

ADAPTASI LATIHAN INTERVAL: RESPON TOTAL LEUKOSIT SUBSET, KADAR LAKTAT, HIF-1 α , DAN HSP70 PADA SPURTER JUNIOR

Eddy Purnomo, Febriana Catur I, dan Rustika

e-Mail: eddy_purnomo@uny.ac.id

Abstrak: Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pada latihan interval tinggi, sedang, dan rendah terhadap respon total leukosit subset, respon kadar laktat, *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α), dan *Heat Shock Protein 70* (HSP70) pada atlet usia rata-rata 15 -16 tahun dengan prestasi lari 11,5 detik, menjalani protokol latihan interval dengan intensitas tinggi, sedang, dan rendah dengan volume 1000 meter (10 x 100 meter) setiap subjek, selanjutnya akan diukur besarnya respon total leukosit, kadar laktat, HIF-1 α , dan HSP70. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: (1) pola latihan interval dapat meningkatkan respon subset leukosit dan kadar laktat pada atlet sprinter junior putra selama latihan; (2) pola latihan interval tidak menyebabkan perubahan kadar protein HSP dan HIF-1 α secara signifikan; (3) pola latihan interval dapat diterapkan sebagai salah satu bentuk latihan bagi atlet sprint dalam persiapan lomba; dan (4) respon kadar HIF-1 α terjadi penurunan yang sangat berarti, yang berarti bahwa semua sampel penelitian tidak mengalami hipoksia selama melakukan latihan karena istirahat yang dilakukan oleh sampel DP sebesar 110-120 kali/menit.

Kata kunci: latihan interval, leukosit subset, kadar laktat, HIF-1 α , HSP70, sprinter

Prestasi olahraga pada saat ini telah mengalami perkembangan dan kemajuan yang sangat pesat. Hal ini ditunjukkan dengan pencapaian prestasi atlet yang semakin meningkat. Perkembangan prestasi tersebut tidak terlepas dari pengaruh perkembangan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi (Iptek) olahraga, biokimia, fisiologi olahraga, dan biomekanik dalam upaya memantau peningkatan atlet. Salah satu perkembangan Iptek olahraga dewasa ini berkenaan dengan metode latihan, dikenal dengan latihan interval. Latihan interval adalah latihan yang mempunyai unsur-unsur jarak yang harus ditempuh, waktu tempuh, istirahat antar ulangan dan set, serta intensitas latihan yang sudah ditentukan sebelumnya oleh pelatih. Metode yang sangat populer di kalangan atlet atletik ini diciptakan oleh Gerschler di tahun 1930-an. Latihan interval kini juga diterapkan secara luas oleh para pelatih di berbagai cabang olahraga termasuk renang dan sepak bola. Dengan kemajuan Iptek olahraga di negara maju, banyak variasi yang dilakukan para pelatih bekerjasama dengan para ahli kedokteran olahraga untuk mengamati respon atau pengaruh serta perubahan yang terjadi sebelum, selama, dan sesudah latihan. Namun demikian di Indonesia, hanya sedikit sekali penelitian

tentang efek-efek latihan interval tersebut pada sistem fisiologis maupun biokimia manusia, termasuk sistem kekebalan tubuh.

Kemampuan latihan untuk mengubah dinamika sirkulasi dan homeostasis sistem kekebalan tubuh manusia sudah tidak diragukan lagi. Keast, Cameron, dan Morton (1988) berpendapat bahwa latihan aerobik berperan dalam memodulasi konsentrasi leukosit periferan sesuai durasi dan intensitas latihan.

Latihan interval intensif, yang membutuhkan kontribusi energi anaerobik signifikan, bisa membawa sistem kekebalan tubuh (*immune system*) ke situasi "*internal milieu*" yang betul-betul berbeda dibanding saat latihan aerobik (McCarthy, et al., 1988). Perbedaan ini diduga terjadi karena termobilisasinya subset-subset leukosit di sirkulasi periferan. Kuat dugaan bahwa latihan interval intensif akan menimbulkan perubahan kualitatif dan kuantitatif pada konsentrasi subset-subset leukosit darah yang bersirkulasi di jaringan darah periferan, sehingga berbeda dengan konsentrasinya saat istirahat maupun konsentrasinya yang ditimbulkan oleh pola-pola latihan lain yang lebih bersifat aerobik.

Salah satu parameter biokimia tubuh yang penting dan kerap diukur oleh para pelatih dan ahli kedokteran olahraga adalah laktat. Pengukuran kadar laktat penting dilakukan dalam sains olahraga untuk mengetahui ketahanan atlet selama latihan dan persiapan menghadapi kompetisi, bahkan juga saat proses kompetisi berlangsung.

Kadar laktat perlu diketahui untuk mengetahui respons H^+ (asam) dan adaptasi tubuh terhadap suatu aktivitas fisik dalam jangka waktu tertentu, dan merupakan indikator kelelahan. Kelelahan adalah suatu fenomena fisiologis, suatu proses terjadinya keadaan penurunan toleransi terhadap kerja fisik. Penyebabnya sangat spesifik bergantung pada karakteristik kerja tersebut. Penyebab kelelahan dapat ditinjau dari aspek anatomi berupa kelelahan sistem saraf pusat, neuromuskular dan otot rangka, dan dari aspek fungsi berupa kelelahan elektrokimia, metabolik, berkurangnya substrat energi, hipotermia dan dehidrasi (Tirtayasa, 2001).

Hal lain yang perlu diamati dalam aktivitas fisik ketika mengikuti latihan interval dengan intensitas berbeda-beda, adalah tingkat ketahanan dan adaptasi diri pada tubuh atlet. Hal ini dapat diketahui dengan mengamati *Heat Shock Protein* (HSP). HSP disintesis oleh sel-sel sebagai usaha untuk mengatasi stres internal maupun eksternal termasuk stres fisik, stres metabolik, serta serangan penyakit dan kenaikan suhu tubuh (Morimoto et al., 1994). HSP

diklasifikasikan berdasarkan bobot molekulernya, yang lazim adalah 110, 100, 90, 70, 60 kDa, ditambah sejumlah HSP berbobot kecil (15-45 kDa). Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Young dan kawan kawan (2004) melaporkan bahwa, terdapat peningkatan HSP70 selama melakukan latihan dengan denyut nadi maksimal 70% antara kelompok tidak terlatih (SED) dengan kelompok terlatih (TR), dan kenaikan kelompok tidak terlatih (SED) lebih tinggi dibandingkan kelompok terlatih (TR). Dengan demikian bahwa kelompok terlatih lebih unggul dalam meregulasi suhu (*thermo regulation*) melalui cucuran keringat dibanding kelompok yang tidak terlatih, dan keluaran suhu yang lebih rendah membuat induksi ekspresi HSP70 menjadi lebih rendah.

Selama latihan, daya tahan otot rangka mengalami tekanan oksigen yang berat dan berulang (Steven, et al., 2007), karena pada latihan semacam itu dibutuhkan keluaran energi yang intensif dan berkelanjutan. Metabolisme energi dan karakteristik fisiologis otot sangat menentukan besarnya pasokan energi yang dibutuhkan dalam latihan. Namun, kemampuan otot rangka untuk memenuhi permintaan energi yang meningkat dibatasi oleh ketersediaan oksigen dalam jaringan dan tergantung pada ketersediaan oksigen di udara yang dihirup dan sirkulasi darah (Prior, et al., 2001). Kondisi ini dinamakan hipoksia, yaitu keadaan rendahnya konsentrasi oksigen dalam sel atau jaringan yang dapat mengancam kelangsungan hidup sel. Organisme aerob, dari prokariot sampai eukariot yang kompleks, mempunyai mekanisme homeostasis yang adaptif untuk mengatasi hipoksia baik pada tingkat sistemik maupun seluler yaitu melalui penginderaan oksigen (Septelia, et al 2009). Contohnya, pada tingkat seluler penurunan kadar oksigen akan mengakibatkan aktivasi beberapa jalur metabolik yang tidak membutuhkan oksigen (induksi enzim glikolisis anaerob). Pada tingkat sistemik, pengaturan dilakukan dengan tujuan untuk meningkatkan distribusi oksigen, seperti induksi eritropoiesis, angiogenesis, dan hiperventilasi (Septelia, et al., 2009).

Salah satu respon sel terhadap kondisi hipoksia adalah peningkatan kadar protein *Hypoxia-Inducible Factor-1 α* (HIF-1 α). HIF-1 α adalah faktor transkripsi yang memegang peranan penting dalam menjaga keseimbangan oksigen baik pada tingkat seluler maupun pada tingkat sistemik. Gen-gen yang diregulasi oleh HIF-1 α diantaranya berhubungan dengan pengontrolan vasomotor (NOS2), angiogenesis (VEGF, FLT-1), pembentukan sel darah merah dan metabolisme besi (EPO, reseptor transferin, seruloplasmin) proliferasi sel (IGF-1, IGFBP-1, TGF β) dan metabolisme energi (GLUT 1-3, fosfoenolpiruvat karboksilase, laktat

dehidrogenase A, aldolase, fosfoglukokinase-1, piruvat kinase, enolase, profil 4-hidroksilase dan adrenomedullin) oleh sebab itu banyak, banyak gen yang menjadi target dari HIF-1 α ini dan sebagian besar gen merupakan gen yang vital dalam fungsional tubuh, maka faktor transkripsi ini mempunyai peran penting terutama dalam keadaan hipoksia (Septelia, et al., 2009).

Molekul HIF-1 merupakan heterodimer yang terdiri dari sub unit α dan β yang dikenal sebagai ARNT (*aryl hydrocarbon nuclear translocator*). Sub unit β (HIF-1 β) terdapat di dalam inti sel dan diekspresikan secara konstitutif. Oleh karena itu aktivitasnya tidak dipengaruhi kondisi hipoksia. Sedangkan sub unit α (HIF-1 α) yang diinduksi secara khusus sebagai respons adaptasi terhadap keadaan hipoksia, dipercaya sebagai regulator utama homeostasis oksigen. Stabilitas dan aktivitas sub unit α sangat dipengaruhi oleh kadar oksigen dan diatur oleh beberapa modifikasi pasca translasi. Pada keadaan normoksia, sub unit α akan mengalami hidroksilasi pada residu prolin spesifik oleh HIF-*Prolyl Hidroksilase*, yang menyebabkan terjadinya ubiquitinasi sehingga sub unit α tersebut didegradasi oleh proteasom. Sebaliknya dalam keadaan hipoksia, hambatan hidroksilasi residu prolin akan menyebabkan HIF-1 α stabil sehingga meningkatkan aktivitasnya sebagai faktor transkripsi gen-gen yang diregulasi oleh keadaan hipoksia. Dengan demikian, aktivitas HIF-1 α dalam homeostasis oksigen sangat ditentukan oleh sub unit α , yang dipertahankan dalam keadaan hipoksia dan didegradasi dalam keadaan normoksia. Disamping itu, pada penelitian Shao yang dikutip oleh Septelia, et al. (2009) dilaporkan bahwa terdapat peningkatan ekspresi mRNA HIF-1 α pada hipoksia akut.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji respon total leukosit subset, kadar laktat, HIF-1 α , dan HSP70 terhadap latihan interval pada atlet sprinter junior putra.

METODE

Delapan orang subjek penelitian yang terbagi atas tiga kelompok yaitu kelompok atlet berjumlah 8 orang dengan perincian dua orang untuk latihan interval dengan intensitas rendah, tiga orang dengan intensitas sedang, dan tiga orang dengan intensitas tinggi. Dan semua subjek penelitian membaca dan menandatangani dokumen persetujuan yang diberikan (dokumen ini sesuai dengan panduan yang diberikan oleh komisi etika dari Universitas Indonesia).

Dua hari sebelum hari pelaksanaan tes, semua subjek penelitian melakukan pengukuran suhu mulut, berat badan, tinggi badan, dan tes prestasi 100 meter yang nantinya digunakan sebagai standar waktu yang harus ditempuh atlet di dalam lari interval.

Subyek penelitian telah diberikan penjelasan tentang penelitian ini dan bersedia menandatangani surat persetujuan sebagai subyek penelitian. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian FKUI dengan nomor 130/PT02,FK/ETIK/2011.

Pengambilan darah dilakukan sebanyak 3 kali, yaitu sebelum melakukan latihan sebanyak 5 ml, pada saat akhir latihan sebanyak 5 ml dan 30 menit setelah istirahat sebanyak 5 ml. Sampel darah disimpan dalam tabung dengan antikoagulan EDTA dan selanjutnya disimpan pada suhu 4°C. Pemeriksaan darah perifer lengkap dan hitung jenis leukosit dilakukan di laboratorium hematologi RSCM. Selanjutnya dilakukan pemisahan plasma darah dan komponen lain dengan cara sentrifugasi (Hettich) 3000rpm selama 10 menit. Plasma darah dipindahkan ke dalam mikrotube baru dan disimpan pada suhu -20°C.

Isolasi leukosit dilakukan dengan menggunakan *red blood cell lysis buffer* (Roche). Dalam tabung mikrotube 1,5mL steril ditambahkan 1 mL *red blood cell lysis buffer*, kemudian ditambahkan 500 uL darah, dicampur dan dibolak balik. Setelah inkubasi 15 menit pada suhu ruang, dilakukan sentrifugasi pada 2500 rpm selama 5 menit dengan mikrosentrifus pada suhu 15-25°C. Supernatan yang berwarna merah dibuang dengan menggunakan pipet steril. Setelah supernatan dibuang, tampak endapan (*pellet*) berwarna putih di dasar tabung. Kemudian ditambahkan 1 ml *red blood cell lysis buffer*, dicampur dan endapan di dasar tabung dilarutkan (diresuspensi). Selanjutnya dilakukan sentrifugasi pada 2500 rpm selama 5 menit pada mikrosentrifus dengan suhu 15-25 °C. kemudian supernatant dibuang, terutama cincin merah disekitar *pellet*. Selanjutnya *pellet* dilarutkan dengan *bufer* yang sesuai dan disimpan pada suhu -20°C.

Pengukuran kadar laktat dilakukan dengan menggunakan *Lactate colorimetric assay kit* (abcam). Standar laktat (1 mM) dibuat dengan penambahan 10 uL *Lactate standard* ke dalam 990 uL *Lactate assay buffer*. Ke dalam well mikroplate dipipetkan masing-masing 0,2,4,6,8,10 uL standar laktat dan ditambahkan *lactate assay buffer* ke masing-masing well sehingga volume total 50 uL/well. Konsentrasi standar yang dibuat adalah 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 nmol/well. 2 uL plasma sampel yang diukur dipipetkan dalam mikroplate dan ditambahkan

dengan *lactate assay buffer* sehingga volume total 50 uL. Kemudian pada standar dan sampel masing-masing well ditambahkan *reaction mix* yang terdiri dari 46 uL *Lactate assay buffer*, 2 uL *lactate substrat mix* dan 2 uL *lactate enzyme mix*. Setelah inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang tanpa paparan cahaya, mikroplate dibaca pada *mikroplate reader* 450 nm. Kemudian dibuat kurva standar, dan perhitungan sampel diplot pada kurva standar. Perhitungan konsentrasi sampel dengan rumus $C=La/Sv$ dengan La =kadar laktat berdasarkan kurva standar, Sv =volume sampel yang ditambahkan ke masing-masing *well*.

Pengukuran konsentrasi HSP70 total dilakukan dengan metode *sandwich ELISA* menggunakan *Surveyor TM IC Human/Mouse/Rat Total HSP70/HSPA1A Immunoassay (R&D systems)*.

Prosedur pemeriksaan, seluruh reagen diletakkan pada suhu ruang dan disiapkan sesuai instruksi. Total HSP70 standar dilarutkan dengan 0,5 ml *assay diluents*, menjadi larutan standar 150 ng/mL. Setelah dicampur dan dibiarkan selama 15 menit, 66,7 uL larutan standar dipipetkan ke dalam tabung mikrotube yang berisi 933,3 uL *assay diluents*. Selanjutnya dilakukan pengenceran serial pada 6 tabung berikutnya yang berisi 500 uL *assay diluents*.

Sampel leukosit yang telah diinkubasi dalam assay diluent selama 15 menit di atas es kemudian disentrifugasi 2500g selama 5 menit. 100 uL standard dan sampel dipipetkan ke dalam well mikroplate yang telah dilapisi antibody monoclonal tikus terhadap HSP70. Kemudian dilakukan inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah dicuci 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, ditambahkan 100 uL larutan antibody pendeteksi (pengenceran 1:15) ke dalam setiap well dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah dicuci 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, ditambahkan 100 uL larutan *streptavidin-HRP* (pengenceran 1:200) dan diinkubasi selama 20 menit. Kemudian dilakukan pencucian 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, dan ditambahkan 100 uL larutan substrat. Setelah inkubasi selama 20 menit tanpa paparan cahaya pada suhu ruang, ditambahkan 50 uL larutan stop solution. Selanjutnya mikroplate dibaca pada 450 nm dengan ELISA reader. Kemudian dibuat kurva standar, dan perhitungan sampel diplot pada kurva standar.

Pengukuran konsentrasi HIF-1 α total dilakukan dengan metode *sandwich ELISA* menggunakan *Surveyor TM IC Human/Mouse Total HIF-1 α Immunoassay (R&D systems)*. Prosedur pemeriksaan: seluruh reagen diletakkan pada suhu ruang dan disiapkan sesuai instruksi. Total HIF-1 α standar dilarutkan dengan 0,5 ml *reagent diluents*, menjadi larutan

standar 150 ng/mL. Setelah dicampur dan dibiarkan selama 15 menit, 53 uL larutan standar dipipetkan ke dalam tabung mikrotube yang berisi 947 uL *reagent diluents*. Selanjutnya dilakukan pengenceran serial pada 6 tabung berikutnya yang berisi 500 uL *reagent diluents*.

Sampel leukosit yang telah diinkubasi dalam *lysis buffer* selama 15 menit di atas es kemudian disentrifugasi 2500g selama 5 menit. Kemudian 100 uL standard dan sampel dipipetkan ke dalam *well* mikroplate yang telah dilapisi *antibody monoclonal* tikus terhadap HIF-1 α . Kemudian dilakukan inkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah dicuci 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, ditambahkan 100 uL larutan antibodi pendeteksi (pengenceran 1:15) ke dalam setiap well dan diinkubasi selama 2 jam pada suhu ruang. Setelah dicuci 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, ditambahkan 100 uL larutan streptavidin-HRP (pengenceran 1:200) dan diinkubasi selama 20 menit. Kemudian dilakukan pencucian 3 kali dengan 300uL dapar pencuci, dan ditambahkan 100 uL larutan substrat. Setelah inkubasi selama 20 menit tanpa paparan cahaya pada suhu ruang, ditambahkan 50uL larutan stop solution. Selanjutnya *microplate* dibaca pada 450nm dengan *ELISA reader*. Kemudian dibuat kurva standar, dan perhitungan sampel diplot pada kurva standar.

Keseluruhan data disajikan dalam bentuk analisa deskriptif untuk melihat besarnya respon yang terjadi dari masing-masing kelompok terhadap variabel leukosit, kadar laktat, HIF-1 α , dan HSP70.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik subjek yang disajikan pada tabel 1 menunjukkan bahwa karakteristik subjek yang terdiri dari empat variabel tidak terdapat perbedaan yang berarti. Sehingga disimpulkan bahwa masing-masing kelompok mempunyai karakteristik awal yang sama.

Tabel 1. Rata-rata karakteristik subjek

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Intensitas Tinggi	Intensitas Sedang	Intensitas Rendah
1.	Umur (th)	15,6	15,6	16,6
2.	Berat Badan (kg)	57,3	56,2	61,1
3.	Tinggi badan (cm)	169,4	171,4	166,5
4.	Prestasi Lari (detik)	11,5	11,8	11,8

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa variabel-variabel yang dianalisis responnya, yaitu total leukosit subsets, sebelum diberi latihan, selama melakukan latihan, dan istirahat selama 30 menit.

Tabel 2 Rata-rata Konsentrasi Respons Leukosit subset Sebelum Latihan Interval

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Intensitas Tinggi	Intensitas Sedang	Intensitas Rendah
1.	WBC $10^3/\text{mm}^3$	6,97	9,17	6,85
2.	HGB g/dl	15	14,43	16,1
3.	HCT %	44,87	43,7	48
4.	PLT $10^3/\text{mm}^3$	202,67	242	170
5.	LED mm/mnt	3	3	2
6.	Basofil	0,67	1	0,5
7.	Eusinofil	2,34	3,3	1,5
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	50	60,34	53,5
10.	Limposit	35,34	31,67	39
11.	monosit	5,67	3,67	5,5

Dari data tabel 2 tampak bahwa semua subjek pada masing-masing kelompok dalam keadaan normal dan *Haemoglobin* (HGB) yang tinggi dan ini berarti bahwa subjek penelitian tidak mengalami anemia (nilai normal 12,5-17,3 g/dL).

Dari tabel 3 tampak bahwa terjadi peningkatan PLT sebesar 0,2 kali lipat pada kelompok intensitas sedang, dibandingkan intensitas tinggi selama latihan, Selanjutnya pada eusinofil terjadi peningkatan selama latihan pada kelompok intensitas sedang dibandingkan kelompok intensitas tinggi sebesar 0,6 kali lipat, dan terjadi penurunan saat setelah istirahat 30 menit sebesar 0,9 kali lipat dibandingkan pada intensitas tinggi. Sedangkan pada monosit terjadi peningkatan sebesar 0,4 kali lipat dibandingkan kelompok intensitas tinggi.

Tabel 3. Rata-rata konsentrasi respons total leukosit subset selama latihan

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Intensitas Tinggi	Intensitas Sedang	Intensitas Rendah
1.	WBC $10^3/\text{mm}^3$	14,2	15,4	10,35
2.	HGB g/dl	16,2	15	16,95
3.	HCT %	49,4	45,04	50
4.	PLT $10^3/\text{mm}^3$	220,7	268	174,5
5.	LED mm/mnt	3,3	3,3	2
6.	Basofil	0,3	0,3	0

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Intensitas Tinggi	Intensitas Sedang	Intensitas Rendah
7.	Eusinofil	6,67	10,7	1
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	53,7	50	39,4
10.	Limposit	32	36	34
11.	Monosit	4,34	3	6

Dari tabel 4 tampak bahwa sebagian besar leukosit subset tidak terjadi perubahan dalam arti kembali ke tingkat normal, kecuali pada intensitas sedang jumlah WBC meningkat 0,1 kali lipat sebelum latihan, dan ini berarti terjadi kerusakan pada tubuh, dalam hal ini akibat kontraksi otot yang menyebabkan terjadinya *micro traumatic*. Selain itu pada PLT (*trombosit*) terjadi peningkatan pada intensitas sedang dan terjadi penurunan pada kelompok intensitas rendah.

Tabel 4. Rata-rata konsentrasi respons total leukosit subset setelah istirahat 30 menit

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Intensitas Tinggi	Intensitas Sedang	Intensitas Rendah
1.	WBC $10^3/\text{mm}^3$	9,6	10,7	9,2
2.	HGB g/dl	15,4	14,5	16
3.	HCT %	45,8	43,1	46,5
4.	PLT $10^3/\text{mm}^3$	205	230,3	176
5.	LED mm/mnt	3,4	6	2,5
6.	Basofil	0,3	1	1
7.	Eusinofil	1,3	3,7	1
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	63	67	71,5
10.	Limposit	29,7	24,7	23,5
11.	monosit	2,4	3,7	3

Dari tabel 5 tampak bahwa terdapat peningkatan WBC sebesar 1,03 kali lipat dibandingkan sebelum latihan, ini berarti sudah tampak terjadinya cedera dalam tubuh atlet terutama pada otot selama melakukan latihan yang dikenal dengan *micro traumatic*.

Tabel 5. Perbedaan konsentrasi respon total leukosit subsets pada kelompok intensitas tinggi

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	WBC $10^3/\text{mm}^3$	6,97	14,2	9,6
2.	HGB g/dl	15	16,2	15,4

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
3.	HCT %	44,87	49,4	45,8
4.	PLT $10^3/\text{mm}^3$	202,67	220,7	205
5.	LED mm/mnt	3	3,3	3,4
6.	Basofil	0,67	0,3	0,3
7.	Eusinofil	2,34	6,67	1,3
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	50	53,7	63
10.	Limposit	35,34	32	29,7
11.	Monosit	5,67	4,34	2,4

Dari data tabel 6 tampak bahwa terjadi peningkatan 0,3 kali HCT selama latihan dan terjadi penurunan sebesar 0,04 kali selama istirahat 30 menit, dan peningkatan 0,1 kali PLT dari sebelum latihan dan terjadi penurunan 0,1 kali PLT dari selama latihan. Selain itu juga terjadi penurunan basofil, segment dan monosit, serta terjadi kenaikan limposit selama latihan 0,13 kali dari sebelum latihan dan terjadi penurunan 0,22 kali selama istirahat 30 menit.

Tabel 6. Perbedaan konsentrasi respon total leukosit subsets pada kelompok intensitas sedang

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	WBC $10^3/\text{mm}^3$	9,17	15,4	10,7
2.	HGB g/dl	14,43	15	14,5
3.	HCT %	43,7	45,04	43,1
4.	PLT $10^3/\text{mm}^3$	242	268	230,3
5.	LED mm/mnt	3	3,3	6
6.	Basofil	1	0,3	1
7.	Eusinofil	3,3	10,7	3,7
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	60,34	50	67
10.	Limposit	31,67	36	24,7
11.	Monosit	3,67	3	3,7

Data tabel 7 tampak bahwa juga terjadi peningkatan pada WBC sebesar 0,51 kali dibandingkan sebelum latihan dan terjadi peningkatan sebesar 0,34 kali setelah istirahat 30 menit dibandingkan sebelum latihan. Sedangkan pada *segment* terjadi penurunan saat latihan sebesar 0,26 kali dibanding sebelum latihan dan meningkat lagi dimasa istirahat sebesar 0,34 kali.

Tabel 7. Perbedaan konsentrasi respon total leukosit subsets pada kelompok intensitas rendah

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	WBC 10 ³ /mm ³	6,85	10,35	9,2
2.	HGB g/dl	16,1	16,95	16
3.	HCT %	48	50	46,5
4.	PLT 10 ³ /mm ³	170	174,5	176
5.	LED mm/mnt	2	2	2,5
6.	Basofil	0,5	0	1
7.	Eusinofil	1,5	1	1
8.	Batang	0	0	0
9.	Segment	53,5	39,4	71,5
10.	Limposit	39	34	23,5
11.	monosit	5,5	6	3

Berdasarkan analisa kadar laktat yang diperoleh berdasarkan analisa laboratorium, dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Perbedaan kadar respon laktat

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	Intensitas Tinggi	6,2	19,5	17,4
2.	Intensitas Sedang	5,7	18,5	15,4
3.	Intensitas Rendah	12,2	21,6	16,3

Dari tabel 8 tampak bahwa pada kelompok intensitas rendah sebelum latihan kadar laktat cukup tinggi dibandingkan dengan kelompok intensitas tinggi dan sedang, hal ini salah satu penyebabnya adalah peneliti tidak bisa mengontrol tingkat istirahat subjek walaupun sudah dilakukan pengukuran denyut nadi permenit. Sedangkan pada saat latihan kenaikan kadar laktat cukup tinggi, yaitu 3,1 kali dari kadar laktat sebelum latihan sedang pada kelompok intensitas tinggi, sedangkan pada kelompok intensitas sedang kenaikannya 3,2 kali dari kadar laktat sebelum latihan, sedangkan kelompok dengan intensitas rendah kenaikannya 1,8 kali kadar laktat sebelumnya. Selanjutnya bila dilihat pada saat selesai istirahat 30 menit terjadi penurunan pada kelompok intensitas tinggi sebesar 10,76%, dan pada kelompok intensitas rendah terjadi penurunan 16,76%, sedangkan pada kelompok intensitas rendah terjadi penurunan sebesar 24,5%. Jadi tampak bahwa dengan istirahat 30 menit setelah melakukan latihan belum cukup waktu untuk memulihkan kadar laktat ke normal.

Dari hasil analisa kadar respon HSP70 disajikan pada tabel 9 dari tabel tersebut tampak bahwa pada kelompok intensitas tinggi terjadi kenaikan 0,53 kali dibandingkan sebelum latihan dan menurun lagi selama istirahat sebesar 0,7 kali lipat, dan pada intensitas sedang juga terjadi peningkatan sebesar 0,84 kali dibandingkan sebelum latihan, hal ini menurut analisa penulis bahwa HSP70 sangat dipengaruhi oleh tingkat stress. Makin tinggi tingkat stress maka akan terjadi peningkatan HSP70 pada plasma atau jaringan. Begitu juga makin tinggi aktivitas fisik maka HSP70 juga akan meningkat.

Tabel 9. Perbedaan kadar respon HSP70

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	Intensitas Tinggi	58,6	27,2	16,7
2.	Intensitas Sedang	19,9	36,6	26,0
3.	Intensitas Rendah	8,4	5,1	2,7

HSP70 yang merupakan penanda umum stres protein yang ekspresinya diinduksi oleh stresor sel yang berbeda, seperti panas, *deprivation metabolik*, ketidak seimbangan redoks dan juga selama latihan fisik. Hal yang sama juga diungkap oleh (Krause, et al., 2006) mengatakan bahwa olahraga akan menginduksi munculnya HSP70 dalam media ekstraseluler sehingga dimungkinkan dengan intensitas yang tinggi akan mengakibatkan munculnya HSP70 ekstraseluler menjadi banyak dan akan membantu tingkat aktivasi kekebalan tubuh, sehingga dengan makin tingginya HSP70 dalam tubuh akan meningkatkan kekebalan dan daya tahan tubuh, sehingga tampak pada kelompok intensitas tinggi HSP70 lebih tinggi dibandingkan kelompok yang lain.

Dari tabel 9 tampak bahwa pada intensitas tinggi kadar HIF-1 α sebelum latihan lebih tinggi dari pada selama latihan sebesar 0,52 kali lipat, dan terjadi penurunan yang sangat drastis sebesar 0,82 kali dibandingkan sebelum istirahat. Hal ini salah satu penyebabnya adalah atlet tidak cukup istirahat sebelum pengambilan darah. Kemudian menurun setelah istirahat 30 menit. Sedangkan untuk kelompok intensitas sedang dan intensitas rendah tampak terjadi peningkatan selama latihan dan penurunan selama istirahat 30 menit.

Tabel 10. Perbedaan Kadar Respon HIF-1 α

No	Variabel	Kelompok Latihan		
		Sebelum Latihan	Selama latihan	Setelah Istirahat 30 mnt
1.	Intensitas Tinggi	11.5	6.0	2.1
2.	Intensitas Sedang	2.6	4.2	1.8
3.	Intensitas Rendah	-2.7	-1.4	-2.0

Dari tabel 10 didapatkan suatu gambaran bahwa, aktivitas fisik aerobik maupun anaerobik mengakibatkan terjadinya peningkatan kebutuhan oksigen untuk memenuhi kebutuhan energi selama beraktivitas. Peningkatan kebutuhan oksigen ini mengakibatkan penurunan tekanan oksigen di jaringan atau hipoksia.

HIF-1 α merupakan heterodimer yang terdiri dari sub unit HIF-1 α dan HIF-1 β . Kedua sub unit ini merupakan anggota dari superfamili protein *basic helix-loop-helix Per/ARNT/Sin* (bHLH-PAS) dan secara konstitutif ditranskripsikan dan ditranslasikan, akan tetapi HIF-1 α akan digedrasikan pada kondisi normoksia. Hal ini terjadi karena HIF-1 α mengalami modifikasi pasca translasi berupa hidroksilasi, yang menyebabkan tidak stabil sehingga dengan cepat dan kontinu didegradasi (Chun, et al., 2002).

Pada kondisi hipoksia, turunnya tekanan oksigen di bawah kadar fisiologik akan menghambat aktifitas PHD dan FIH-1 (*factor inhibiting HIF-1 α*), karena kedua enzim ini memerlukan oksigen sebagai ko-substrat. Penghambatan pada PHD mengakibatkan HIF-1 α stabil, sedangkan penghambatan pada FIH-1 akan menjamin HIF-1 α akan mengikat koaktifator CBP/p300, untuk menjalankan aktivitas transkripsi yang sempurna. Kondisi hipoksia mengakibatkan akumulasi HIF-1 α dalam sitoplasma terjadi dengan cepat. Setelah mengalami fosforilasi, HIF-1 α translokasi ke inti sel untuk dimerisasi dengan pasangannya HIF-1 β , membentuk faktor transkripsi HIF-1.

HIF-1 memperantai respon seluler terhadap hipoksia melalui pengaturan ambilan glukosa dan pertukaran sistem metabolisme (Dery, et al., 2004), pada saat tersedianya oksigen, hampir seluruh sel menghasilkan ATP melalui posporilasi oksidatif, akan tetapi dalam keadaan hipoksia terjadi pertukaran sistem metabolisme dari metabolisme aerobik ke metabolisme anaerob. HIF-1 berperan dalam pertukaran sistem metabolisme ini dengan meningkatkan enzim-enzim glikolitik dan transporter glukosa, seperti *aldolase A* dan *pyruvat*

kinase M, yang membantu sel secara efisien menghasilkan energi dalam keadaan lingkungan hipoksia (Carmeliet, et al, 1998).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan pada hasil dan pembahasan dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa: (1) Pola latihan interval dapat meningkatkan respon subset leukosit dan kadar laktat pada atlet sprinter junior putra selama latihan; (2) Pola latihan interval tidak menyebabkan perubahan kadar protein HSP70 dan HIF-1 α secara signifikan; dan (3) Pola latihan interval dapat diterapkan sebagai salah satu bentuk latihan bagi atlet sprint dalam persiapan lomba.

Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan: (1) Pola latihan interval dapat direkomendasikan sebagai salah satu bentuk latihan yang aman bagi atlet sprinter junior putra karena tidak menyebabkan terjadinya kondisi hipoksia berlebihan pada atlet; dan (2) Pengukuran kadar laktat, HSP70 dan HIF-1 α dapat direkomendasikan sebagai salah satu parameter yang diukur untuk mengetahui respon atlet terhadap beban latihan yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Carmeliet, P., 2001. Synergism Between Vascular Endothelial Growth Factor and Placental Growth Factor Contributes to Angiogenesis and Plasma Extravasation in Pathological Conditions. *Nat Med*. Volume 7 hal. 575-583.
- Chun, et al. 2004. HI-1 α Regulation: Not Easy Come, Easy Go. *Trends Biochem Science*. Volume 33 Nomor 11 hal. 526-534.
- Dery, Nemet, et.al. 2004. Effect of Intense Wrestling Exercise on Leucocytes and Adhesion Molecules in Adolescent Boys. *Sport Medicine*. Volume 38 hal. 154-158.
- Keast, D., K.Cameron, dan A.R .Morton. 1988. Exercise and The Immune Respons. *Sport Medicine*. Volume 5 hal. 248-267.
- McCarthy, D.A., dan M.M.Dale. 1988. The Leucocytes Of Exercise. *Sport Medicine*. Volume 6 hal. 333-363.
- Prior BM, Yang HT, Terjung RL., 2004. What makes Vessel Grow with Exercise Training?, *Journal Appl Physiology*. Volume 97 hal. 1119-1128.
- Septelia, I. W., et al. 2009. Ekspresi Relatif mRNA, HIF-1 α pada Jantung, Otak dan darah Tikus Selama Induksi Hipoksia Sistemik. *Makara Sains*, Volume 13 Nomor 2 hal. 185-188.

Steven D. M., et al., 2007. HIF-1 α in Endurance Training: Suppression of Oxidative metabolism. *The American Journal of Physiology*. Nomor 293 hal. 2059-2069.

Tirtayasa, K.. 2001. Penyebab Kelelahan Otot pada Eksersais dengan Intensitas dan Durasi Berbeda. *Majalah Kedokteran Udayana*. Volume 32 hal. 73-77.

Young-Oh Shin, et al. 2004. Expression of Exercise-Induced HSP70 in Long- Distance Runner's Leucocytes. *Journal of Thermal Biology*. Volume 29 hal. 769-774.