

DISERTASI

**RESPON IMUN (KORTISOL, $TNF\alpha$, HMGB1) PADA
REMAJA YANG TERLATIH DAN TIDAK TERLATIH
SETELAH EXERCISE LARI 12 MENIT**

**IMMUNE RESPONSE (CORTISOL, $TNF\alpha$, HMGB1) IN
TRAINED AND UNTRAINED ADOLESCENT
AFTER 12 MINUTES RUN EXERCISE**



**HULDANI
C013182020**

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2021

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT dan sholawat tercurah kepada baginda Rasul Muhammad SAW bahwa atas restu dan karunia-Nya sehingga penyusunan disertasi dengan judul “Mengetahui efek Ekstrak Daun Miana terhadap Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* melalui ekspresi NRAMP-1” dapat terselesaikan dengan baik dan lancar. Penulis menyadari sepenuhnya disertasi ini dapat diselesaikan berkat bantuan, bimbingan, arahan, saran, koreksi dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin menghanturkan terima kasih yang sebesar-besarnya dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang terhormat:

1. Dr. dr. Ilhamjaya A. Patellongi, M.Kes, selaku promotor yang senantiasa memotivasi, membimbing, mendorong dan meluangkan waktu di tengah kesibukan bagi penulis sejak awal penelitian ini hingga pada akhir penulisan disertasi ini.

2. Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D, Sp.MK(K) selaku ko-promotor dengan penuh kesabaran memberi semangat, motivasi, ide-ide, merangkul dan membantu sejak awal penelitian hingga selesainya disertasi ini.

3. Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes, selaku ko-promotor dengan penuh perhatian dan penuh kesabaran memberi semangat, motivasi, ide-ide, merangkul dan membantu sejak awal penelitian hingga selesainya disertasi ini.

4. Dr. dr. Agung Dwi W.W, M.Si, Klin, Sp.MK, selaku penguji yang sangat berkompeten dibidangnya yang telah memberikan dukungan sejak awal penelitian dan mendukung sebagai ketua PDPI Pusat untuk terlaksananya penelitian ini.

5. dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, SP.GK(K), Prof. Dr. dr. Andi Wardihan Sinrang, Sp.And(K), Prof. Dr. drg. Muh. Harun Achmad, M.Kes, Sp.GKA(K), dr. Aryadi Arsyad, M.Biom, Sc, Ph.D, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS selaku penguji yang berkompeten dibidangnya yang tidak lelah memberikan masukan, saran-saran dan nasehat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini.

6. Prof. Dr. Dr. dr. Eka Julianta Wahjoepramono, SpBS, PhD sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Pelita Harapan dan selaku pendukung utama yang selalu mendorong semangat untuk maju dan berprestasi baik di tingkat Nasional maupun Internasional.

7. Terima kasih kepada Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MPH, Rektor Universitas Lambung Mangkurat Prof. Dr. H. Sutarto Hadi, M.Si., M.Sc.

8. Terima kasih buat Wakil Rektor I ULM Bidang Akademik : Prof. Dr. Aminuddin Prahatama Putra, M.Pd.

9. Terima kasih buat Dekan Fakultas Kedokteran Unlam Dr. dr. Iwan Aflanie, M.Kes, Sp.F, SH.

10. Terima kasih buat Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)

11. Khusus untuk istri tercinta Hj. Sari Yanti Muhardini Dardiah, A.Md dan anakku Wafa Ahdiya dan Muhammad Hasan Ridhoni yang selalu memberikan dukungan, semangat, dan doa serta pengorbanan yang sangat besar dengan penuh keseriusan dan pengertiannya mendampingi penulis menyelesaikan penelitian dan pendidikan ini.

12. Orang tua tercinta H. Asrani dan Hj Taesyah yang terus memberikan dukungan moril, doa dan semangat untuk penulis untuk menyelesaikan penelitian dan pendidikan ini.

13. Terima kasih buat seluruh teman angkatan 2018 Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran FK Unhas

14. Seluruh saudara kandung dan kak ipar, tante dan om, sepupu serta ponakan yang telah mendukung saya untuk menyelesaikan pendidikan ini.

15. Ucapan terimakasih dan penghargaan juga disampaikan kepada semua pihak yang tidak dapat saya sampaikan satu demi satu yang telah dengan tulus serta segenap hati membantu saya sejak awal hingga akhir terselesaikannya proses pendidikan dan penelitian ini.

Saya juga menghanturkan maaf sebesar-besarnya apabila terdapat kesalahan dalam penyusunan disertasi ini. Semoga Disertasi ini dapat dijadikan panduan dan bermanfaat bagi banyak orang.

Makassar, 30 JULI 2021

HULDANI

DISERTASI

**RESPON IMUN (KORTISOL, TNF α , HMGB1) PADA REMAJA
YANG TERLATIH DAN TIDAK TERLATIH
SETELAH EXERCISE LARI 12 MENIT**

Disusun dan diajukan oleh

HULDANI
C013182020

*Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 30 Juli 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor,


Dr. dr. Ilhamiaya Patellongi, M.Kes
Nip. 195801281989031002

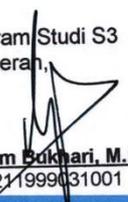
Co. Promotor


Prof. dr. Muh. Nasrum Massi, Ph.D. Sp.MK
Nip. 196709101996031001

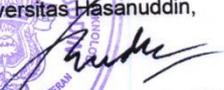
Co. Promotor


Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
Nip. 196711031998021001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,


dr. Agussalim Bukhari, M.Med, Ph.D, Sp.GK(K)
Nip. 197008211999031001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,


Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 196612131995031009



ABSTRACT

HULDANI. *The Difference of Vo2 Max and Immune Profile (Hmbg1, Cortisol, Il-6, Tnfa, Number of Leukocytes, Neutrophils and Monocyte) in Adolescent Who Were Trained and Untrained in Basketball, (supevised by Ilhamjaya Patellongi, Muh. Nasrum Massi, and irfan idris)*

This study aims to explain the differences in VO₂ max values in adolescents and differences in levels of HMGB1, cortisol, IL6, TNF Alfa, and the number of leukocytes, neutrophils and monocytes after moderate intensity aerobic exercise (70-79% DNM) for 12 minutes.

This was a cross sectional study on 15 basketball-trained students and 15 untrained basketball students at SMAN 1 Banjarbaru with an average age of 17 years. The sampling technique was carried out by using purposive sampling method. Measurement of VO₂ max value was done on the first day with MFT (Multistage Fitness Test / Bleep Test). Measurements of HMGB1, cortisol, IL6., TNF Alfa, and the number of leukocytes, neutrophils, and monocytes were carried out on the third day by taking blood after students did 12 minutes of running intensity aerobic exercise. Data analysis used the Mann-Whitney test for VO₂ max, cortisol, IL6, TNF Alfa, and leukocyte and monocyte counts and unpaired t test for HMGB1 and neutrophils.

The results indicate that the average VO₂ max, HMGB1, IL6, and cortisol scores of basketball-trained students are higher than those who were not trained. In contrast, the TNF alpha, leukocytes, neutrophils and untrained monocytes are higher in levels and numbers. The results of data analysis show that there are significant differences in basketball-trained and non-trained students ($p < 0.05$) on VO₂ max, cortisol and TNE Alfa. There is no significant difference ($p > 0.05$) after 12 minutes of moderate intensity aerobic exercise in basketball-trained and untrained students on HMGB1, IL6, the number of leukocytes, neutrophils, and monocytes. This study indicates that basketball-trained students have better VO₂ max scores than untrained basketball students. The 12 minutes of moderate aerobic exercise resulted in a higher increase in cortisol levels in basketball-trained students than in untrained students, while TNF alpha levels were opposite, 12 minutes of aerobic exercise can be used as a method to increase the body's immune system and show the homeostasis process in adolescents is going well.

Keywords: 12 minutes running aerobic exercise, immune profile, basketball trained



ABSTRAK

HULDANI. *Perbedaan VO_2 Maks dan profil Imun (HMGB-1, Kortisol; IL-6, $TNF\alpha$, Jumlah Leukosit, Neutrofil, dan Monosit) pada Remaja yang Terlatih Basket dan Tidak Terlatih (dibimbing oleh Ilhamjaya Patellongi, Muhammad nasrum Massi, dan Irfan Idris).*

Penelitian ini bertujuan menjelaskan perbedaan nilai VO_2 maks pada remaja dan perbedaan kadar HMGB-1, kortisol, IL-6, TNF Alfa, jumlah leukosit, neutrofil, dan monosit setelah latihan aerobik intensitas sedang (70-79% DNM selama dua belas menit.

Penelitian dilakukan dengan metode kajian potong lintang terhadap 15 siswa terlatih basket dan 15 siswa tidak terlatih baet di SMAN 1 Banjarbaru dengan rata-rata usia tujuh belas tahun. Penyampelan menggunakan teknik penyampelan purposif. Pengukuran nilai VO_2 maks dilakukan pada hari pertama dengan *multistage fitness tes (MFT)/Bleep Tes*. Pengukuran HMGB-1, kortisol, IL-6, TNF Alfa, jumlah leukosit, neutrofil, dan monosit dilakukan pada hari ke tiga dengan pengambilan darah setelah siswa melakukan latihan aerobik intensitas sedang lari dua belas menit. Analisis data menggunakan uji Mann Whitney untuk nilai VO_2 maks, kortisol, IL-6, TNF Alfa, serta jumlah leukosit, dan monosit dan uji-T tidak berpasangan untuk HMGB-1 dan neutrofil.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata nilai VO_2 maks, HMGB-1, IL-6, dan kortisol siswa terlatih basket lebih tinggi dibandingkan siswa tidak terlatih. Sebaliknya, nilai TNF Alfa, leukosit, netrofil, dan monosit siswa yang tidak terlatih lebih tinggi kadar dan jumlahnya daripada siswa terlatih. Hasil analisis data menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada siswa terlatih basket dan tidak terlatih ($p < 0,05$) pada VO_2 maks, kortisol, dan TNF Alfa. Tidak terdapat perbedaan bermakna ($p > 0,05$) setelah latihan aerobik intensitas sedang dua belas menit pada siswa terlatih basket dan tidak terlatih untuk HMGB-1, IL-6, jumlah leukosit, neutrofil, dan monosit. Dengan kata lain bahwa siswa terlatih basket memiliki nilai VO_2 maks yang lebih baik dibandingkan siswa tidak terlatih basket. Latihan aerobik intensitas sedang dua belas menit menyebabkan peningkatan kadar kortisol lebih tinggi pada siswa terlatih basket dibandingkan dengan siswa tidak terlatih, sedangkan kadar TNF Alfa sebaliknya. Latihan aerobik dua belas menit dapat dipakai sebagai metode untuk meningkatkan sistem imun tubuh dan menunjukkan proses homeostatis pada remaja berlangsung dengan baik.

Kata kunci: latihan aerobik lari dua belas menit, profil imun, terlatih basket





KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297

EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Huldani
NIM : C013182020
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

Respon Imun (Kortisol, TNF α , HMGB1) pada Remaja yang Terlatih dan Tidak Terlatih setelah Exercise Lari 12 menit.

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Agustus 2021

Yang menyatakan,



Huldani

DAFTAR ISI

PRAKATA	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	v
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	vi
DAFTAR TABEL, GRAFIK DAN GAMBAR	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 . Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
II. 1 Aktivitas Fisik.....	5
II.1.1 Definisi.....	5
II.1.2 Pengukuran Kesegaran Jasmani.....	6
II.1.3 Jenis – jenis aktivitas fisik remaja.....	6
II.1.4 Manfaat Aktifitas Fisik	10
II.2 VO2 Maks.....	12
II.3 Latihan Basket	13
II.4 Damage associated molecular patterns (DAMPS)	15
2.5 IMUNOLOGI PADA EXERCISE.....	19
2.5.1 HMGB1	19
2.5.2 KORTISOL.....	21

2.5.3 TNF Alfa.....	23
BAB III KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP	
III.1. Kerangka Teori.....	28
III.2. Kerangka Konsep	43
III.3. Hipotesis	43
III.4. Definisi Operasional	44
BAB IV METODE PENELITIAN	
IV.1 Rancangan Penelitian	46
IV. 2 Lokasi Dan Waktu.....	46
IV. 3 Populasi dan Teknik Sampel.....	47
IV. 3.1 Sampel	47
IV.3.2 Besar Sampel	48
IV.4 Variabel Penelitian	49
IV. 5 Instrumen Pengumpulan Data	51
IV.5.1 Bahan Penelitian	51
IV.5.2 Instrumen Penelitian	51
IV. 6 Data	52
IV. 7 Teknik Pengumpulan Data	52
IV. 8 Analisis Data	52
IV. 9 Persetujuan Etik.....	52
IV.10 Alur Penelitian.....	53
BAB V HASIL PENELITIAN	
V.1. Deskripsi Umum.....	65
V.2. Nilai VO2 maks.....	67
V.3. Nilai Konsentrasi Kortisol.....	68
V.4. Nilai Konsentrasi TNF Alfa	69
V.5. Nilai konsentrasi HMGB1	70
V.6. Hasil Uji Korelasi Kortisol dan TNF Alfa, Kortisol dan HMGB1, HMGB1 dan TNF Alfa pada remaja terlatih basket.....	70
V.7. Hasil Uji Korelasi Kortisol dan TNF Alfa, Kortisol dan HMGB1, HMGB1 dan TNF Alfa pada remaja tidak terlatih basket.....	71

BAB VI PEMBAHASAN	
VI.1. Kortisol, TNF Alfa, HMGB1	72
VI.2. Keterbatasan Penelitian	79
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
VII.1. KESIMPULAN.....	81
VII.2. SARAN.....	81
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN	105

DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

IL	: Interleukin
VO ₂ Maks	: Konsumsi Oksigen Maksimum
BDNF	: Brain Derived Neurotrophic Faktor
IFN γ	: Interferon Gamma
MCP	: Monocyte Chemoattractan Protein
TNF α	: Tumor Necrosis Factor alpha
CXCR	: Chemoattractan Reseptor
CXCL8	: Interleukin 8
MFT	: Multistage Fitness Test
DNM	: Denyut Nadi Maksimal
DAMPs	: Damage Associated Molecular Patterns
PAMPs	: Pathogen Associated Molecular Patterns
HMGB1	: High Mobility Group Box-1
LIF	: Leukemia Inhibitory Factor
TGF- β	: Transforming Growth Factor Beta
CRP	: C Reaktif Protein
MIP	: Macrophag Inflammation Protein
SCM1	: Single C Motif Chemokine 1
TLR	: Tol Like Receptor
RAGE	: Receptor Advanced Glycation End Product
EPC	: Endotel Progenitor Cell
PMN	: Poli Morpho Nuclear
IgG	: Immunoglobulin G
IRAK	: Interleukin 1 Receptor Associated Kinase
MyD88	: Myeloid Differentiation Protein 88
NF κ b	: Nuklear Faktor Kafa Beta

DAFTAR TABEL, GRAFIK DAN GAMBAR

Tabel

2.1	Contoh dari PAMPs dan DAMPs.....	16
5.1	Karakteristik subjek penelitian	66
5.2	Data Hasil Penelitian	66
5.3	Hasil analisis data nilai VO2 maks	67
5.4	Hasil Analisis Nilai Konsentrasi Kortisol Darah	68
5.5	Hasil Analisis Nilai Konsentrasi TNF Alfa	69
5.6	Hasil Analisis Nilai konsentrasi HMGB1.....	70
5.7	Hasil Uji Korelasi Kortisol dan TNF Alfa, Kortisol dan HMGB1, HMGB1 dan TNF Alfa pada remaja terlatih basket.....	70
5.8	Hasil Uji Korelasi Kortisol dan TNF Alfa, Kortisol dan HMGB1, HMGB1 dan TNF Alfa pada remaja tidak terlatih basket.....	71

Grafik

5.1.	Grafik boxplot nilai VO2 max, Kortisol, TNF Alpha, dan HMGB1.....	67
------	---	----

Gambar

2.2	Damage Associated Molecular Patterns (DAMPS)	18
3.1	Model kerja dari respons alarmin yang dirangsang olahraga	32

BAB 1

PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang Masalah

Kasus positif Covid-19 di Indonesia pertama kali dideteksi pada tanggal 2 Maret 2020, ketika dua orang terkonfirmasi tertular dari seorang warga negara Jepang. Pada 16 Maret, Menteri Pendayagunaan Aparatur Negara dan Reformasi Birokrasi memperbolehkan aparatur sipil negara (ASN) untuk bekerja dari rumah sesuai dengan kebutuhan. Pada tanggal 9 April, pandemi sudah menyebar ke 34 provinsi dengan DKI Jakarta, Jawa Barat, dan Jawa Tengah sebagai provinsi paling terpapar SARS-CoV-2 di Indonesia (Rebecca, 2020).

Pandemi Covid-19 membuat semua orang harus beraktivitas dan tinggal di rumah. Sehingga sulit pergi ke luar rumah untuk berolahraga. Semakin lama tinggal di rumah, semakin hilang motivasi diri untuk berolahraga. Olahraga di tengah pandemi Covid-19 tidak mustahil dilakukan. Bahkan semestinya olahraga kian digiatkan untuk lebih menjaga kebugaran tubuh. Tubuh yang bugar dan sehat akan lebih terhadap virus karena daya tahan tubuh yang lebih kuat. Diiringi dengan kedisiplinan menerapkan protokol kesehatan demi mencegah penularan virus corona, olahraga bisa memberikan manfaat besar bagi setiap orang.

Tidak semua jenis olahraga bisa dilakukan lantaran rentan menjadi sarana penularan Covid-19. Salah satu olahraga yang bisa dilakukan pada masa pandemi adalah lari 12 menit. Lari 12 menit bisa dilaksanakan pada pagi hari dimana belum banyak kontak dengan orang lain. Lari 12 menit (Test Cooper) yang dirancang oleh

Cooper merupakan salah satu bentuk tes lapangan untuk mengukur VO₂ maks sebagai indikator tingkat kebugaran jasmani seseorang. Lari Cooper 12 menit adalah tes lari maksimal kebugaran aerobik yang populer, di mana peserta mencoba dan menempuh jarak sejauh mungkin dalam 12 menit baik berlari ataupun berjalan (Banibrata, 2013; Elizabeth, 2019). Olahraga singkat kardio yang intens hanya 12 menit dapat mengubah lebih dari 80 persen metabolit yang beredar, yang dapat mempengaruhi kesehatan kardiometabolik dan kardiovaskular seseorang dalam jangka panjang. (Rachael, 2020). Aktivitas fisik atau lari 12 menit menghasilkan perubahan dan peningkatan efisiensi sistem fisiologis tubuh terutama sistem imun, baik perubahan yang bersifat sementara (respon), maupun perubahan yang bersifat menetap (Mulyono, 2016; Cole, 2016; Gustafson *et.al*, 2017; Alack *et.al*, 2019).

Respon imun seseorang baik pada orang yang terlatih olahraga atau tidak, bisa dilihat dari marker imunologis seperti kortisol, TNF- α (Tumor Necrosis Factor), dan HMGB1 (High Mobility Group Protein Box 1). Kortisol adalah hormon steroid yang mengatur berbagai proses di seluruh tubuh, termasuk metabolisme dan respon imun. Kortisol juga memiliki peran yang sangat penting dalam membantu tubuh merespon stres (Jefferies, 1991; Morey *et.al.*, 2015; Thau *et.al.*, 2021). TNF- α adalah mediator kunci dari proses inflamasi (Bernecker *et.al.*, 2011; Moon *et.al.*, 2012). HMGB1 adalah protein inti yang meningkatkan inflamasi ketika dilepaskan secara ekstraseluler setelah aktivasi seluler, stres, kerusakan, atau kematian sel (Anderson., 2018), atau diluar sel sebagai damage associated molecular pattern (DAMPs) (Venereau *et.al*, 2016).

I.2 . Rumusan Masalah

Bagaimana respon imun (Kadar Kortisol, TNF- α , HMGB1) pada remaja terlatih dan tidak setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit. Apakah terdapat korelasi kadar kortisol dengan TNF Alfa, Kadar kortisol dengan HMGB1 dan kadar HMGB1 dengan TNF Alfa pada remaja yang terlatih dan tidak terlatih setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit.

I.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menjelaskan respon imun (kadar Kortisol, TNF- α , dan HMGB1) antara remaja terlatih dan tidak terlatih setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit. Menjelaskan korelasi Kadar Kortisol dengan TNF Alfa, Kadar kortisol dengan HMGB1, dan kadar HMGB1 dengan TNF Alfa pada remaja yang terlatih dan tidak terlatih setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis nilai VO₂ maks pada remaja terlatih dan tidak terlatih.
2. Menganalisis kadar Kortisol, TNF Alfa, dan HMGB1 setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit.
3. Menganalisis korelasi kadar kortisol, TNF Alfa, dan HMGB1 antara remaja yang

terlatih dan tidak terlatih setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit.

4. Menganalisis korelasi kadar Kortisol dengan TNF Alfa, kadar Kortisol dengan HMGB1, dan kadar HMGB1 dengan TNF Alfa pada remaja yang terlatih dan tidak Terlatih setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dalam pengembangan keilmuan terutama exercise imunologi tentang perbedaan respon imun (kadar Kortisol, TNF- α , dan HMGB1) antara remaja terlatih dan tidak setelah latihan exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit.

1.4.2 Manfaat Praktis

Manfaat praktis penelitian ini dapat digunakan untuk menyadarkan masyarakat akan manfaat latihan aerobik secara rutin dan kontinyu dalam meningkatkan daya tahan tubuh. Dapat memberikan masukan tentang latihan aerobik yang baik dalam meningkatkan kesehatan tubuh. Sebagai model latihan aerobik untuk atlet dan remaja sebagai generasi mendatang yang sehat.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Aktivitas Fisik

II.1.1 Definisi

Aktivitas fisik didefinisikan sebagai gerakan tubuh yang dihasilkan oleh kontraksi otot rangka yang menghasilkan peningkatan substansial dalam kebutuhan kalori yang lebih pada pengeluaran energi istirahat. Latihan adalah jenis aktivitas fisik yang terdiri dari yang direncanakan, terstruktur, dan gerakan tubuh berulang dilakukan untuk meningkatkan dan / atau mempertahankan satu atau lebih komponen kebugaran fisik. Kebugaran fisik didefinisikan sebagai satu set atribut atau karakteristik individu memiliki atau mencapai itu berhubungan dengan kemampuan mereka untuk melakukan aktivitas fisik. Karakteristik ini biasanya dipisahkan menjadi komponen yang berhubungan dengan kesehatan dan keterampilan terkait kebugaran fisik (Linda *et.al.*, 2014).

Aktivitas fisik adalah setiap pergerakan tubuh akibat aktivitas otot-otot skelet yang mengakibatkan pengeluaran energi. Setiap orang melakukan aktivitas fisik, banyaknya bervariasi antara individu satu dengan yang lain tergantung gaya hidup perorangan dan faktor lainnya. Aktivitas fisik terdiri dari aktivitas selama kerja, tidur, dan pada waktu senggang. Latihan fisik yang terencana, terstruktur, dilakukan berulang-ulang termasuk olahraga fisik merupakan bagian dari aktivitas fisik. Aktivitas fisik sedang yang dilakukan secara terus menerus dapat mencegah risiko terjadinya

penyakit tidak menular seperti penyakit pembuluh darah, diabetes, kanker, dan lainnya (Kristanti dkk, 2001).

II.1.2 Pengukuran Kesegaran Jasmani

Kesegaran jasmani dapat diukur dengan menentukan kapasitas maksimal volume oksigen (VO_2 maks). VO_2 maks adalah ukuran dasar fisiologi olahraga telah digambarkan sebagai "konsep yang paling berpengaruh dalam fisiologi olahraga yang modern". VO_2 maks secara luas dikenal baik sebagai representasi dari keterbatasan fungsional dari sistem kardiovaskular serta ukuran kebugaran aerobik (Astorino, 2000).

VO_2 maks adalah jumlah oksigen maksimal yang dapat dihantarkan dari paru-paru ke otot dalam mililiter atau dalam menit per kilogram berat badan (ml/kg/min). Seseorang dengan stamina yang baik memiliki nilai VO_2 maks yang lebih tinggi dan dapat melakukan latihan yang lebih berat. Salah satu cara untuk mengukur VO_2 maks adalah dengan *Multistage Finess Test* (MFT) yaitu merupakan teknik pengukuran VO_2 maks secara tidak langsung dengan cara berlari bolak-balik dengan jarak tertentu hingga batas maksimal kemampuan seseorang (Huldani, 2010). Nilai VO_2 maks normatif pada laki laki remaja (13-19 tahun) menurut Heyward 1998 ada 6 kategori, very poor < 35; poor 35-38,3; fair 38,4-45,1; good 45,2-50,9; excellent 51,0-55,9 dan superior > 55,9 (Carl P, 2015).

II.1.3 Jenis – jenis aktivitas fisik remaja

Aktivitas fisik dapat digolongkan menjadi tiga tingkatan, aktivitas fisik yang sesuai untuk remaja sebagai berikut (Dhian, 2012) :

- a. Kegiatan ringan : hanya memerlukan sedikit tenaga dan biasanya tidak menyebabkan perubahan dalam pernapasan atau ketahanan (*endurance*).
Contoh : berjalan kaki, menyapu lantai, mencuci baju/piring, mencuci kendaraan, berdandan, duduk, les di sekolah, les di luar sekolah, mengasuh adik, nonton TV, aktivitas main *play station*, main komputer, belajar di rumah, nongkrong.
- b. Kegiatan sedang : membutuhkan tenaga intens atau terus menerus, gerakan otot yang berirama atau kelenturan (*flexibility*). Contoh: berlari kecil, tenis meja, berenang, bermain dengan hewan peliharaan, bersepeda, bermain musik, jalan cepat.
- c. Kegiatan berat : biasanya berhubungan dengan olahraga dan membutuhkan kekuatan (*strength*), membuat berkeringat. Contoh : berlari, bermain sepak bola, aerobik, bela diri (misal karate, taekwondo, pencak silat) dan outbond.

Ciri olahraga aerobik adalah olahraga yang mengaktifkan otot-otot

(Giriwijoyo dan Siddik, 2012) :

- sekitar 40% atau lebih
- secara serentak/simultan
- dengan intensitas yang adekuat (cukup) dan sesuai umur (nadi mencapai apa yang disebut "daerah latihan")
- secara kontinyu dengan waktu adekuat (minimal 10 menit atau lebih).

Denyut nadi merupakan indikator untuk menilai intensitas olahraga/aktivitas fisik. Peningkatan intensitas olahraga/aktivitas fisik akan

diikuti dengan peningkatan denyut nadi yang sesuai. Rentangan denyut nadi olahraga/aktivitas fisik ialah denyut nadi istirahat sampai ± 80 % denyut nadi maksimal (DNM) sesuai usia. DNM dihitung dengan rumus (DNM = 220 - Umur). Latihan aerobik minimal adalah 10 menit yang disebut sebagai waktu minimal yang efektif (adekuat) untuk meningkatkan kapasitas aerobik seseorang, sedang waktu maksimalnya adalah 20 menit yang disebut sebagai waktu maksimal yang efisien (Giriwijoyo dan Siddik, 2012).

Latihan aerobik terbagi tiga zona berdasar konsep kardiovaskuler dan metabolik yaitu zona aerobik pemulihan (intensitas 60%-70% denyut nadi maksimal = DNM); zona aerobik ekstensif (intensitas 70%-80% DNM) dan zona aerobik intensif (intensitas 80%-90% DNM) (Shadiqin, 2007).

Lari 12 menit

Dalam olahraga, daya tahan kardiovaskular mengacu pada kemampuan seorang untuk mempertahankan latihan yang berkepanjangan selama beberapa menit, jam, atau bahkan berhari-hari. Daya tahan umumnya mengacu pada daya tahan aerobik. Latihan aerobik membutuhkan oksigen untuk membantu memasok energi yang dibutuhkan untuk berolahraga. Oleh karena itu, tujuan latihan daya tahan adalah untuk mengembangkan dan meningkatkan sistem tubuh yang menghasilkan dan menyalurkan energi yang dibutuhkan untuk memenuhi tuntutan aktivitas yang berkepanjangan (Mayorga *et.al.*, 2016).

Cara Melakukan Tes Lari 12 Menit

Tes lari 12 menit Cooper mengharuskan orang yang diuji untuk berlari atau berjalan sejauh mungkin dalam periode 12 menit. Tujuan dari tes ini adalah untuk mengukur jarak maksimum yang ditempuh oleh individu selama periode 12 menit dan biasanya dilakukan di lintasan lari dengan menempatkan kerucut pada berbagai jarak untuk memungkinkan pengukuran jarak. Sebuah stopwatch diperlukan untuk memastikan bahwa individu berjalan untuk jumlah waktu yang benar (Cooper, 1968).

Berikut adalah beberapa faktor yang perlu diingat saat melakukan tes lari 12 menit Cooper:

- Jarak : Catat jumlah mil atau kilometer yang ditempuh dalam 12 menit.
- Peralatan : Pengatur waktu untuk mengetahui kapan 12 menit habis. Perhatikan bahwa beberapa jam tangan lari dan monitor kebugaran memiliki mode uji kebugaran 12 menit.
- Lokasi : Tes ini dirancang untuk dilakukan di lintasan dengan jarak yang ditandai dengan jelas. Tes bisa dilakukan di treadmill, tetapi pastikan untuk menaikkan kemiringan ke satu derajat untuk mensimulasikan lari di luar ruangan.
- Keamanan : Ini adalah tes kebugaran yang berat dan disarankan agar Anda memiliki izin dokter sebelum melakukan tes ini sendiri.
- Kecepatan : Saat Anda melakukan pemanasan, mulailah. Berlari atau berjalan sejauh yang Anda bisa dalam 12 menit.

Pemanasan : Lakukan pemanasan singkat selama 10 hingga 15 menit untuk aktivitas berat rendah hingga sedang sebelum melakukan tes kebugaran apa pun.

Untuk menghitung perkiraan hasil VO₂ Max Anda (dalam ml/kg/menit) gunakan salah satu rumus berikut:

Kilometer: $VO_{2max} = (22,351 \times \text{kilometer}) - 11,288$

II.1.4 Manfaat Aktifitas Fisik

Cara yang paling sederhana untuk meningkatkan kekebalan tubuh adalah dengan melakukan latihan fisik/olahraga serta istirahat dan tidur yang cukup, Latihan fisik ringan sekalipun, seperti aerobik selama 30 menit lima kali seminggu, mampu mengaktifkan kerja sel darah putih, yang merupakan komponen utama kekebalan tubuh pada sirkulasi darah, idealnya melakukan latihan aerobik selama 30 menit (Yulianto, 2012, Diah, 2015).

Latihan aerobik secara teratur mempunyai berbagai efek perlindungan yang signifikan terhadap penyakit jantung iskemik, mengontrol berat badan dan mencegah osteoporosis dengan cara mempertahankan massa tulang. Aktivitas fisik yang teratur juga dapat mencegah keseimbangan dan koordinasi yang akan mengurangi insidens jatuh. Aktivitas fisik meningkatkan sensitivitas terhadap insulin dan menaikkan tingkat HDL kolesterol, dan mengurangi risiko terhadap penyakit jantung. Bahkan aktivitas fisik rekreasional membantu menghilangkan kecemasan dan depresi (Kristanti, 2002).

Aktivitas fisik dan Kebugaran tubuh sangat mengurangi penyakit kardiovaskular. Latihan dan kebugaran tubuh secara keseluruhan juga mengurangi risiko beberapa gangguan metabolisme kronis yang berhubungan dengan obesitas seperti resistensi insulin dan diabetes tipe 2. Olahraga ringan, bahkan tanpa adanya penurunan berat badan yang signifikan, telah ditunjukkan untuk meningkatkan sensitivitas insulin dan mengurangi, atau dalam beberapa kasus menghilangkan, kebutuhan untuk perawatan insulin pada penderita diabetes tipe 2. Peningkatan kebugaran tubuh juga mengurangi risiko beberapa jenis kanker, termasuk payudara, prostat, dan kanker usus besar. Banyak dari efek menguntungkan dari latihan mungkin berhubungan dengan pengurangan obesitas (Hall, 2016).

Intensitas latihan dengan tujuan meningkatkan kebugaran fisik dilakukan pada 60-85% denyut nadi maksimal. Efek latihan fisik terhadap kebugaran jasmani umumnya terlihat setelah 8 sampai 12 minggu. Olahragawan paling banyak melakukan latihan fisik aerobik intensitas sedang. Latihan fisik aerobik intensitas sedang bermanfaat untuk meningkatkan kapasitas kardiovaskular dan meminimalkan terjadinya cedera. Pada latihan fisik aerobik intensitas sedang, sistem energi aerobik menyediakan hampir seluruh energi yang dibutuhkan untuk kerja otot. Asam laktat dihasilkan dalam kecepatan yang cukup lambat selama latihan dan dioksidasi atau diubah kembali menjadi glikogen di hati, kecepatan pembentukan asam laktat seimbang dengan kecepatan pengubahan asam laktat, jadi di bawah kondisi steady-state (siaga) akumulasi laktat minimal (Birch, *et al*, 2004; Irianti, 2008).

Aktivitas fisik yang dapat meningkatkan sistem pertahanan antioksidan adalah aktivitas fisik dengan intensitas rendah dan sedang, karena aktivitas fisik pada tingkat ini mengacu pada program aktivitas fisik yang dirancang untuk meminimalkan pengeluaran radikal bebas. Sedangkan aktivitas fisik yang maksimal dan melelahkan dapat meningkatkan jumlah leukosit dan netrofil baik dalam sirkulasi maupun jaringan (Harahap, 2008).

Neutrofil memainkan peran penting dalam kerusakan jaringan otot pada fase akut cedera otot, sedangkan monosit / makrofag mengatur regenerasi jaringan berikutnya. Neutrofil dan monosit / makrofag mengeluarkan berbagai sitokin. Sel endotel, pericytes, fibroblas, neutrofil dan monosit / makrofag mungkin semua berkontribusi untuk ekspresi sitokin global dalam otot rangka (Peake, *et.al.*, 2015).

II.2. VO2 Maks

Konsumsi oksigen maksimum (VO2 maks) adalah standar emas dalam penilaian daya tahan kardiorespirasi. Dari sudut pandang fisiologis, VO2 maks ditentukan oleh kondisi sentral yang terkait dengan pengangkutan oksigen atmosfer ke otot (fungsi paru, curah jantung, dan volume darah), sedangkan penggunaan oksigen ditentukan secara perifer oleh kondisi seperti otot kapilaritas, kapasitas difusi, dan aktivitas mitokondria. Selain itu, disana adalah komponen genetik signifikan dari VO2 maks. Dari sudut pandang pusat, salah satu faktor utama untuk penentuan VO2 maks adalah curah jantung, yang sesuai dengan volume darah dikeluarkan oleh jantung

dalam satu menit. Nilai ini dapat ditingkatkan dengan sebanyak enam kali dalam hal latihan intensitas tinggi pada atlet terlatih (León-Ariza *et.al.*, 2017).

Kapasitas olahraga maksimal menurun pada orang tua yang sehat terbukti dengan pengurangan VO₂ maks. Studi cross-sectional menunjukkan bahwa penurunan curah jantung maksimal (QC_{max}) memberikan kontribusi signifikan terhadap penurunan terkait usia di VO₂ maks pada individu yang sehat. VO₂ maks itu selama latihan didorong oleh jaringan yang aktif secara metabolik, skala penentu kardiovaskular dari transportasi oksigen ke jaringan yang aktif secara metabolik (massa bebas lemak / FFM) dapat memberikan penilaian kapasitas kardiovaskular yang lebih tepat dalam populasi dengan ukuran dan komposisi tubuh yang berbeda (Carrick-Ranson *et.al.*, 2012).

Meningkatkan kinerja fisik atlet adalah tujuan penting untuk sukses dalam prestasi olahraga. Penuaan mempengaruhi komposisi tubuh dan menghasilkan penurunan konsumsi oksigen maksimal (VO₂ max). Penurunan ini disebabkan oleh beberapa faktor, termasuk peningkatan lemak tubuh dan penurunan curah jantung maksimal (Manal *et.al.*, 2017).

II.3 Latihan Basket

Salah satu bentuk latihan fisik adalah permainan bola basket. Permainan bola basket merupakan olahraga yang digemari oleh masyarakat Indonesia, tetapi tidak sepopuler sepak bola. Olahraga basket memanfaatkan metabolisme aerob–anaerob silih

berganti, walaupun lebih dominan menggunakan metabolisme anaerob (Gomes *et.al*, 2014).

Satu rangsangan latihan yang intens seperti olah raga basket dapat menginduksi sitokin dan kemokin pro-dan anti-inflamasi, serta peningkatan leukosit yang beredar. Sitokin dan kemokin sirkulasi yang diinduksi oleh olahraga termasuk interleukin IL-6, 8, 10 dan protein chemotactic monocyte (MCP) -1. Penelitian kelompok yang dipimpin oleh Pedersen dan Febbraio 1990 menunjukkan kontraksi otot rangka secara langsung merangsang pelepasan IL-6 dari monosit dan mendefinisikan ulang peran barunya sebagai sitokin anti-inflamasi yang di rangsang oleh olahraga, dengan kemampuan untuk meningkatkan jalur substrat yang relevan melalui AMPK, PGC-1 α (Pedersen and Febbraio, 2012).

Latihan aerobik akan merangsang kerusakan otot yang disebabkan peradangan lokal sehingga otot mengalami degenerasi dan regenerasi di sekitar jaringan ikat. Netrofil akan digerakkan menuju sirkulasi setelah aktivitas fisik, dan segera menyusup ke jaringan yang rusak. Netrofil akan ditarik oleh *chemoattractant* seperti komplemen 5a (C5a) dan interleukin (IL)-8 dari kerusakan sel akibat aktivitas fisik. Netrofil berada di dalam otot satu hari sesudah latihan fisik, dan sesudah infiltrasi netrofil, makrofag akan menggantikan dan berada di otot 1-14 hari setelah aktivitas fisik. Daerah yang mengalami cedera otot akan mengeluarkan *chemoattractant* yang menarik netrofil ke daerah cedera otot tersebut, diikuti pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang digunakan sebagai pertahanan tubuh. Netrofil dan makrofag membentuk ROS untuk menurunkan kerusakan jaringan otot, dan mungkin akan membentuk sitokin

proinflamasi. Sugama *et al.* melaporkan bahwa IL-17 dirangsang oleh IL-6 dan diaktivasi oleh IL-23 yang meningkatkan aktivasi netrofil dan kerusakan otot dalam cara yang berbeda dari sitokin pro-inflamasi klasik IL-1 β dan TNF- α pada latihan indurans yang berkepanjangan (Kazue *et al.*, 2014).

Latihan akut dan kronis secara luas diterima bisa mengubah jumlah dan fungsi sistem imunitas bawaan di sirkulasi sel (seperti sel netrofil, monosit, dan natural killer). Hasil latihan akut yang pertama adalah peningkatan jumlah netrofil darah yang sangat cepat, diikuti yang kedua peningkatan hitung netrofil darah beberapa jam kemudian, yang besarnya terkait dengan intensitas dan durasi latihan. Peningkatan awal mungkin karena demarginasi yang disebabkan oleh tegangan geser dan catecholamin, berikutnya karena kortisol merangsang pelepasan netrofil dari sum-sum tulang (Trevor, 2011; Neil *et al.*, 2011).

Model “damage” dari imunologi menyatakan bahwa sistem kekebalan mendeteksi dan merespons kerusakan dengan melepaskan molekul endogen yang disebut alarmin. Olahraga berat mengganggu homeostasis fisiologis, meningkatkan alarmin yang bersirkulasi untuk mendorong respons peradangan (Goh and Behringer, 2018).

II.4. *Damage associated molecular patterns (DAMPS)*

Sistem kekebalan tubuh bawaan juga mengenal molekul endogen yang diproduksi atau dilepaskan dari sel-sel yang rusak dan mati. Zat-zat ini disebut damage-associated molecular patterns (DAMPs) (lihat Tabel 2-1). DAMPs dapat dihasilkan

sebagai akibat dari kerusakan sel yang disebabkan oleh infeksi, tetapi juga sebagai tanda cedera steril untuk sel yang disebabkan oleh salah satu dari berbagai alasan, seperti racun kimia, luka bakar, trauma, atau penurunan suplai darah. DAMPs umumnya tidak dilepaskan dari sel-sel mati oleh apoptosis. Dalam beberapa kasus, sel-sel sehat dari sistem kekebalan tubuh yang dirangsang untuk memproduksi dan melepaskan DAMPs tertentu, kadang-kadang disebut alarmins, yang meningkatkan respon imun bawaan untuk infeksi (Abbas *et. al.*, 2015).

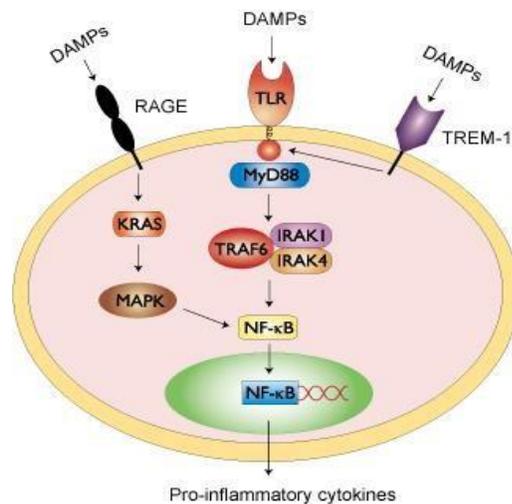
Pathogen-Associated Molecular Patterns		Microbe Type
Nucleic acids	ssRNA	Virus
	dsRNA	Virus
	CpG	Virus, bacteria
Proteins	Pilin	Bacteria
	Flagellin	Bacteria
Cell wall lipids	LPS	Gram-negative bacteria
	Lipoteichoic acid	Gram-positive bacteria
Carbohydrates	Mannan	Fungi, bacteria
	Glucans	Fungi
Damage-Associated Molecular Patterns		
Stress-induced proteins	HSPs	
Crystals	Monosodium urate	
Nuclear proteins	HMGB1	
<i>CpG</i> , cytosine-guanine-rich oligonucleotide <i>dsRNA</i> , double-stranded RNA; <i>HMGB1</i> , high-mobility group box 1; <i>HSP</i> , heat shock protein; <i>LPS</i> , lipopolysaccharide; <i>ssRNA</i> , single-stranded RNA.		

Sumber : Abbas *et. al.*, 2015

Tabel 2. 1 Contoh PAMPs dan DAMPs

Sistem kekebalan tubuh bawaan menggunakan beberapa jenis reseptor seluler, ada di lokasi yang berbeda dalam sel, dan molekul larut dalam darah dan sekresi mukosa untuk mengenali PAMPs dan DAMPs. Cell-associated mengenal molekul sistem kekebalan tubuh bawaan yang diekspresikan oleh fagosit (terutama makrofag dan neutrofil), sel dendritik, sel-sel epitel yang membentuk barier antarmuka antara tubuh dan lingkungan eksternal, dan jenis lain dari sel yang menempati jaringan dan organ . Reseptor seluler untuk PAMPs dan DAMPs sering disebut pola reseptor pengenalan. Mereka diekspresikan di permukaan, di vesikel fagositik, dan dalam sitosol dari berbagai jenis sel, yang semuanya lokasi di mana mikroba dapat hadir. Ketika sel terkait pola reseptor pengenalan ini mengikat PAMPs dan DAMPs, mereka mengaktifkan jalur transduksi sinyal yang meningkatkan fungsi antimikroba dan proinflamasi sel di mana mereka diekspresikan. Selain itu, ada banyak protein berada dalam darah dan cairan ekstraseluler yang mengenal PAMPs. Molekul larut ini bertanggung jawab untuk memfasilitasi pembersihan mikroba dari darah dan cairan ekstraseluler dengan meningkatkan penyerapan dalam fagosit atau dengan mengaktifkan mekanisme pembunuhan ekstraseluler (Abbas K Abul *et. al.*, 2015).

DAMPs juga dikenal sebagai alarmins adalah molekul yang dikeluarkan oleh sel-sel yang mengalami penekanan karena necrosis yang bertindak sebagai sinyal bahaya endogenus untuk meningkatkan respon inflamasi. DAMPs paling terkenal adalah high mobility group box-1 (HMGB1), S100 A8 (MRP8, calgranulin sebuah) dan S100 A9 (MRP14, calgranulin B), dan kadar amiloid A (SAA).



Sumber : <https://www.invivogen.com/review-damage-associated-molecular-patterns>

Gambar 2.2. *Damage associated molecular patterns (DAMPS)*

Peningkatan kadar serum DAMPs telah dikaitkan dengan banyak penyakit inflamasi, termasuk sepsis, artritis, aterosklerosis, lupus, penyakit Crohn dan kanker (Anonymus, 2011).

Stress seluler, kerusakan, peradangan serta nekrosis sel menyebabkan pelepasan DAMPS. DAMPS termasuk protein intraseluler, seperti DNA, RNA, dan nukleotida. Protein-protein intrasel ini berfungsi sebagai pengatur homeostasis sel normal. Molekul-molekul tersebut dapat ditemukan secara lokal pada nucleus dan sitoplasma (HMGB1), sitoplasma (Protein S100), Eksosom (*Heat Shock Proteins*), dan matriks ekstraseluler (asam hialuronad). Pada dasarnya DAMPS dapat diklasifikasikan sebagai molekul yang secara langsung menstimulasi sistem imun bawaan. Bagian dari DAMPS terutama HMGB1 dan protein S100 berperan dalam pengikatan proteoglikan,

glikan terkarboksilasi yang memicu respon imun untuk melakukan regenerasi jaringan dan terlibat dalam proses peradangan dan kanker (Srikrishna, 2009).

DAMPs memodulasi respon inflamasi pada kejadian infeksi maupun non-infeksi untuk merangsang perbaikan jaringan. Namun, sinyal DAMPs juga dikaitkan respon inflamasi berlebihan dan penyakit autoimun. DAMPs mengaktifkan pattern recognition receptors (PRRs) dan memicu kaskade sinyal yang melibatkan faktor transkripsi NF- κ B, DAMPs dan PRRs (Kuipers, 2011).

DAMPs dapat dibagi menjadi 3 subkelas major, yaitu :

1. DAMPs yang terpapar pada membran plasma (seperti CRT, HSP70, dan HSP90)
 2. DAMPs yang disekresi atau dikeluarkan dari ekstraseluler (seperti ATP, HMGB1, asam urat, dan IL-1 α)
 3. DAMPs yang diproduksi dari hasil akhir degradasi (seperti DNA dan RNA).
- DAMPs yang termasuk subkelas minor seperti hyaluronan, heparan sulfat (Abhishek, 2012).

2.5 IMUNOLOGI PADA EXERCISE

2.5.1 HMGB1

HMGB1 adalah protein inti yang mengikat DNA dan bertindak sebagai faktor pengikat kromatin arsitektural. Ia juga dapat dilepaskan dari sel, di mana bentuk ekstraseluler dapat mengikat reseptor inflamasi RAGE (Reseptor untuk Produk Akhir Glikasi Lanjutan) dan reseptor seperti Tol (TLR). Pelepasan dari sel tampaknya

melibatkan dua proses yang berbeda: nekrosis, di mana membran sel dapat ditembus dan konstituen intraseluler dapat berdifusi keluar dari sel; dan beberapa bentuk sekresi aktif atau terfasilitasi yang diinduksi oleh pensinyalan melalui NF- κ B. HMGB1 juga berpindah ke sitosol dalam kondisi stres seperti peningkatan ROS di dalam sel. Dalam kondisi seperti itu, HMGB1 mempromosikan kelangsungan hidup sel dengan mempertahankan autophagy melalui interaksi dengan beclin-1. Ini sebagian besar dianggap sebagai protein antiapoptosis. HMGB1 dapat berinteraksi dengan ligan TLR dan sitokin, dan mengaktifkan sel melalui beberapa reseptor permukaan termasuk TLR2 , TLR4 , dan RAGE (Sim *et.al.*, 2010).

Dalam publikasi pertama pada latihan dan HMGB1, para penulis melaporkan peningkatan 5-6 kali lipat dari ~ 1 ng / mL saat istirahat, menjadi 6 ng / mL segera setelah pria sehat menyelesaikan lari berat di atas treadmill, HMGB1 yang bersirkulasi kembali ke konsentrasi sebelum latihan setelah 30 menit istirahat (Beiter *et. al.*, 2011)

Dalam studi latihan lain, 34 dan 36 non-profesional pelari maraton pria dan wanita dan setengah maraton menyelesaikan perlombaan masing-masing, dengan spesimen darah dikumpulkan 1-2 hari sebelum, segera dan 2-7 hari setelah lomba. Konsentrasi serum HMGB1 meningkat secara signifikan sebesar 1,5 kali lipat (setengah maraton; $3,13 \pm 1,63$ ng / mL hingga $4,78 \pm 2,1$ ng / mL) dan $\sim 2,3$ kali lipat (maraton; $2,58 \pm 1,58$ ng / mL hingga $6,02 \pm 2,18$ ng / mL) setelah balapan, bersamaan peningkatan sRAGE yang bersirkulasi untuk setengah- tapi bukan fullmarathon.

Peningkatan konsentrasi HMGB1 dan sRAGE kembali ke level sebelumnya latihan selama periode pemulihan (Bekos *et.al*, 2016).

Tidak semua studi olahraga melaporkan respons positif HMGB1 sistemik untuk satu latihan. Dalam sebuah penelitian terbaru, plasma HMGB1 tetap di bawah batas deteksi (78 pg / mL) dari alat tes setelah latihan plyometrik atau balap sepeda 1.200 km (Behringer *et.al*, 2016)

12 minggu Latihan berjalan Nordic yang dikombinasikan dengan vitamin D pada wanita tua menghasilkan penurunan serum HMGB1, hal ini menunjukkan bahwa olahraga teratur dapat melemahkan respons alarmin pada orang dewasa yang sehat (Gmiat, *et.al*, 2017). HMGB1 adalah mediator penting dalam perbaikan otot rangka (Campana, *et.al*, 2014). HMGB1 yang bersirkulasi memperkuat pensinyalan proinflamasi melalui aktivasi NETs, dimana sitokin lain (mis. IL-6, TNF-alfa) bisa dilepaskan, dan sel-sel kekebalan lainnya diaktifkan / direkrut . (Huang, *et.al*, 2015).

HMGB1 sangat sensitif terhadap individu yang bugar atau sehat saat ini dan dengan demikian dapat menyediakan platform masa depan untuk mengembangkan resep latihan pribadi untuk beragam populasi (Goh, and Behringer, 2018).

2.5.2 KORTISOL

Kortisol adalah hormon steroid dari golongan glukokortikoid yang diproduksi oleh sel di dalam zona fasikulata pada kelenjar adrenal sebagai respon terhadap stimulasi hormon ACTH yang disekresi oleh kelenjar hipofisis, juga merupakan hasil reaksi organik hidrogenase pada gugus 11-keto. Molekul hormon kortison yang

dikatalis oleh enzim 11β -hidroksisteroid dehidrogenase tipe 1 yang umumnya disekresi oleh jaringan adiposa. kelebihan hormon ini dalam darah menyebabkan sindrom cushing (Roland *et.al*, 2011) Selain itu, hormon kortisol juga diproduksi oleh hati (Rita *et.al*, 2011).

Hormon ini bekerja dengan meningkatkan kadar gula darah melalui mekanisme glukoneogenesis, menekan kerja sistem imun, dan meningkatkan metabolisme lemak, protein, dan karbohidrat Selain itu, hormon ini juga menghambat pembentukan tulang (Hoehn, 2010). Hidroksikortison adalah nama lain dari kortisol yang digunakan dalam pengobatan. Hidroksikortison digunakan untuk mengobati kekurangan produksi kortisol di dalam tubuh. Sebagai glukokortikoid, kortisol memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap respon peradangan dan sistem kekebalan. Kortisol menghambat konversi fosfatidil kolina menjadi asam arakidonat dengan menginduksi produksi lipokortin yang menghambat aktivitas fosfolipase A2. Tanpa asam arakidonat sebagai substrat, keberadaan enzim lipo-oksigenase tidak berarti dalam menghasilkan leukotriena. Kortisol juga menghambat produksi tromboksan dan prostaglandin saat terjadi radang dengan menghambat enzim sikloksigenase serta menghambat sekresi sitokina IL- 1β hingga mengurangi jumlah kemotaksis leukosit yang dapat terjadi pada area infeksi, termasuk menurunkan tingkat proliferasi mastosit, neutrofil, eosinofil, sel T, sel B dan fibroblas. Secara umum sistem kekebalan humoral dan sistem kekebalan seluler akan menurun (Hoehn, 2010).

Bagian terpenting dari sistem pengaturan tubuh terhadap stress adalah *corticotropin-releasing hormone* (CRH) dan sistem lokus *ceruleus* norepinefrin beserta

efektor perifernya, aksis hipotalamus-pituitari-adrenal (HPA) dan sistem otonom (Chrousos, 2000). Latihan sebagai salah satu pemicu stres, karena menimbulkan peningkatan kebutuhan energi dan menyebabkan ketidakseimbangan homeostasis (Corazza *et. al*, 2014). Latihan menstimulus yang kuat terhadap aksis HPA. Latihan daya tahan tidak berpengaruh secara tetap terhadap hiperkortikolisme karena penanda biologis pada aksis HPA latihan sama dengan yang tidak latihan di saat istirahat pada pria sehat. Selama latihan, aksis HPA berespon terhadap banyak rangsangan yang mencerminkan regulasi dan fungsi integrasi dari aksis HPA, yakni sinyal homeostasis neural (stimulasi kemoreseptor, baroreseptor, osmoreseptor), sinyal sirkulasi homeostasis (glukosa, leptin, grelin dan peptida natretik atrial) serta sinyal inflamasi (IL-1, IL-6 dan TNF alfa) (Duclos and Tabarin, 2016).

2.5.3 TNF Alfa

TNF- α adalah sitokina yang banyak disekresi oleh makrofag yang memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, differensiasi, apoptosis, metabolisme lipid, dan koagulasi (Gene, 2019).

Yunsuk dan Kyung (2017) menyelidiki efek dari latihan berjalan intensitas sedang 4 minggu pada tingkat sitokin pro / antiinflamasi pada individu yang kelebihan berat badan atau obesitas tanpa adanya penurunan berat badan. Latihan 4 minggu tidak menghasilkan perubahan dalam massa lemak, CRP, atau adiponektin, sedangkan TNF- α berkurang secara signifikan. Ketidakaktifan fisik dan obesitas telah dianggap sebagai faktor risiko independen untuk penyakit kardiovaskular dan sindrom metabolik, yang

dapat berkontribusi pada peningkatan penanda inflamasi sirkulasi. Latihan aerobik teratur dapat meningkatkan profil inflamasi secara independen dari penurunan berat badan. Penelitian sebelumnya menemukan pengurangan sitokin proinflamasi hal ini menunjukkan bahwa pelatihan olahraga jangka panjang dapat mengurangi peradangan kronis tingkat rendah pada populasi kelebihan berat badan dan obesitas. mekanisme yang menghubungkan pelatihan olahraga dengan penanda inflamasi ini belum sepenuhnya dipahami. Informasi tentang hubungan antara obesitas dan faktor risiko kardiovaskular, resistensi insulin, dan peradangan adalah penting untuk memahami apakah peradangan sistemik sebagian dapat dijelaskan oleh manfaat fisiologis olahraga dan apakah olahraga dapat digunakan sebagai intervensi terapi potensial untuk individu yang kelebihan berat badan dan obesitas. (Yunsuk and Yung, 2017).

Penelitian Dimitrov dkk (2013) menunjukkan bahwa produksi TNF di semua bagian monosit menurun setelah latihan dengan monosit non-klasik dan menengah menjadi sumber utama produksi TNF yang distimulasi LPS. Selain itu, kami menunjukkan bahwa peningkatan monosit non klasik (sebelumnya ditunjukkan sebagai 'Inflamasi') tumpul pada individu dengan peningkatan TD selama latihan olahraga sedang meskipun ada sedikit efek ringan Peningkatan Tekanan Darah pada produksi TNF oleh bagian monosit (Dimitrov *et.al.*, 2013).

Deskripsi Laporan Penelitian

Penulis/tahun /Judul/Link	Variabel	Metode	Hasil
Hill dkk, 2008. Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. J Endocrinol Invest. 2008;31(7):587-91. DOI: https://doi.org/10.1007/BF03345606	Kortisol, aerobik intensitas ringan, sedang dan tinggi	12 orang laki-laki yang aktif berlatih yang membandingkan respon kortisol pada latihan intensitas ringan dengan sedang dengan durasi latihan minimal 30 menit pada intensitas 40, 60, dan 80% dari VO2 max, dan pada hari yang berbeda diminta menjalani waktu 30 menit sebagai sesi istirahat tanpa latihan untuk mengukur kadar kortisol kontrol	Latihan dengan intensitas sedang dan tinggi menyebabkan peningkatan kadar kortisol dalam plasma
Sanavi S, Kohanpour MA. Effects of aerobic exercise intensity on serum cortisol and testosterone in trained young men. Saudi Journal of Sports Medicine. 2013;13(1):48-50. DOI: https://doi.org/10.4103/1319-6308.112232	Kortisol, Intensitas latihan	17 orang terlatih untuk menentukan efek dari intensitas yang berbeda pada laki laki dengan usia rata rata 23 tahun dengan latihan aerobik menggunakan “Tes Bruce” di treadmill, 5 hari sebelum penelitian. Kemudian, mereka bertemu dalam 3 sesi aerobik latihan yang terdiri dari lari 30 menit di treadmill dengan 3 intensitas yang berbeda dari 70%, 80%, dan 90% dari maksimal denyut jantung (MHR).	Kadar kortisol serum menunjukkan peningkatan yang signifikan setelah peningkatan intensitas latihan pada 0 jam pasca latihan ($P = 0,025$). Nilai kortisol satu jam setelah latihan pada intensitas 90% MHR lebih tinggi dibandingkan dengan intensitas lainnya; namun tidak signifikan ($P = 0,345$)

Deskripsi Laporan Penelitian Lanjutan

Penulis/tahun/ Judul /Link	Variabel	Metode	Hasil
Budde <i>et.al.</i> 2015.The cortisol response to exercise in young adults. Front. Behav. <i>Neurosci.</i> 2015;9(13). DOI: https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00013	Kortisol, intensitas latihan	Remaja usia 15 sampai 16 tahun yang melakukan latihan selama 12 menit dengan intensitas maksimal 50-65% dan 70-85% dari denyut nadi maksimal	Pada latihan sedang 70-85% dari denyut nadi maksimal terjadi peningkatan yang mencolok pada kadar kortisol dibandingkan dengan kelompok yang hanya melakukan latihan intensitas sedang (maksimal 50- 65%. denyut nadi)
Sougliis <i>et.al.</i> , 2015. Comparison of Inflammatory Responses and Muscle Damage Indices Following a Soccer, Basketball, Volleyball and Handball Game at an Elite Competitive Level. Research in Sports Medicine, 23(1), 59–72. doi:10.1080/154386 27.2014.975814	Kortisol, Jenis olahraga	72 orang pemain elit pria dari empat cabang olahraga: sepak bola (n=18), bola basket (n=18), bola voli (n=18) dan bola tangan (n=18), diminta menyelesaikan pertandingan, sementara 18 orang non-atlet bertugas sebagai kontrol.	Peningkatan kadar TNF Alfa pada seluruh jenis olahraga, termasuk bola basket, pada sampel darah yang diambil segera setelah, 13 jam setelah, dan 37 jam setelah pertandingan kompetitif, dibandingkan dengan nilai dasar (diukur di pagi hari sekitar 8 jam sebelum pertandingan)

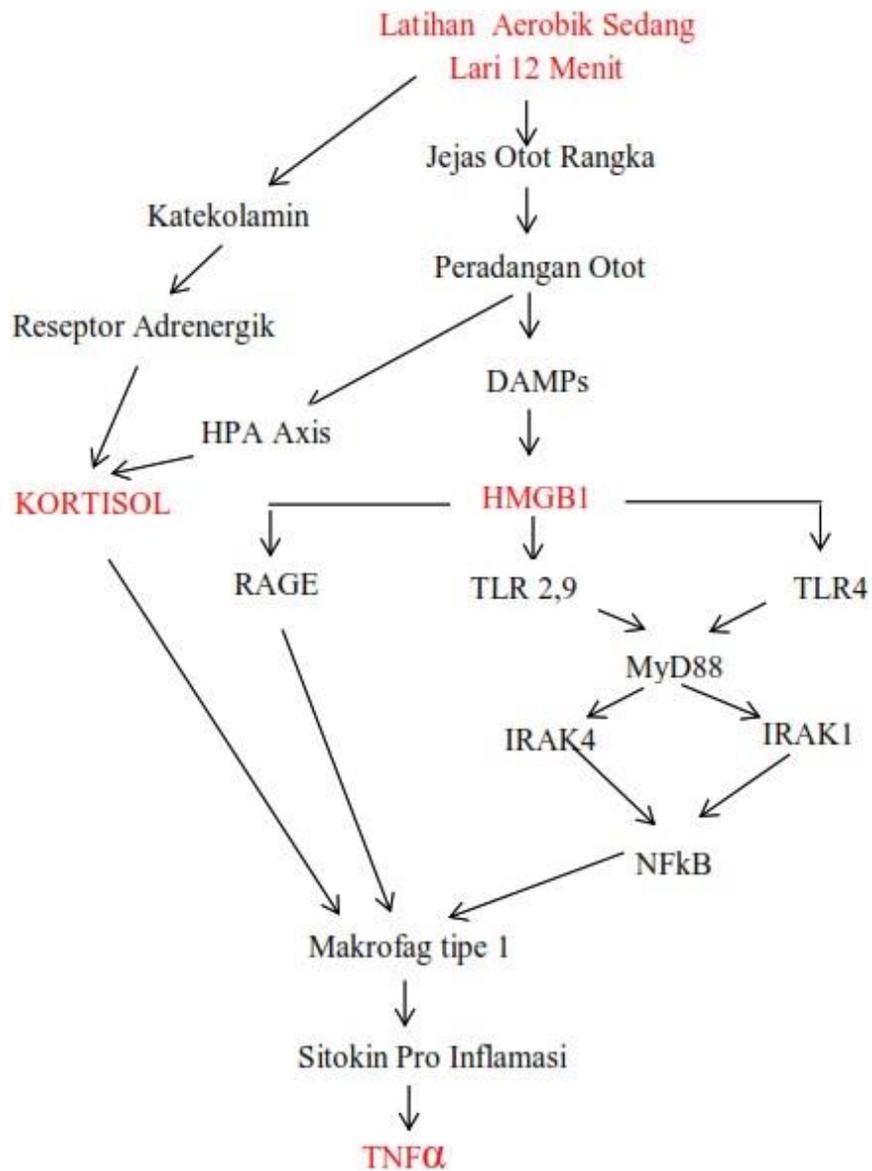
Deskripsi Laporan Penelitian Lanjutan

Penulis/tahun/ Judul /Link	Variabel	Metode	Hasil
R. Terink <i>et.al.</i> , 2018. Changes in cytokine levels after prolonged and repeated moderate intensity exercise in middle-aged men and women . Translational Sports Med. 2018;1:110– 119. https://doi.org/10.1002/tsm2.23	IL-6, IL-8, IL10, IL- 1b, dan TNF-a.	Latihan intensitas sedang pada pria dan wanita. 4 hari berturut-turut di mana mereka berjalan rata-rata ~ 9 jam / hari dengan kecepatan yang ditentu kan sendiri	Konsentrasi IL- 6, IL-8, IL10, IL-1b, dan TNF- a. Semua konsentrasi sitokin meningkat dari awal ke pasca- latihan pada hari 1 (P <0,001). Setelah itu, konsentrasi menurun dari hari 1 ke hari 2 (P <.01), tetap agak stabil selama hari-hari berikutnya.
Goh, <i>et.al.</i> , 2020. <i>Concurrent high-intensity aerobic and resistance exercise modulates systemic release of alarmins (HMGB1, S100A8/A9, HSP70) and inflammatory biomarkers in healthy young men: a pilot study. Translational Medicine Communications, 5(1). doi:10.1186/s4 1231-020-00056-z</i>	HMGB1, Intensitas latihan	Program pelatihan intensitas tinggi selama 3 minggu yang dilakukan oleh 7 pria muda yang sehat. Secara bersamaan latihan aerobik dan resistensi dilakukan selama 3 hari berturut- turut setiap minggunya	Hasilnya menunjukkan plasma HMGB1 meningkat dari Pre ke Post latihan

BAB III

KERANGKA TEORI DAN KERANGKA KONSEP

III.1. Kerangka Teori



Narasi Kerangka Teori

Perubahan fisiologis pada saat olah raga pada pembuluh darah adalah dinding pembuluh darah menjadi lebih kuat terhadap perubahan tekanan darah, dan kekenyalannya dapat terpelihara, disertai dengan vasodilatasi arteriol dan susunan pembuluh darah. Jumlah kapiler yang aktif dalam otot-otot menjadi lebih banyak, tekanan darah cenderung lebih normal, peredaran darah dan lalulintas cairan menjadi lebih besar (Giriwijoyo dan Sidik, 2012).

Olahraga kesehatan dengan intensitas yang lebih rendah yaitu yang setingkat diatas intensitas aktivitas fisik sehari hari adalah lebih efisien bagi pemeliharaan kesehatan. Sebagai contoh adalah olahraga kontinyu dan homogen (jalan, lari lambat, renang, bersepeda) selama 20-30 menit yang mencapai target heart rate yaitu 60-80% (220 – Umur dalam tahun) dan dilakukan dalam 3-5 kali dalam seminggu (Giriwijoyo dan Sidik, 2012).

Latihan akut dan kronis secara luas diterima mengubah jumlah dan fungsi sistem imunitas bawaan di sirkulasi sel seperti sel netrofil, monosit, dan natural killer. Hasil latihan akut yang pertama adalah peningkatan jumlah netrofil darah yang sangat cepat, diikuti yang kedua peningkatan hitung netrofil darah beberapa jam kemudian, yang besarnya terkait dengan intensitas dan durasi latihan (Neil *et.al.*, 2011).

Exercise atau latihan fisik menyebabkan stessor fisik dan menimbulkan respon tubuh. Respon tubuh terhadap faktor-faktor tersebut akan bergantung pada besar kecilnya nya stresor dan durasi kejadian. Respon stres normal ditandai dengan respon neuro hormonal simpatis akibat stimulasi dari sistem simpatoadrenal dan kontribusi

kelenjar pituitary dan dapat mengakibatkan peningkatan kadar norepinefrin, epinefrin, kortisol, dan glukagon. Sistem sensoris kompleks memicu refleksi sistem saraf bereaksi terhadap stresor yang akan menyiagakan sistem saraf pusat terhadap gangguan. Di dalam sistem saraf pusat, neuron nukleus paraventricular dari hipotalamus menguraikan corticotropin-releasing hormone (CRH) dan mengaktifasi hypothalamic–pituitary–adrenal (HPA) (Cresci, 2005).

Katekolamin bertanggung jawab terhadap mekanisme peningkatan sekresi hormon stres (Glukokortikoid / Kortisol) pada exercise yang bekerja melalui reseptor-adrenergik (adrenalin) yang bertanggung jawab terhadap penekanan TNF- α . Kadar TNF- α dalam jaringan hewan yang berolahraga lebih rendah daripada di jaringan hewan yang tidak berolahraga sebagai respons terhadap lipopolisakarida (LPS) (Yano *et.al*, 2012).

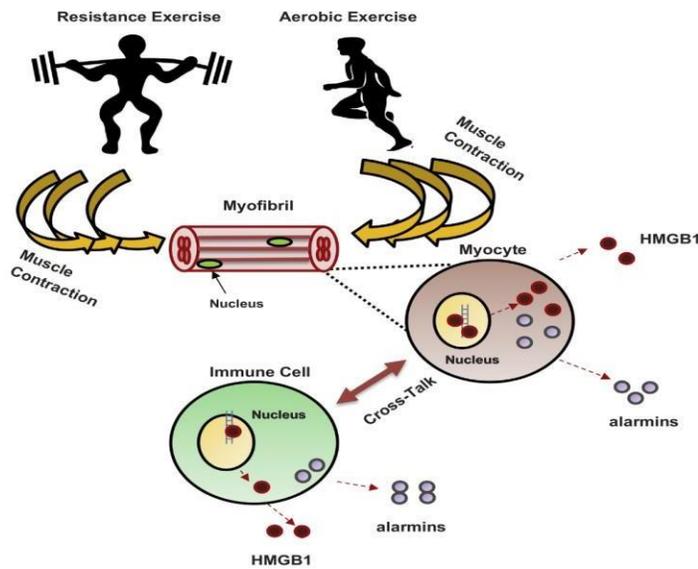
Latihan fisik akan merangsang kerusakan otot yang disebabkan peradangan lokal sehingga otot mengalami degenerasi dan regenerasi di sekitar jaringan ikat. Stress seluler, kerusakan, peradangan serta nekrosis sel menyebabkan pelepasan DAMPS (Srikrishna, 2009). Dalam kasus stres selular atau cedera, faktor-faktor intraseluler dapat dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler dan memicu "respon inflamasi steril". Secara kolektif, "sinyal bahaya" endogen ini disebut *damage associated molecular patterns* (DAMPs). Sejauh ini penjelasan hipotetis Damps, yang berasal dari jaringan otot rangka yang rusak, dikaitkan dengan aktivasi jalur sinyal TLR dalam netrofil di sirkulasi (Oliver *et al*, 2013).

DAMPs juga dikenal sebagai alarmins adalah molekul yang dikeluarkan oleh sel-sel yang mengalami penekanan karena necrosis yang bertindak sebagai sinyal bahaya endogenus untuk meningkatkan respon inflamasi (Anonymus, 2011).

Alarmins termasuk protein intraseluler, seperti DNA, RNA, dan nukleotida. Protein-protein intrasel ini berfungsi sebagai pengatur homeostasis sel normal. Molekul-molekul tersebut dapat ditemukan secara lokal pada nucleus dan sitoplasma (HMGB1), sitoplasma (Protein S100), Eksosom (*Heat Shock Proteins*), dan matriks ekstraseluler (asam hialuronat). Pada dasarnya DAMPS dapat diklasifikasikan sebagai molekul yang secara langsung menstimulasi sistem imun bawaan (Srikrishna, 2009).

Model “bahaya” dari imunologi menyatakan bahwa sistem kekebalan mendeteksi dan merespons bahaya dengan melepaskan molekul endogen yang disebut alarmin. Olahraga berat mengganggu homeostasis fisiologis, meningkatkan alarmin yang bersirkulasi untuk mendorong respons peradangan. Alarmin adalah molekul endogen yang melakukan fungsi fisiologis di homeostasis tetapi dapat dilepaskan dengan cepat dari sel imun yang diaktifkan (leukosit) atau dilepaskan dari sel yang rusak setelah stres, infeksi atau cedera. Alarmin berbeda dari sitokin dan kemokin dalam homeostasis seluler, mereka berpartisipasi dalam antimikroba, regulasi gen atau fungsi pengikatan kromatin. Alarmins terletak di kompartemen seluler yang berbeda; protein high mobility group box-1 (HMGB1) adalah alarmin pola dasar dan biasanya diasingkan dalam nukleus, di mana ia mengikat DNA, sementara yang lain - S100 protein atau heat shock proteins (HSP), berada di sitoplasma. Setelah bertemu bahaya, alarmin dilepaskan dengan cepat dari sel-sel stres atau rusak dan meninggalkan

lingkungan fisiologis mereka, di mana mereka berperilaku seperti sitokin dan memediasi respons peradangan steril yang melibatkan sitokin dan kemokin. Peran alarmin dan kekebalan tubuh, dan bagaimana interaksi ini dapat dimodulasi dengan latihan olahraga (Lihat Gambar 3.1). (Goh *et.al.*, 2018).



Sumber : Goh *et.al.*, 2018

Gambar 3.1 Model kerja dari respons alarmin yang dirangsang olahraga. Latihan aerobik dan resistensi melibatkan kontraksi otot rangka, yang dapat menyebabkan beberapa alarmin (HMGB1) dilepaskan dari sel otot rangka (miosit) atau sel imun lainnya. Pembicaraan silang molekuler berikutnya antara miosit dan sel imun kemudian dapat mengaktifkan komponen lain dari respon imun, termasuk aktivasi subset imun spesifik, kemotaksis dan kepatuhan sel-sel imun terhadap otot kerangka.

Setelah trauma sejumlah mediator seperti pola kerusakan terkait-molekul / *damage-associated molecular patterns* (DAMP), dilepaskan dalam aliran darah oleh jaringan yang terluka. Pengenalan DAMP oleh sel-sel imun memulai systemic inflammatory response syndrome (SIRS) yang menginduksi perubahan fisiologis seperti hipo atau hipertermia, peningkatan denyut jantung dan leukositosis /

leukositopenia. SIRS awal yang tidak terkontrol dan berlarut-larut telah dilaporkan sebagai faktor risiko kegagalan organ "steril" (Mickael *et.al.*, 2018).

DAMP secara umum adalah protein endogen inti dan sitosol yang memberikan peran intraseluler yang jelas tanpa adanya tekanan seluler. Ketika dilepaskan secara ekstraseluler setelah kerusakan atau cedera jaringan, molekul-molekul ini meningkatkan respon imun bawaan dan adaptif dan tidak mempertahankan aktivitas intraseluler mereka sebelumnya. HMGB1 adalah salah satu anggota pertama yang diidentifikasi dari keluarga molekul DAMP (Huan *et.al.*, 2015).

DAMPs adalah molekul inti endogen, mitokondria, atau sitosol yang memiliki fungsi fisiologis di dalam sel. Mereka mengaktifkan kekebalan bawaan dan adaptif ketika dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler. Sel imunitas bawaan, terutama sel penyaji antigen (APC) seperti sel dendritik (DC) dan neutrofil (PMN) mengenali DAMP melalui reseptor pengenalan pola (PRR). Setelah aktivasi PRR, PMN dan APC memunculkan produksi sitokin, kemokin, dan faktor terlarut lainnya. Respon inflamasi lokal bertujuan untuk memastikan perbaikan jaringan yang memadai dan juga dapat menghasilkan respon inflamasi sistemik dan tidak terkontrol yang menyebabkan kegagalan organ jarak jauh (Mickael *et.al.*, 2018).

DAMPs yang dilepaskan setelah trauma juga disebut alarmin. Karena setiap molekul yang dikeluarkan dalam lingkungan mikro setelah kerusakan jaringan dapat dianggap sebagai alarm, sangat penting untuk mendeteksi molekul yang relevan secara klinis dan aktif secara imunologis. Alarmin terkait klinis selama trauma didefinisikan dalam konsensus pada tahun 2006 sebagai zat:

- segera dilepaskan setelah trauma,
- bertanggung jawab untuk aktivasi sel imun yang konsentrasinya mencerminkan keparahan trauma,
- menimbulkan respons proinflamasi pada sel yang dikultur dengan mekanisme aktivasi yang dijelaskan dengan jelas,
- dengan kadar plasma yang berkorelasi dengan tingkat respons inflamasi (Mickael *et.al.*, 2018).

Alarmin pada trauma memiliki aktivitas berlebihan pada beberapa reseptor dengan efek yang sangat bervariasi tergantung pada lingkungan mikro. Selama trauma parah, asam nukleat inti dan mitokondria dilepaskan ke dalam sitosol dan dalam aliran darah. Pengenalan DNA nuklear oleh monosit memicu respons inflamasi yang sama dengan asam nukleat mikroba (juga disebut PAMP atau pola molekuler terkait patogen). Secara khusus, monosit menghasilkan IL-6 setelah stimulasi oleh DNA nuklear atau IL-8 setelah eksposisi ke messenger RNA. High-mobility group box 1 (HMGB1) disekresikan oleh sel-sel imun dan non-imun yang diaktifkan atau ditekan atau dapat bocor keluar dari sel-sel mati. Konsentrasi plasma puncaknya dalam 6 jam setelah cedera dan konsentrasi tetap meningkat setidaknya selama 24 jam. HMGB1 adalah protein pendamping nukleus yang mengatur transkripsi DNA. Dalam pengaturan fisiologis, HMGB1 mengikat DNA dan membengkokkannya untuk memfasilitasi transkripsi gen (Mickael *et.al.*, 2018).

Studi tentang sistem kekebalan tubuh sebagian besar berfokus pada perannya dalam pertahanan melawan patogen, perannya dalam homeostasis menjadi jelas.

Secara khusus, sistem kekebalan dipengaruhi oleh dan memodulasi keadaan metabolisme, termasuk olahraga. Memang, satu rangsangan latihan yang intens dapat menginduksi sitokin dan kemokin pro-dan anti-inflamasi, serta peningkatan leukosit yang beredar. Sitokin dan kemokin sirkulasi yang diinduksi oleh olahraga termasuk interleukin (IL) 6, 8, 10 dan protein chemotactic monocyte (MCP) -1 (Goh *et.al.*, 2018).

Paparan HMGB1 pada kultur monosit manusia merangsang pelepasan beberapa sitokin proinflamasi termasuk faktor nekrosis tumor (TNF), interleukin (IL) -1, IL-6, IL-8 dan protein inflamasi makrofag (MIP) -1. Respon kinetik untuk pelepasan TNF yang dimediasi oleh HMGB1 dan LPS sangat berbeda. Pelepasan TNF yang diinduksi HMGB1 adalah biphasic dengan gelombang kedua tertunda, sedangkan pelepasan TNF yang dimediasi LPS hanya terjadi dalam mode awal monofasik (Huan *et.al.*, 2015).

Tian *et. al.* (2007) pertama kali menunjukkan bahwa HMGB1 terlibat dalam respons imun termediasi kompleks yang mengandung DNA melalui TLR9. Kemudian, Yanai *et. al.* (2009) menegaskan bahwa HMGB1 mengikat semua asam nukleat imunogenik yang diperiksa dan memediasi respons imun dengan merangsang transkripsi interferon tipe 1, IL-6 dan RANTES dari sel-sel imun atau fibroblast embrionik. HMGB1 ekstraseluler yang membawa asam nukleat berikatan dengan reseptor untuk produk akhir glikasi lanjut (Advanced Glycation End Product / RAGE) dan diinternalisasi melalui endositosis yang tergantung dinamin (Xu J, *et al.*, 2014), yang memungkinkan asam nukleat yang diangkut untuk berinteraksi dengan reseptor intraseluler untuk memediasi interferon dan respons sitokin (Huan *et.al.*, 2015).

DAMPs dilepaskan oleh organ, jaringan, atau sel yang terluka dapat dideteksi oleh beberapa reseptor termasuk PRR dan mengaktifkan beberapa jalur. Yang menarik, DAMP yang diberikan dapat menstimulasi beberapa reseptor dan melibatkan jalur yang berbeda, sebuah fenomena yang disebut redundansi reseptor (Mickael *et.al.*, 2018).

Pattern recognition receptors (PRRs) diekspresikan oleh berbagai macam sel imun bawaan termasuk PMN, limfosit pembunuh alami (NK), makrofag, dan DC. Di antara PRR, reseptor utama yang terlibat setelah trauma adalah *nucleotide oligomerization domain (NOD)-like receptors (NLRs)* dan *toll-like receptors (TLR)*. NLR adalah PRR intraseluler yang terlokalisasi dalam sitoplasma. Mereka biasanya merasakan penurunan produk dari komponen dinding sel bakteri. Reseptor NOD mengaktifkan faktor transkripsi inti NF- κ B dan kinase MAP yang mengarah ke produksi sitokin pro-inflamasi. TLR dimerisasi dan merekrut protein adaptor melalui domain TIR intraselulernya (*reseptor Toll / Interleukin-1*). Semua TLR kecuali sinyal TLR3 melalui protein diferensiasi myeloid adaptor 88 (MyD88).

MyD88 dapat mengaktifkan dua jalur pensinyalan yang berbeda. Yang pertama membutuhkan IL-1 receptor-associated kinase (IRAK) IL-1 yang mengaktifkan aparatus NF- κ B dan mengarah pada produksi TNF- α , IL-6, dan IL-8. Yang kedua melibatkan TIR yang mengandung protein adapter yang menginduksi aktivasi interferon β (TRIF) yang menginduksi fosforilasi interferon regulatory factor (IRF) yang memungkinkan sintesis interferon tipe I (IFN). TLR4 memainkan peran tunggal dalam deteksi DAMP dan mengaktifkan NF- κ B melalui MyD88-IRAK atau

TRIF setelah translokasi TLR4 ke endosome melalui mekanisme yang bergantung pada CD14. Menariknya, TLR3 secara eksklusif memicu jalur yang bergantung pada TRIF (Mickael *et.al.*, 2018).

Jalur IRF mengarah ke produksi IFN tipe I dan sangat penting untuk regulasi antigen leukosit manusia (HLA) -DR dan ekspresi co-stimulator (CD80 / CD86) pada APC. Jalur NF- κ B mengarah pada produksi beberapa mediator proinflamasi (termasuk TNF- α) dan dapat diaktifkan oleh sinyal ekstraseluler yang ada dalam darah dan organ setelah trauma, seperti spesies oksigen reaktif, sitokin, dan fragmen komplemen (Mickael *et.al.*, 2018).

Secara keseluruhan, DAMP memicu pelepasan sitokin masif termasuk TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 dan IFN tipe I dan II. Mediator ini memperkuat aktivasi, pematangan, proliferasi, dan rekrutmen sel imun di lokasi trauma, menyebabkan aktivasi tidak langsung sel imun bawaan dan adaptif seperti DC atau sel T (Mickael *et.al.*, 2018).

Selama trauma berat, F-MIT mengaktifkan PMNs melalui FRP1, reseptor permukaan yang ditambah protein G (GPCR) dan memicu kemotaksis dan fagositosis. Secara paralel, HMGB1 / RAGE meningkatkan perekrutan PMN ke jaringan yang cedera dan memperkuat respons inflamasi melalui aktivasi faktor transkripsi NF- κ B. HMGB1 juga dapat mengaktifkan PMN melalui TLR4 atau TLR7 selama cedera iskemia-reperfusi. Selain itu, pelepasan adenosin 5-triphosphate (ATP) ekstraseluler

meningkatkan adhesi PMN ke dinding pembuluh darah pada cedera steril dan mendorong migrasi sel ke lokasi cedera (Mickael *et.al.*, 2018).

NF- κ B telah lama dianggap sebagai prototipe jalur pensinyalan proinflamasi, sebagian besar didasarkan pada aktivasi NF- κ B oleh sitokin proinflamasi seperti sitokin seperti interleukin 1 (IL-1) dan *tumor necrosis factor a* (TNFa), dan peran NF- κ B dalam ekspresi gen proinflamasi lainnya termasuk sitokin, kemokin, dan molekul adhesi (Toby, 2009).

Aktivasi NF- κ B sangat penting untuk ekspresi yang diinduksi dari beberapa gen seluler yang mengkode sitokin proinflamasi, seperti interleukin-1 (IL-1), IL-6, dan TNF- α , selain protein antiapoptotik (Eui, 2015).

Makrofag dapat diaktifkan dan diatur oleh high-mobility group box 1 (HMGB1), protein inti yang sangat terkonservasi. Fungsi inflamasi HMGB1 dimediasi dengan mengikat reseptor permukaan sel, termasuk reseptor untuk produk akhir glikasi lanjut (RAGE), reseptor seperti Toll (TLR) 2, TLR4, dan TLR9 (Xu J, *et al.* 2014). Pengaruh kortisol terhadap sel imun terjadi karena pada permukaan makrofag terdapat reseptor glukokortikoid (GCR) yang bekerja di dalam sitoplasma dan mempengaruhi transkripsi sintesis DNA (Ganceviciene *et.al.*, 2009; Yosipotich *et.al.*; 2007).

Latihan ketahanan yang lengkap menginduksi leukositosis terutama karena neutrofilia dalam sirkulasi sistemik, kerusakan otot dan organ internal, dan penekanan kekebalan tubuh. Untuk menentukan mekanisme yang mendasari fenomena ini, banyak perhatian telah difokuskan pada sitokin yang dilepaskan ke sirkulasi setelah

latihan. Memang, banyak penelitian secara konsisten menunjukkan bahwa IL-1ra, IL-6, IL-8, dan IL-10 meningkat secara nyata setelah latihan ketahanan yang berlangsung lebih lama dari beberapa jam, seperti maraton dan triathlon. Namun, respon sitokin ini tidak begitu signifikan selama dan setelah latihan intensif durasi pendek dan latihan kontraksi eksentrik. Respons ini tidak tergantung pada kerusakan otot yang diinduksi latihan tetapi terkait dengan intensitas latihan (beban / stres fisiologis) (Katsuhiko, 2018).

Memang, telah ditunjukkan bahwa respons IL-6 terhadap latihan daya tahan tergantung pada penurunan tingkat energi seluler dan peningkatan stres panas dan selanjutnya berkorelasi dengan respons hormon stres; Namun, mereka ditekan oleh peningkatan pasokan energi dan intervensi pendinginan tubuh sebelumnya. Selain itu, IL-6 meningkatkan pemanfaatan substrat energi seperti asam lemak bebas, yang berkontribusi terhadap kinerja daya tahan, sementara juga mendorong mobilisasi dan aktivasi neutrofil bersama dengan pelepasan sitokin anti-inflamasi dari IL-1ra dan IL-10. Di sini, IL-1ra adalah sitokin antagonis alami yang bersaing dengan IL-1 untuk pengikatan reseptor tanpa menginduksi transduksi sinyal, sementara IL-10 adalah sitokin yang paling immunosupresif. Latihan ketahanan juga meningkatkan kadar IL-4 dan IL-12p40 (antagonis IL-12) dalam plasma, yang mungkin bekerja untuk memblokir respons imun seluler, menyebabkan kerentanan terhadap infeksi, dan mungkin meningkatkan peradangan sebagai komponen IL-6 dan IL-23 (aktivator neutrofil) (Katsuhiko, 2018).

Kemokin mengatur infiltrasi jaringan leukosit. IL-8 adalah kemotaksis neutrofil dan aktivasi protein yang kuat yang disebut sebagai neutrofil pengaktif peptida 1 (NAP-1). IL-8 dilepaskan ke dalam sirkulasi dalam kondisi latihan yang intens dan berkepanjangan, sedangkan latihan intensif waktu singkat juga meningkatkan konsentrasi IL-8 plasma. Temuan ini menunjukkan bahwa tidak hanya durasi tetapi juga intensitas latihan mungkin penting untuk pelepasan IL-8. MCP-1 memfasilitasi infiltrasi dan aktivasi monosit dan makrofag. Kami menunjukkan bahwa konsentrasi MCP-1 meningkat secara signifikan tidak hanya dalam plasma tetapi juga urin setelah perlombaan maraton dan segera setelah latihan intensif durasi pendek. Juga, IL-6 dan G-CSF terlibat dalam mobilisasi neutrofil dari cadangan sumsum tulang ke sirkulasi setelah latihan. Meskipun neutrofil terlibat dalam kerusakan otot yang diinduksi latihan dan peradangan, kami baru-baru ini menunjukkan bahwa neutrofil yang dimobilisasi ke dalam otot berkontribusi untuk memperburuk cedera otot dengan meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi melalui induksi infiltrasi makrofag dengan MCP-1. Dari sudut pandang ini, leukositosis (neutrofilia) dan variabel terkait yang disebutkan di atas dapat menjadi indikator prediktif yang baik dari otot yang diinduksi olahraga lengkap dan kerusakan / disfungsi organ lainnya (Katsuhiko, 2018).

Studi sebelumnya telah melaporkan bahwa latihan daya tahan tunggal yang berkepanjangan dapat menyebabkan peningkatan akut dalam berbagai varian dari sitokin inflamatori, seperti IL-2, IL-6, IL-8, IL-8, IL-10, IL-1 β , TNF- α , interferon gamma (IFN- γ), protein kemoatraktan monosit-1 (MCP-1) dan faktor penstimulasi

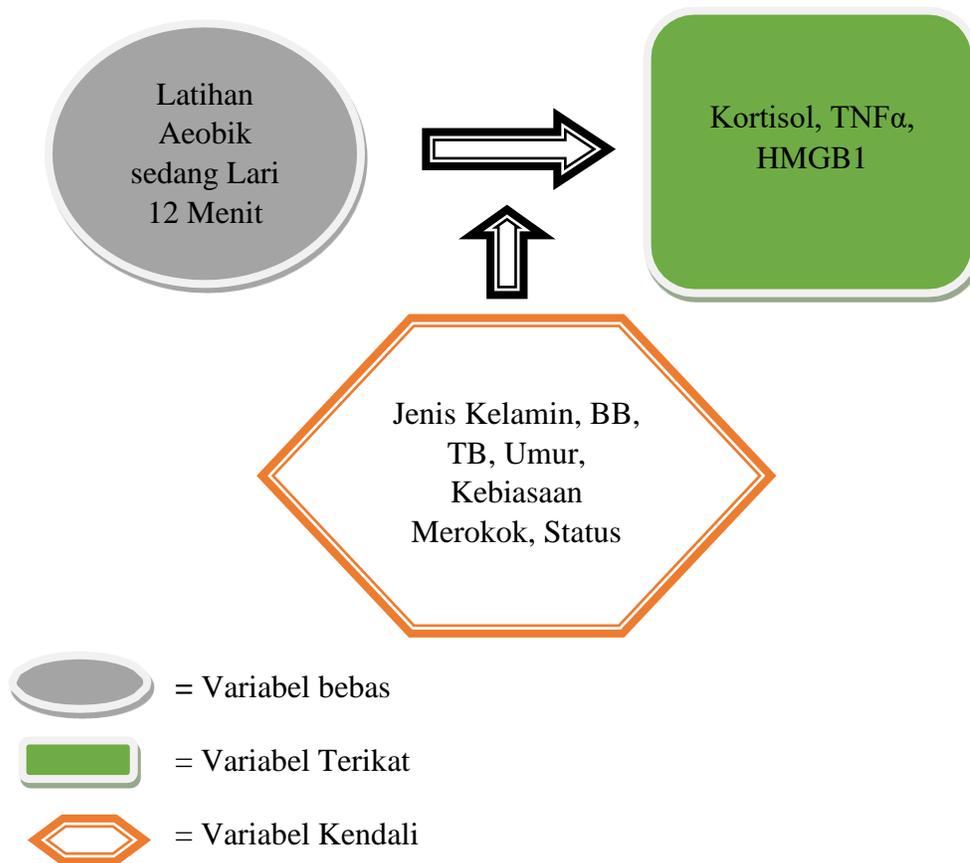
koloni granulosit-makrofag pada atlet enduran pria. Namun, hanya ada informasi yang sangat terbatas yang tersedia untuk wanita aktif secara fisik, di mana latihan aerobik tunggal telah dilaporkan tidak memiliki efek atau dapat menyebabkan peningkatan pasca latihan di beberapa sitokin inflamasi. Sitokin inflamasi yang paling banyak dipelajari adalah IL-6, TNF- α dan IL-1 β , yang biasanya meningkat sebagai hasil sesi latihan tunggal yang menghasilkan respons inflamasi akut. Namun, penyelidikan lain tidak menemukan perubahan kadar sitokin inflamasi ini setelah latihan akut (Jurimae *et.al.*, 2018).

Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada kejelasan tentang kemungkinan respon inflamasi terhadap latihan akut, yang mungkin disebabkan oleh kompleksitas mekanisme adaptif selama latihan akut. Selain itu, relatif sedikit yang diketahui tentang perubahan akut yang diakibatkan oleh olahraga pada peradangan biomarker yang lebih ketat terkait dengan peningkatan risiko kardiovaskular, seperti MCP-1 dan faktor pertumbuhan endotel pembuluh darah (VEGF) pada atlet terlatih. Perubahan akut yang diinduksi latihan pada penanda inflamasi sangat bervariasi setelah latihan intensif dan berkepanjangan dan reaksi inflamasi terutama tergantung pada intensitas dan durasi latihan. Namun, ada penelitian untuk menunjukkan bahwa perubahan biomarker terkait peradangan pasca-latihan setelah bersepeda berkepanjangan 2 jam dan perlombaan dayung dikaitkan dengan intensitas latihan tetapi tidak dengan variabel durasi latihan pada atlet pria. Sebaliknya, durasi lari yang lama berkorelasi negatif dengan perubahan yang diinduksi oleh olahraga dalam sitokin inflamasi. Variasi dalam peningkatan tanda-tanda peradangan yang disebabkan oleh olahraga dalam menanggapi latihan

daya tahan juga dapat bergantung pada status menstruasi atlet wanita karena hormon seks dapat mempengaruhi profil peradangan dan pengeluaran energi selama latihan aerobik yang lama. Oleh karena itu, latihan dayung yang berkepanjangan dapat menghasilkan stimulus energi yang lebih besar karena semua getaran dan otot-otot tubuh terlibat selama latihan dayung, dan para pendayung memiliki nilai massa tubuh dan massa lemak (FM) yang relatif tinggi dibandingkan dengan atlet-atlet ketahanan lainnya. Sejauh pengetahuan kami, tidak ada penelitian yang meneliti efek latihan dayung berkepanjangan pada panel 12 parameter inflamasi yang diukur secara bersamaan, seperti IL-2, IL-4, IL-6, IL-6, IL-8, IL -10, VEGF, IFN- γ , TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , MCP-1 dan faktor pertumbuhan epidermal (EGF) pada pendayung betina. Dengan demikian, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menyelidiki respon sitokin inflamasi terhadap latihan aerobik yang lama pada pendayung betina. Tujuan lain adalah untuk mempelajari bagaimana komposisi tubuh, kebugaran kardiorespirasi dan tuntutan metabolik dari latihan dayung akut mempengaruhi profil inflamasi pasca-latihan pada pendayung betina. Dhipotesiskan bahwa beberapa sitokin inflamasi, termasuk IL-6, TNF- α dan IL-1 β , akan meningkat sebagai hasil latihan dayung yang berkepanjangan, dan perubahan pasca-latihan dalam sitokin inflamasi akan terkait dengan ukuran permintaan metabolik dari rowing akut. berolahraga pada pendayung perempuan (Jurimae *et.al.*, 2018).

III.2. Kerangka Konsep

Kerangka konsep penelitian terdiri dari variabel bebas (*Independent*) : Latihan Aerobik Sedang, Variabel Terikat (*dependent*) : Kadar Kortisol, TNF- α , HMGB1 Variabel kendali : Jenis kelamin, BB, TB, Umur, kebiasaan merokok, status kesehatan



III. 3 Hipotesis

Kadar Kortisol pada remaja terlatih lebih tinggi dibandingkan yang tidak terlatih dan Kadar TNF- α remaja terlatih lebih rendah dibandingkan yang tidak terlatih

setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit. Terdapat perbedaan respon imun (Kadar HMGB1) antara remaja terlatih dan tidak setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit. Terdapat korelasi Kadar Kortisol dengan TNF Alfa, Kadar kortisol dengan HMGB1, dan kadar HMGB1 dengan TNF Alfa pada remaja terlatih dan tidak setelah exercise aerobik intensitas sedang lari 12 menit

III.4 Definisi Operasional

Definisi Operasional Variabel

1. *Multistage Fitness Test* (MFT) yaitu merupakan teknik pengukuran VO₂ maks secara langsung dengan cara berlari bolak-balik dengan jarak tertentu hingga batas maksimal kemampuan seseorang. Dengan batasan nilai VO₂ maks sampel $\geq 38,4$ ml/kg/min.
2. VO₂ Maks adalah jumlah oksigen maksimal yang dapat dihantarkan dari paru-paru ke otot dalam mililiter atau dalam menit per kilogram berat badan (ml/kg/min).
3. Latihan aerobik sedang adalah lari 12 menit. Intensitas latihan sedang apabila mencapai 70-79% dari DNM sesuai rumus Tanaka yaitu $208 - (0,7 \times \text{umur})$, dilakukan satu kali pada saat penelitian.
4. HMGB1 adalah HMGB1 adalah salah satu protein kromatin yang mengatur DNA dan nukleosom serta mengatur transkripsi gen. Setelah aktivasi atau cedera sel, HMGB1 nukleus dapat berpindah ke sitoplasma, di mana ia terlibat dalam aktivasi inflamasi dan piroptosis, serta pengaturan keseimbangan autofagi/

apoptosis. HMGB1 memiliki aktivitas sitokin, kemokin, neuroimun, dan metabolisme. HMGB1 memainkan banyak peran dalam patogenesis penyakit inflamasi dan menengahi respons imun yang berkisar dari peradangan dan pembunuhan bakteri hingga perbaikan jaringan. Pemeriksaan dengan metode Enzyme Immunosorbent Assay (ELISA) dengan OD Sensitivity : Typically less than 18.75 pg/ml, Detection Range: 31.25–2000 pg/ml.

5. Kortisol Sebagai glukokortikoid, kortisol memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap respon peradangan dan sistem kekebalan. Kortisol juga menghambat produksi tromboksan dan prostaglandin saat terjadi radang dengan menghambat sekresi sitokina IL-1 β hingga mengurangi jumlah kemotaksis leukosit yang dapat terjadi pada area infeksi, termasuk menurunkan tingkat proliferasi mastosit, neutrofil, eosinofil, sel T, sel B dan fibroblas. Pemeriksaan dengan metode Enzyme Immunosorbent Assay (ELISA) dengan OD Sensitivity : Typically less than 0.049 ng/ml, Detection Range: 0.049-200 ng/ml.
6. TNF α adalah sitokin yang terlibat dalam peradangan sistemik dan merupakan salah satu sitokin yang membentuk reaksi fase akut. TNF- α adalah sitokina yang banyak disekresi oleh makrofag yang memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, diferensiasi, apoptosis, metabolisme lipid, dan koagulasi. Pemeriksaan dengan metode ELISA dengan OD Sensitivity Typically less than 24.58 pg/ml, Detection Range: 24.58–6000 pg/ml.
7. Indeks Massa Tubuh dihitung dengan cara membagi berat badan (kg) dengan tinggi badan kuadrat (m²). IMT normal adalah 20-25.

BAB IV

METODE PENELITIAN

IV.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan post tes only.



Keterangan :

- S : Sampel
- X : Terlatih basket
- C : Tidak terlatih basket
- O1 : Kadar HMGB1
- O2 : Kadar Kortisol
- O3 : Kadar TNF- α

IV. 2 Lokasi Dan Waktu

Lokasi Penelitian

1. Latihan aerobik dilakukan di SMAN I Banjarbaru
2. Pemeriksaan VO2 Maks di lakukan di SMAN 1 Banjarbaru
3. Pengambilan darah di SMAN I Banjarbaru
4. Pemeriksaan kadar HMGB1, Kortisol, TNF- α di Balai Veteriner Banjarbaru

Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari Mei 2020 – Agustus 2020

IV. 3 Populasi dan Teknik Sampel

Sampel dan Besar Sampel

IV. 3.1 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah Pelajar Sekolah Menengah Atas Negeri I (SMAN I) di Banjarbaru. Dengan kriteria inklusi :

1. Kriteria inklusi untuk siswa bukan pemain basket :
 - a. Bersedia menjadi subjek penelitian
 - b. Jenis Kelamin laki-laki
 - c. Usia 15-18 Tahun
 - d. Sehat Jasmani, artinya pada waktu penelitian probandus tidak sakit atau infeksi dan tidak mempunyai riwayat penyakit jantung, paru dan alergi
 - e. Kooperatif, subjek penelitian dapat diajak kerjasama untuk melakukan prosedur penelitian
 - f. Tidak merokok
 - g. Tidak minum obat-obatan yang memengaruhi jumlah Leukosit minimal 2 hari sebelum pengambilan darah
 - h. Mempunyai indeks massa tubuh (IMT) normal (20-25)
 - i. Tidak tergabung dalam klub olahraga apa pun dan tidak melakukan olahraga sehari hari.

2. Kriteria inklusi untuk siswa pemain basket:

- a. Bersedia menjadi subjek penelitian
- b. Jenis Kelamin laki-laki
- c. Usia 15-18 Tahun
- d. Sehat Jasmani, artinya pada waktu penelitian probandus tidak sakit atau infeksi dan tidak mempunyai riwayat penyakit jantung, paru dan alergi
- e. Kooperatif, subjek penelitian dapat diajak kerjasama untuk melakukan prosedur penelitian
- f. Tidak merokok
- g. Tidak minum obat-obatan yang memengaruhi jumlah Leukosit minimal 2 hari sebelum pengambilan darah
- h. Mempunyai indeks massa tubuh (IMT) normal (20-25)
- i. Tergabung dalam klub olahraga basket dan rutin melakukan latihan basket minimal tiga kali seminggu selama satu jam per sesi latihan selama setahun

3. Kriteria eksklusi untuk siswa pemain basket dan bukan pemain basket

Mengalami tanda-tanda kelelahan pada saat latihan sehingga tidak mampu menyelesaikan latihan.

IV.3.2 Besar Sampel

Pengambilan sampel dengan metode *purposive sampling* sebanyak 30 orang (15 orang terlatih basket dan 15 orang tidak terlatih) yang memenuhi kriteria inklusi.

Apabila sampel yang memenuhi kriteria inklusi melebihi 30 orang maka dilakukan random sampling sederhana untuk memilih sampel sebanyak 30 orang.

IV. 4 Variabel Penelitian

Variabel Penelitian

Variabel yang diteliti pada penelitian ini adalah :

1. Variabel Bebas (*Independent*) : Latihan Aerobik Sedang Lari 12 menit
2. Variabel Terikat (*dependent*) : Kadar HMGB1, Kortisol, TNF- α
3. Variabel kendali : Jenis kelamin, BB, TB, Umur, kebiasaan merokok, status Kesehatan.

Variabel Operasional

Variabel	Definisi Variabel	Alat Pengukuran	Skala	Penilaian
Latihan Aerobik	Semua aktivitas yang menggunakan oksigen untuk membakar kalori dalam memproduksi energi dan meningkatkan detak jantung selama durasi tertentu	Lari 12 menit dengan 70-79 % dari DNM		Dilakukan satu kali pada saat penelitian
VO2 maks	VO ₂ maks adalah jumlah oksigen maksimal yang dapat dihantarkan dari paru-paru ke otot dalam mililiter atau dalam menit per kilogram berat badan	MFT	Numerik	Sesuai hasil pengukuran (ml/kg/min)
HMGB1	HMGB1 adalah salah satu protein kromatin yang mengatur DNA dan nukleosom serta	Elisa Reader	Numerik	OD Sensitivity : Typically less than 18.75 pg/ml

	<p>mengatur transkripsi gen. Setelah aktivasi atau cedera sel, HMGB1 nukleus dapat berpindah ke sitoplasma, di mana ia terlibat dalam aktivasi inflamasi dan piroptosis, serta pengaturan keseimbangan autofagi / apoptosis. HMGB1 memiliki aktivitas sitokin, kemokin, neuroimun, dan metabolisme. HMGB1 memainkan banyak peran dalam patogenesis penyakit inflamasi dan menengahi respons imun yang berkisar dari peradangan dan pembunuhan bakteri hingga perbaikan jaringan.</p>			<p>Detection Range: 31.25–2000 pg/ml</p>
Kortisol	<p>Sebagai glukokortikoid, kortisol memiliki pengaruh yang sangat kuat terhadap respon peradangan dan sistem kekebalan. Kortisol juga menghambat produksi tromboksan dan prostaglandin saat terjadi radang dengan menghambat sekresi sitokina IL-1β hingga mengurangi jumlah kemotaksis leukosit yang dapat terjadi pada area infeksi, termasuk menurunkan tingkat proliferasi mastosit, neutrofil, eosinofil, sel T, sel B dan fibroblas.</p>	Elisa Reader	Numerik	<p>OD Sensitivity : Typically less than 0.049 ng/ml</p> <p>Detection Range: 0.049-200 ng/ml</p>

TNF α	TNF- α adalah sitokina yang banyak disekresi oleh makrofag yang memiliki banyak peran metabolisme seperti proliferasi sel, differensiasi, apoptosis, metabolisme lipid, dan koagulasi	Elisa reader	Numerik	OD Sensitivity Typically less than 24.58 pg/ml Detection Range: 24.58–6000 pg/ml
--------------	--	--------------	---------	--

IV. 5 Instrumen Pengumpulan Data

IV.5.1 Bahan Penelitian

- a) Plasma
- b) Elisa Kit HMGB1, Kortisol, dan TNF- α dari LSBio

IV.5.2 Instrumen Penelitian

Peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a) Alat pengukuran kebugaran jasmani MFT :
 - 1) Suatu permukaan datar yang tidak licin, sekurang- kurangnya sepanjang 22 meter
 - 2) Mesin pemutar kaset
 - 3) Kaset audio
 - 4) Pita meteran untuk mengukur jalur sepanjang 20 meter
 - 5) Kerucut - kerucut penanda batas jarak $\pm 1 - 1,5$ cm.
- b) Lapangan untuk lintasan latihan aerobik
- c) Oxymetri
- d) Elisa Reader

IV. 6 Data

1. Jenis data : Data Primer
2. Penyajian data : Data disajikan dalam bentuk tabel dan grafik
3. Pengolahan data : Data diolah dengan sistem SPSS

IV. 7 Teknik Pengumpulan Data

Data dikumpulkan dengan cara pengambilan darah sampel segera setelah latihan aerobik lari 12 menit

IV. 8 Analisis Data

Analisis statistik untuk melihat perbedaan kadar HMGB1, Kortisol, TNF- α , VO2 maks dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS untuk Windows, versi 25.0. Data disajikan sebagai mean \pm standar deviasi (SD). Evaluasi normalitas dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilks*. Variabel yang tidak terdistribusi secara normal ditransformasikan melalui log10. Perbedaan antara variabel dianalisis menggunakan t-tes tidak berpasangan, bila tidak berdistribusi normal dilakukan uji alternatif Mann Whitney. Uji Korelasi Pearson untuk data yang berdistribusi normal dan Uji korelasi Spearman untuk data yang tidak berdistribusi normal.

IV. 9 Persetujuan Etik

Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan dari komisi etik penelitian kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lambung Mangkurat.

IV. 10 Alur Penelitian

Subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan masuk dalam sampel penelitian akan dijelaskan mengenai tujuan dan latar belakang penelitian. Subjek penelitian yang mengerti dan setuju berpartisipasi dalam penelitian akan menandatangani surat persetujuan, untuk yang berumur dibawah 17 tahun maka harus mendapatkan persetujuan dari orangtuanya. Cara kerja penelitian sebagai berikut :

- 1) Semua subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dilakukan tes MFT untuk menilai VO_2 maks di hari pertama penelitian
- 2) Sesudah tes MFT, subjek penelitian akan beristirahat selama sehari di hari kedua penelitian.
- 3) Di hari ketiga penelitian, akan dilakukan latihan aerobik intensitas sedang 12 menit. Subjek penelitian akan dihitung denyut nadi maksimal nya (DNM) menggunakan rumus tanaka.
- 4) Sesudah diketahui DNM nya, subjek penelitian akan menggunakan pulse oxymetri dan melakukan pemanasan berupa lari berkelompok yang terdiri dari 3 orang perkelompok hingga tercapai target 70-79% DNM.
- 5) Setelah tercapai target 70-79% DNM, subjek penelitian akan tetap berlari selama 12 menit mengikuti ritme yang diseragamkan.
- 6) Sesudah lari selama 12 menit, subjek penelitian akan diambil darahnya sebanyak 3 cc di vena brachialis kemudian di masukkan ke tabung tanpa pengawet untuk

mendapatkan plasma, pemeriksaan Elisa dilakukan untuk mendapatkan kadar HMGB1, Kortisol, TNF- α .

Prosedur Multistage Fitness Test (MFT)

- a. Ukur jarak sepanjang 20 m dan beri tanda pada kedua ujungnya dengan kerucut - kerucut penanda jarak.
- b. Subjek penelitian disarankan agar melakukan latihan pemanasan dengan melaksanakan aktifitas seluruh anggota tubuh secara umum, sekaligus dengan beberapa macam latihan peregangan, terutama dengan menggerakkan otot-otot kaki.
- c. Testee siap digaris start, dan mesin pemutar kaset dihidupkan.
- d. Setelah pita kaset menyuarakan sinyal suara "tit" tunggal pada beberapa interval yang teratur. Testee diharapkan untuk berusaha agar dapat sampai ujung yang berlawanan (diseberang) bertepatan dengan saat sinyal "tit" yang pertama berbunyi.
- e. Kemudian testee harus meneruskan berlari pada kecepatan seperti ini, dengan tujuan agar bisa sampai ke salah satu dari kedua ujung tersebut bertepatan dengan terdengarnya sinyal "tit" yang berikutnya.
- f. Setelah mencapai waktu selama 1 menit interval waktu diantara kedua sinyal "tit" akan berkurang, sehingga kecepatan larinya harus semakin ditingkatkan. Kecepatan lari pada menit pertama disebut sebagai level 1. Kecepatan level

berlangsung \pm selama 1 menit dan rekaman pitanya berlangsung meningkat sampai ke level 21. Akhir dari setiap lari ulang – alik dari setiap level ditandai dengan suatu sinyal 3 kali berturut-turut.

g. Testee harus selalu menempatkan satu kaki, baik tepat pada atau di belakang tanda meter ke-20 pada akhir setiap lari ulang - alik.

h. Testee harus meneruskan larinya selama mungkin, sampai tidak mampu lagi mempersamakan larinya dengan kecepatan yang telah diatur oleh pita rekaman, sehingga testee secara sukarela harus menarik diri dari tes larinya.

Pada saat ini dicatat testee sudah sampai ke level dan shuttle berapa.

i. Hasilnya (*level* dan *shuttle*) dicocokkan dengan tabel *Predicted Maximum*

Oxygen uptake Values for The Multistage Fitness Test untuk mengukur VO_2 .max.

Analisis darah

Sampel darah 3 ml tanpa antikoagulan untuk mendapatkan plasma. Analisis sampel semua sampel darah dari individual dianalisis pada saat yang sama. Elisa Reader dan Kit sitokin dari LSBio digunakan untuk menilai kadar plasma HMGB1, Kortisol, TNF- α , dilakukan di Balai Veteriner Banjarbaru.

a. Pengambilan Darah Vena

Prinsip : Darah vena diambil dengan cara melakukan penusukan pada pembuluh darah vena, darah akan masuk pada ujung semprit, dilanjutkan dengan

menarik torak/piston sampai volume darah yang dikehendaki. Darah diambil di vena superfisial pada fossa cubiti.

Prosedur Kerja :

1. Alat alat yang diperlukan disiapkan diatas meja
2. Keadaan pasien diperiksa, probandus dan petugas (phlebotomis) dalam keadaan tenang.
3. Ditentukan vena yang akan ditusuk, untuk vena yang tidak terlihat dibantu dengan palpasi.
4. Daerah vena yang akan ditusuk diperhatikan terhadap adanya peradangan, dermatitis, atau bekas luka, karena akan mempengaruhi hasil pemeriksaan.
5. Tempat penusukan didesinfeksi dengan alkohol 70 % dan dibiarkan kering.
6. Tourniquet dipasang pada lengan atas (bagian proksimal lengan) 6-7 cm dari lipatan tangan.
7. Tegakkan kulit diatas vena dengan jari jari tangan kiri supaya vena tidak bergerak.
8. Dengan lubang jarum menghadap keatas, kulit ditusuk dengan sudut 45°-60° sampai ujung jarum masuk lumen vena yang ditandai dengan berkurangnya tekanan dan masuknya darah keujung semprit.
9. Holder ditarik perlahan-lahan sampai volume darah yang diinginkan.
10. Tourniquet dilepas, kapas diletakkan diatas jarum dan ditekan sedikit dengan jari kiri, lalu jarum ditarik.
11. Probandus diinstruksikan untuk menekan kapas selama 1-2 menit dan setelah itu bekas luka tusukan diberi plester.

12. Jarum ditutup lalu dilepaskan dari sempritnya, darah dimasukkan ke dalam tabung penampung melalui dinding secara perlahan. Bila menggunakan antikoagulan K2.EDTA, segera kocok perlahan lahan.

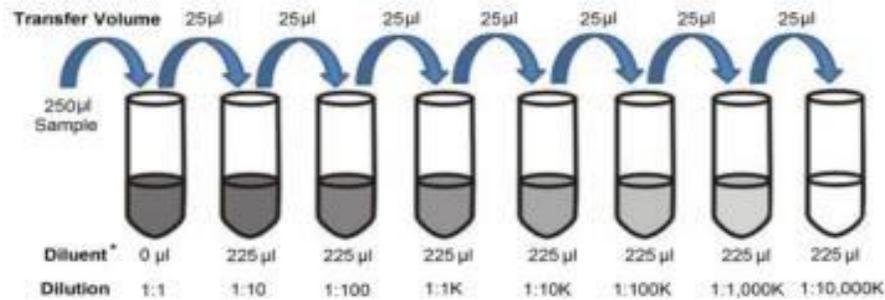
b. Cara Pemeriksaan Elisa HMGB1, Kortisol, TNF- α .

HMGB1

Bawa semua reagen dan sampel ke suhu kamar tanpa tambahan panaskan dan aduk rata dengan memutar perlahan sebelum memipet (hindari berbusa). Siapkan semua reagen, standar kerja, dan sampel sebagai diarahkan di bagian sebelumnya.

1. Preparasi sampel

Nilai *Optical Density* (OD) yang dihasilkan dari sampel harus termasuk dalam nilai OD dari kurva standar untuk antigen yang dihitung konsentrasi agar akurat. Dalam banyak kasus, sampel perlu diambil diencerkan untuk menurunkan konsentrasi antigen ke tingkat yang cukup. Informasi tentang konsentrasi antigen dalam berbagai jenis sampel mungkin tersedia dari literatur yang diterbitkan; bagaimanapun, seringkali perlu menjalankan seri pengenceran dari setiap jenis sampel. Akan berikut ini siapkan volume yang cukup untuk menjalankan seri pengenceran Sampel dalam rangkap tiga. Dalam kasus sampel volume kecil, pengenceran langkah awal, seperti 1:5 atau 1:10, dapat dibuat menggunakan PBS (0,02mol / L pH7,0-7,2) sebagai pengencer.



2. Prosedur Assay

1. Tambahkan 100µl Standar, Kosong, atau Sampel per lubang, tutup dengan a plat sealer, dan inkubasi selama 90 menit pada 37 ° C.
2. Aspirasi cairan masing-masing dengan baik, jangan dicuci.
3. Tambahkan 100µl 1x Antibodi Deteksi Biotinilasi ke setiap lubang, tutup dengan penutup pelat, dan kocok perlahan untuk memastikan seluruhnya percampuran. Inkubasi selama 1 jam pada suhu 37 ° C.
4. Aspirasi cairan dari setiap wadah dan cuci 3 kali. Cuci dengan menambahkan sekitar 350 µl Wash Buffer menggunakan botol semprot, pipet multi saluran, dispenser berjenis, atau mesin cuci otomatis. Biarkan setiap pencucian selama 1-2 menit sebelum benar-benar disedot. Setelah pencucian terakhir, aspirasi untuk menghilangkan sisa Wash Buffer kemudian balikkan pelat dan ketuk pada kertas penyerap yang bersih.
5. Tambahkan 100µl 1x HRP Conjugate working solution ke setiap well, cover dengan sealer pelat baru, dan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37 ° C.
6. Aspirasi cairan dari setiap sumur dan cuci 5 kali seperti yang dijelaskan di langkah 4.

7. Tambahkan 90µl larutan Substrat TMB ke setiap lubang, tutup dengan yang baru plat sealer, dan inkubasi selama 15 menit pada 37 ° C. Lindungi dari cahaya dan pantau secara berkala hingga perkembangan warna yang optimal tercapai tercapai.

8. Tambahkan 50µl Stop Solution ke setiap well. Warna biru akan berubah menjadi kuning segera. Jika perubahan warna tidak tampak seragam, dengan lembut ketuk piring untuk memastikan pencampuran yang menyeluruh. Solusi Berhenti harus ditambahkan ke sumur dengan urutan dan waktu yang sama seperti TMB larutan substrat.

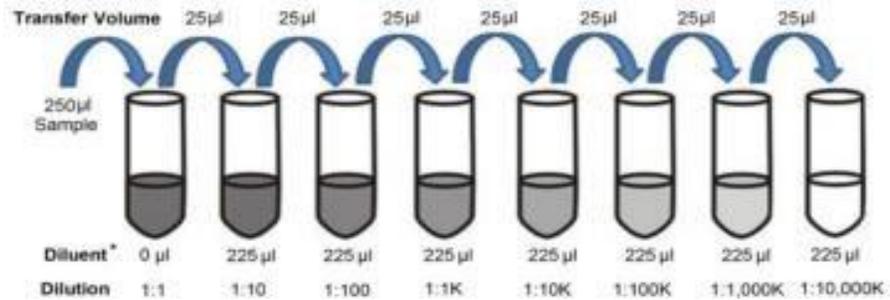
9. Tentukan segera kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur menggunakan microplate reader yang disetel ke 450 nm.

Kortisol

1. Preparasi sampel

Nilai *Optical Density* (OD) yang dihasilkan dari sampel harus termasuk dalam nilai OD dari kurva standar untuk antigen yang dihitung konsentrasi agar akurat. Dalam banyak kasus, sampel perlu diambil diencerkan untuk menurunkan konsentrasi antigen ke tingkat yang cukup. Informasi tentang konsentrasi antigen dalam berbagai jenis sampel mungkin tersedia dari literatur yang diterbitkan; bagaimanapun, seringkali perlu menjalankan seri pengenceran dari setiap jenis sampel. Akan berikut ini siapkan volume yang cukup untuk menjalankan seri pengenceran Sampel dalam rangkap tiga.

Dalam kasus sampel volume kecil, pengenceran langkah awal, seperti 1: 5 atau 1:10, dapat dibuat menggunakan PBS (0,02mol / L pH7,0-7,2) sebagai pengencer.



2. Prosedur Assay

Bawa semua reagen dan sampel ke suhu kamar tanpa tambahan pemanasan dan dicampur secara menyeluruh dengan mengaduk perlahan sebelum pipet (hindari berbusa). Siapkan semua reagen, standar kerja dan sampel sebagai diarahkan di bagian sebelumnya.

1. Atur lubang Kosong tanpa solusi apa pun.
2. Tambahkan 50 µl Standar atau Sampel per sumur.
3. Tambahkan 50 µl 1x Capture Antibody ke setiap lubang (tidak termasuk Blank baik), kocok perlahan untuk memastikan pencampuran yang menyeluruh, tutupi dengan piring sealer, dan inkubasi selama 40 menit pada 37 ° C.
4. Aspirasi cairan dari setiap wadah dan cuci 3 kali. Cuci dengan menambahkan sekitar 200 µl 1x Wash Buffer menggunakan semprotan botol, pipet multi-saluran, dispenser berjenis atau otomatis mesin cuci. Biarkan setiap pencucian untuk duduk selama 2 menit sebelum benar-benar aspiratif. Setelah pencucian terakhir, buang sisa aspirasi Cuci Buffer lalu balikkan piring dan ketuk penyerap bersih kertas.

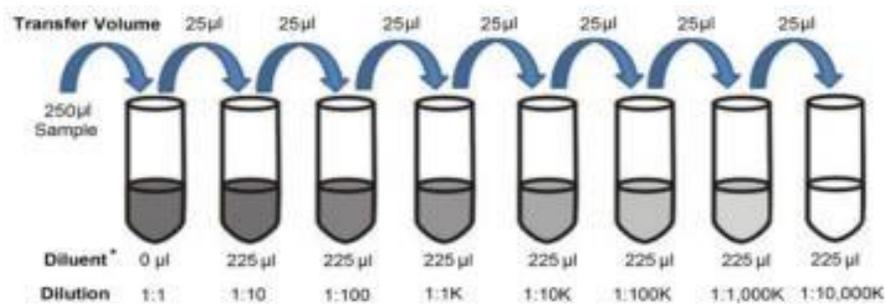
5. Tambahkan 100 μ l 1x HRP-conjugate ke setiap lubang (tidak termasuk Kosong baik), tutup dengan sealer pelat baru, dan inkubasi selama 30 menit di 37 ° C.
6. Aspirasi cairan dari setiap sumur dan cuci 5 kali seperti yang dijelaskan di langkah 4.
7. Tambahkan 90 μ l Substrat TMB ke setiap lubang, kocok perlahan untuk memastikan pencampuran menyeluruh, dan inkubasi dalam gelap selama 20 menit pada 37 ° C.
8. Tambahkan 50 μ l Stop Solution ke setiap well. Warna biru akan berubah menjadi kuning segera. Jika perubahan warna tidak tampak seragam, ketuk piring dengan lembut untuk memastikan pencampuran yang menyeluruh. Solusi Berhenti harus ditambahkan ke sumur dengan urutan dan waktu yang sama seperti sebelumnya larutan substrat.
9. Tentukan densitas optik (nilai OD) setiap sumur segera menggunakan pembaca pelat mikro yang disetel ke 450nm dengan ekstensi panjang gelombang koreksi diatur pada 540nm atau 570nm jika tersedia. Kurangi pembacaan 540nm atau 570nm dari pembacaan 450nm ke memperhitungkan ketidaksempurnaan di piring

TNF- α

1. Preparasi sampel

Nilai *Optical Density* (OD) yang dihasilkan dari sampel harus termasuk dalam nilai OD dari kurva standar untuk antigen yang dihitung konsentrasi agar akurat. Dalam banyak kasus, sampel perlu diambil diencerkan untuk menurunkan konsentrasi antigen ke tingkat yang cukup. Informasi tentang konsentrasi antigen dalam berbagai jenis

sampel mungkin tersedia dari literatur yang diterbitkan; bagaimanapun, seringkali perlu menjalankan seri pengenceran dari setiap jenis sampel. Akan berikut ini siapkan volume yang cukup untuk menjalankan seri pengenceran Sampel dalam rangkap tiga. Dalam kasus sampel volume kecil, pengenceran langkah awal, seperti 1: 5 atau 1:10, dapat dibuat menggunakan PBS (0,02mol / L pH7,0-7,2) sebagai pengencer.



2. Prosedur Assay

Bawa semua reagen dan sampel ke suhu kamar tanpa tambahan panaskan dan aduk rata dengan memutar perlahan sebelum memipet (hindari berbusa). Siapkan semua reagen, standar kerja, dan sampel sebagai diarahkan di bagian sebelumnya.

1. Tambahkan 100 µl Standar, Kosong, atau Sampel per lubang, tutup dengan piring sealer, dan inkubasi selama 2,5 jam pada suhu kamar dengan getaran lembut.
2. Aspirasi cairan dari setiap wadah dan cuci 4 kali. Cuci dengan menambahkan sekitar 300 µl Wash Buffer menggunakan botol semprot, pipet multisaluran, dispenser manifold atau mesin cuci otomatis. Mengizinkan setiap pencucian untuk duduk selama 1-2 menit sebelum benar-benar disedot. Setelah pencucian terakhir, aspirasi untuk menghilangkan sisa Wash Buffer balikkan pelat dan ketuk pada kertas penyerap yang bersih.

3. Tambahkan 100 μ l Larutan Kerja Antibodi Deteksi ke setiap lubang dan kocok perlahan untuk memastikan pencampuran yang menyeluruh. Inkubasi selama 1 jam di kamar suhu dengan getaran lembut.
4. Aspirasi dan cuci sumur seperti yang dijelaskan pada langkah 2.
5. Tambahkan 100 μ l Solusi Kerja HRP-Streptavidin ke setiap sumur dan inkubasi selama 45 menit pada suhu kamar dengan pengocokan lembut.
6. Aspirasi dan cuci sumur seperti yang dijelaskan pada langkah 2.
7. Tambahkan 100 μ l larutan Substrat TMB ke setiap sumur dan inkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dalam gelap dengan gemetar lembut. Pantau secara berkala hingga perkembangan warna yang optimal telah tercapai tercapai.
8. Tambahkan 50 μ l Stop Solution ke setiap lubang dan catat totalnya waktu pengembangan. Warna biru akan berubah menjadi kuning. Jika berwarna perubahan tidak tampak seragam, tekan perlahan pelat untuk memastikan pencampuran menyeluruh. Solusi Berhenti harus ditambahkan ke sumur di urutan dan waktu yang sama seperti solusi Substrat TMB.
9. Tentukan segera kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur menggunakan microplate reader yang disetel ke 450 nm

Ringkasan Prosedur Assay

Mempersiapkan reagen, sampel dan standar



Tambahkan sampel dan standar yang sudah disiapkan, antibodi berlabel dengan enzim, reaksikan selama 60 menit pada 37 °C



Piring dicuci lima kali, menambahkan cairan chromogen A, B, reaksikan 10 menit pada 37 °C



Tambahkan stop solution



mengukur nilai OD dalam 10 menit

Prosedur latihan aerobik sedang lari 12 menit

- Sebelum melakukan kegiatan penelitian yaitu lari 12 menit, terlebih dulu subyek dikenalkan dengan alat penelitian yaitu berupa lintasan lari dan pulsa rate meter.
- Pulse rate meter dipasangkan di lengan subyek untuk menentukan target denyut nadi yang harus dicapai 70-79 % dari DNM untuk aerobik sedang.
- Setelah tercapai, pertahankan selama 10 menit maka hasil dari denyut nadi tersebut yang menjadi target denyut nadi.
- Setelah itu stop watch dijalankan, untuk mulai menghitung waktu yang diperlukan untuk keseluruhan kegiatan lari 12 menit.