan MDA**  
(Sumber: Maestro, 1991:51)

Pembentukan radikal bebas dapat dibuktikan dengan terjadinya peningkatan peroksidasi lemak, oksidasi glutathion, dan kerusakan oksidatif protein. MDA merupakan salahsatu produk akhir dari peroksidasi lemak yang dapat diukur konsentrasinya melalui uji TBA (Clarkson & Thompson, 2000:639; Wikipedia, 2008:1). MDA menyebabkan *cross-linkage* 'ikatan silang' antara protein dan enzim yang mempengaruhi fungsi normal biologis komponen tersebut (Ji, 1996:21).

### 2.5.3. Stres oksidatif pada protein

Adanya stres oksidatif akan menyebabkan terjadinya degradasi protein, degradasi protein inilah yang dapat merusak struktur protein (Clarkson & Thompson, 2000:1). Kerusakan yang terjadi pada protein disebabkan karena serangan langsung dari ROS atau karena *secondary damage* (serangan yang ditimbulkan karena hasil akhir dari peroksidasi lemak, seperti: MDA dan HNE) (Halliwell & Gutteridge, 1999:315) akan bereaksi dengan gugus amino dan gugus lisil yang dapat berikatan secara kovalen dengan gugus thiol (Winarsi, 2007:63).

Oksidan dapat merusak senyawa protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam amino penyusun protein. Diantara asam amino penyusun protein, yang paling rawan adalah asam amino sistein. Karena sistein mengandung gugusan sulfhidril (SH) yang peka terhadap serangan radikal bebas, seperti: radikal hidroksil (Suryohudoyo, 1993:12; Patellongi, 1999:35; Winarsi, 2007: 63). Berikut adalah reaksinya:



Peningkatan produk protein yang teroksidasi berdampak terhadap terjadinya beberapa penyakit, seperti: Alzheimer, Parkinson, *Duchene muscular dystrophy*, *amyotrophic lateral sclerosis*, *rheumatoid arthritis*, *progeria*, katarak dan stres oksidatif pada otot akibat olahraga (Pacher dkk, 2007:1; Wikipedia, 2008:1).

### 2.5.4. Stres oksidatif pada DNA

Stres oksidatif bisa terjadi pada DNA, karena asam nukleat (seperti DNA dan RNA) banyak mengandung karbohidrat seperti ribosa dan deoksiribosa merupakan sasaran dari reaktivitas senyawa radikal bebas (Winarsi, 2007:65).

Radikal hidroksil dapat menyebabkan terjadinya perubahan pada DNA yang berupa: hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan inti purin dan pirimidin, serta

terputusnya rantai fosfodiester DNA. Bila terjadi kerusakan maka masih bisa diperbaiki dengan sistem perbaikan DNA. Namun bila terjadi kerusakan yang terlalu parah, misalnya rantai DNA terputus di berbagai tempat, maka kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki dan akan mengganggu proses replikasi sel. Perbaikan DNA sering menimbulkan mutasi, karena saat memperbaiki kerusakan pada DNA tersebut, sistem perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan (*error prone*), dan apabila proses mutasi ini mengenai gen tertentu (proto-onkogen) maka mutasi tersebut akan dapat menimbulkan kanker (Suryohudoyo, 1993:17).

## 2.6. Eritrosit

Orang laki-laki normal, dalam setiap millimeter kubik darahnya mengandung 5.200.000 ( $\pm 300.000$ ) eritrosit. Sedangkan pada wanita normal dalam setiap millimeter kubik darah mengandung 4.700.000 ( $\pm 300.000$ ) eritrosit (Guyton, 2007:419). Fungsi utama dari eritrosit adalah membawa oksigen dari paru menuju ke jaringan, dengan bantuan hemoglobin (Guyton, 2007:419). Dan membawa karbondioksida dari jaringan menuju ke paru, eritrosit merupakan salahsatu sel tubuh yang sangat rentan terhadap aktivitas radikal bebas. Eritrosit mempunyai diameter kurang lebih 7,8  $\mu\text{m}$  dan ketebalan 1  $\mu\text{m}$  sampai 2,5  $\mu\text{m}$ , volume rata-rata 90 sampai 95  $\mu\text{m}^3$  tidak mengandung inti sel dan organel sitoplasma lain, berbentuk cakram-bikonkaf. Umur eritrosit manusia sekitar 120 hari (Wikipedia, 2008:1).

Serangan radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya perubahan mekanis dalam eritrosit (Yalcin dkk, 2000:5). Latihan peningkatkan masa otot dapat menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif. Eritrosit merupakan salahsatu jenis sel yang dapat menjadi sasaran serangan senyawa oksidan yang terbentuk selama olahraga.

Pembentukan oksidan dan radikal bebas merupakan salahsatu hal yang dapat meningkatkan terjadinya kerusakan oksidatif pada eritrosit (Biswas dkk, 2005:1).

Dampak olahraga yang bersifat akut pada eritrosit terjadi karena beberapa mekanisme, yaitu: respon radang (*inflammatory response*) dan peningkatan produksi asam laktat (Yalcin dkk, 2000:5). Produksi asam laktat yang meningkat akan merubah radikal bebas yang lemah (seperti radikal superoksida) menjadi radikal bebas yang kuat (seperti: radikal hidroksil).

## **2.7. 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 indikator yang digunakan untuk mengukur oksidan dalam tubuh adalah kadar MDA plasma, sedangkan untuk mengukur antioksidan menggunakan aktivitas enzim SOD eritrosit.

### **2.7.1. Pengukuran kadar MDA plasma**

Uji TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substance*) atau uji TBA dari Uchiyama & Mihara (dalam Patellongi, 1999:65). Merupakan uji yang paling umum digunakan untuk mengukur produksi peroksidasi lemak pada membran lipid atau asam lemak. 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.

### **2.7.2. Pengukuran aktivitas enzim SOD eritrosit**

Superoksida Dismutase (SOD) merupakan salahsatu indikator yang dapat digunakan untuk menilai adanya senyawa oksigen reaktif secara tidak langsung. SOD merupakan enzim antioksidan yang berguna untuk pertahanan terhadap senyawa

oksigen reaktif. Ada 2 jenis SOD yaitu SOD intraselular (Cu/ZnSOD dan MnSOD) dan SOD ekstraselular. Pemeriksaan SOD dilakukan dengan mengukur SOD pada eritrosit sehingga dapat diasumsikan SOD yang diperiksa adalah SOD intraselular (Indriyanti, 2005:4).

Superoksida anion radikal ( $O_2^-$ ) diproduksi dalam tubuh sebagai hasil aktivitas biokimia dari berbagai macam sel, seperti: neutrofil, makrofag, dan sel kupffer. Produksi  $O_2^-$  dapat dideteksi dengan bermacam-macam metode, yaitu: oksidasi sitokrom-c, pewarnaan nitroblue tetrazolium (NBT), dan pengukuran chemiluminescence (CL) (Sakurai & Terakawa, 2003:203). Aktivitas SOD (U/mL) dan GPX ( $\mu\text{mol/L NADPH per minute per milliliter}$ ) di dalam plasma, diukur dengan metode L'Abbé and Fisher, sedangkan untuk mengukur aktivitas SOD pada eritrosit, terlebih dahulu RBC akan dihemolisis dengan air destilasi dingin, dan diekstrak menggunakan ethanol/chloroform dengan perbandingan 1:1 (Cherubini dkk, 2000:6).

Cara pemeriksaan SOD yang akan digunakan adalah cara Wong, 1989 (dalam Patellongi, 1999:65). Prinsip dasarnya adalah bahwa superoxide dapat mereduksi NBT, SOD dapat menghambat reduksi NBT oleh superoxide, karena SOD mengikat superoksida. Apabila xanthine direaksikan dengan xanthine oxidase akan terbentuk superoxide yang dapat mereduksi NBT. Hasil reduksi NBT akan membentuk formazan. Berdasarkan reaksi ini ditentukan unit SOD sesuai dengan kemampuan SOD menghambat reduksi NBT (Patellongi, 1999:66).

Prosedur kerjanya adalah sebagai berikut: 1) dibuat kurva standar SOD, yang digunakan untuk menentukan kadar SOD sampel, 2) preparasi sampel, 3) Menetapkan konsentrasi SOD sampel melalui grafik standar pada spektrofotometer.