

PENGARUH AKTIVITAS FISIK ANAEROBIK TIAP HARI TERHADAP KADAR *HEAT SHOCK PROTEIN (HSP)70* OTOT JANTUNG TIKUS WISTAR

Masayu Azizah¹, Rostika Flora², Theodorus²

¹*Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang,*

²*Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Sriwijaya Palembang*
email Korespondensi: zizaloeng@gmail.com

Abstrak

Heat Shock Protein (HSP) merupakan suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response (HSR)*. HSR diperlukan sebagai tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologis maupun yang berasal dari lingkungan. Peningkatan kadar HSP70 otot jantung ini dikarenakan adanya aktivitas fisik anaerobik. Aktivitas fisik ini mengakibatkan tubuh mengalami peningkatan suhu tubuh, stres panas dan latihan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisa pengaruh aktivitas fisik anaerobik yang dilakukan setiap hari terhadap kadar *Heat Shock Protein (HSP)70* otot jantung tikus wistar. Berdasarkan hasil penelitian, kelompok anaerobik menunjukkan peningkatan kadar HSP otot jantung dibandingkan kelompok pembanding.

Kata kunci : aktivitas fisik anaerobik tiap hari, HSP70, treadmill, tikus *rattus novergicus* wistar.

Abstract

Heat Shock Protein (HSP) is a protein that is produced because of the *Heat Shock Response (HSR)*. HSR is required as a response of cells to a variety of disorders, both physiological as well as from the environment. Increased levels of HSP70 heart muscle is due to anaerobic physical activity. Physical activity causes the body to increase body temperature, heat stress and latihan. Tujuan this study is to analyze the influence of anaerobic physical activity performed every day on levels of *Heat Shock Protein (HSP) 70* wistar rat cardiac muscle. Based on the results of the study, the group showed increased levels of HSP anaerobic heart muscle than the comparison group.

Keywords : anaerobic physical activity every day, HSP70, body temperature, *rattus novergicus* wistar rat.

PENDAHULUAN

Heat Shock Protein (HSP) merupakan suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat Shock Response (HSR)*. HSR diperlukan sebagai respon sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologis maupun yang berasal dari lingkungan (Westerheide & Morimoto, 2005). Ekspresi HSP atau HSP70 dapat diinduksi oleh berbagai macam *stressors*, diantaranya yaitu aktivitas fisik berat anaerobik, kenaikan temperatur, logam-logam berat, *small molecule chemical toxicants*, infeksi dan gangguan oleh radikal bebas (Westerheide & Morimoto, 2005).

Peningkatan kadar HSP70 otot jantung ini dikarenakan adanya aktivitas fisik anaerobik. Aktivitas fisik ini mengakibatkan tubuh mengalami peningkatan suhu tubuh, stres panas yang disebabkan oleh latihan. Aktivitas fisik ini akan mempercepat sintesis induksi HSP terutama HSP70. HSP muncul selain karena adaptasi pusat dan perifer juga disebabkan karena adanya stres panas saat melakukan latihan (Moseley, 1997; Fehrenbach *et al*, 2001; Walsh *et al*, 2001; Fehrenbach *et al*, 2005). Sekresi HSP70 sangat dipengaruhi oleh tingkat stres. Makin tinggi tingkat stres maka akan terjadi peningkatan kadar HSP70 pada plasma dan jaringan. Ekspresi HSP70 diperlukan untuk menghindari sel dari kematian akibat *stressor*, antara lain stresor panas yang diakibatkan oleh latihan (Lelj & Mauk, 2006).

KAJIAN LITERATUR

Gambaran Umum *Heat Shock protein (HSP)* dan *Chaperone*

Protein adalah bagian penting dari mikroorganisme

yang merupakan komponen utama metabolisme suatu sel. Pada satu organisme ada perbedaan ekspresi protein dari jaringan satu dengan jaringan yang lain tergantung kondisi lingkungan. Perbedaan tersebut terletak pada kompleksitas dan nukleotidanya. Pada manusia terdapat lebih dari 500.000 protein yang terekspresi dan masing-masing mempunyai fungsi yang berbeda-beda. Karena protein berperan penting dalam kehidupan suatu organisme maka dapat dipakai sebagai petanda keberadaan keadaan patologis tertentu (Westerheide & Morimoto, 2005).

Sintesis protein pada semua sel akan terganggu oleh adanya stres lingkungan (hipertermia, radiasi ultraviolet, defisiensi nutrisi, bahan kimia, infeksi virus, iskemia, dan lain-lain). Gangguan tersebut terutama dalam hal struktur dan fungsi protein, dimana protein adalah bagian penting dari mikroorganisme yang merupakan komponen utama metabolisme suatu sel. Ketika sel mengalami stres lingkungan, sel tersebut akan berhenti atau paling tidak memperlambat sebagian besar fungsi dasarnya, seperti proses transportasi, sintesis DNA, RNA dan protein. Namun, terdapat protein yang unik, yang disebut sebagai protein stres, yang diekspresikan secara khusus pada kondisi ini. Salah satu contoh respon stres yang mendasar adalah peningkatan tiba-tiba temperatur, yang disebut sebagai *Heat shock*. Respon *heat shock* pertama kali ditemukan oleh Feruccio Ritossa (1962) yang mengamati pembesaran bagian spesial dari kromosom *Drosophila melanogaster* (fruit fly) setelah terapi panas pada lalat tersebut. Kemudian menjadi jelas bahwa segmen kromosom ini mengkode kelas protein yang khusus. Sepuluh tahun kemudian Tiesiere

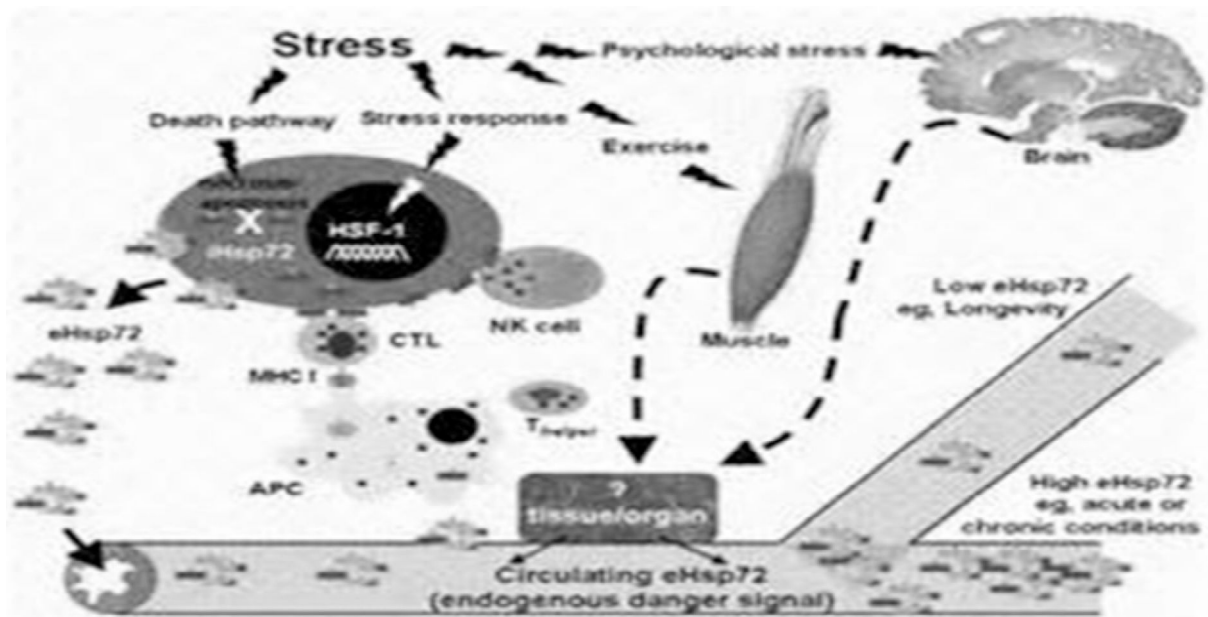
(1972), menunjukan bahwa pembengkakan ini berkaitan dengan hambatan sintesis protein normal dan adanya sintesis sejenis protein yang diberi nama *Heat shock protein* (Thompson, 2001).

HSP adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat shock response* (HSR). HSR adalah suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya *misfolded protein*. HSR merupakan suatu tanggapan sel terhadap berbagai macam gangguan, baik yang bersifat fisiologis (*physiological*) maupun yang berasal dari lingkungan (*Environmental*) (Westerheide & Morimoto, 2005).

Heat Shock Protein merupakan suatu *molecular*

chaperone yang berfungsi untuk melindungi protein lain dari agregasi, melonggarkan protein yang beragregasi, membantu pelipatan protein baru atau pelipatan kembali protein yang rusak, mendegradasi protein yang rusak cukup parah dan dalam kasus kerusakan yang sangat berat, mengasingkan protein yang rusak menjadi agregat yang lebih besar.

Klasifikasi kelas-kelas HSP dilakukan berdasarkan ukuran molekul dan fungsinya. Ada subkelas HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 (*J-domain proteins*) dan *small heat shock protein* (sHSP). Angka yang mengikuti kata Hsp menunjukkan berat molekulnya, contoh: angka 100 menunjukkan berat molekul dari HSP, yakni 100 kDa. sHSP adalah sub-kelas dari HSP yang mempunyai karakter massa molekular monomer yang rendah (9-40 kDa) (Lelj & Mauk, 2006).



Gambar 1. Aktivasi HSF akan menginduksi ekspresi HSP, yang berfungsi dalam mencegah terbentuknya misfolding protein, menginduksi cytoprotective mempromosikan jalur pensinyalan untuk pertumbuhan sel, mencegah apoptosis, dan menghambat penuaan.

Aktivitas Fisik anaerobik

Aktivitas anaerobik adalah aktivitas fisik yang dalam proses metabolisme pembentukan energi tidak menggunakan oksigen. Energi dihasilkan dari pembentukan ATP melalui sumber energi yang berasal dari kreatin fosfat dan glikogen (Guyton *et al*, 2006). Aktivitas fisik pada umumnya merupakan gabungan dari sistem aerobik dan anaerobik, akan tetapi porsi kedua sistem tersebut berbeda pada setiap cabang olahraga. Untuk cabang olahraga yang menuntut aktivitas fisik dengan intensitas tinggi dan waktu relatif singkat, misal lari sprint 400 meter, sistem energi predominannya adalah anaerobik. Sebaliknya, pada cabang olahraga yang menuntut aktivitas fisik dengan intensitas rendah dan berlangsung relatif lama, misal jogging 1600 m, sistem energi predominannya adalah aerobik. Hal ini dikarenakan energi yang dibentuk dari metabolisme aerobik dan anaerobik di dalam sel merupakan suatu proses pembentukan energi yang berkesinambungan untuk aktivitas fisik yang juga berkesinambungan (Young, 2001). Aktivitas fisik baik aerobik maupun anaerobik dapat mengakibatkan perubahan hemodinamik tubuh. Aktivitas fisik tidak

hanya melibatkan fungsi kardiovaskuler dan adaptasi muscular tetapi juga menimbulkan perubahan respon endokrin. Hormon: hormon ini terlibat dalam mobilisasi dan degradasi substrat untuk energi dan juga dalam pengaturan volume darah (Mooren, 2005).

METODE

Besar Sampel

Sampel adalah Tikus Jantan *Rattus novergicus* galur wistar dengan umur 6-8 minggu, berat badan 90-140 gram. Untuk kelompok perlakuan, tikus diperkenalkan dengan alat *treadmill* dengan cara melatih tikus berlari di atas *treadmill* setiap hari dengan kecepatan dan waktu yang ditingkatkan secara bertahap. Hal ini dimaksudkan agar pada saat penelitian dilakukan tikus sudah terbiasa dengan alat *treadmill* yang dipakai. Pengenalan dengan alat ini waktunya tidak boleh lebih dari 15 menit (5-15 menit) dan tidak boleh dengan kecepatan yang tinggi, karena akan menimbulkan respon adaptasi (American Physiological Society, 2006). Perlakuan aktivitas fisik anaerobik diberikan dengan

animal *treadmill* dan menjalankan *treadmill* dengan kecepatan 35 m/menit selama 20 menit (Soya ,2007, Farenia 2009, Flora 2011).

Cara Kerja :

Kadar HSP70 pada supernatan otot jantung diukur dengan kit *EKS-700 Stress gen Victoria BC Canada* dengan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 405 nm. Kadar HSP70 dihitung dengan kurva yang dibandingkan dengan kurva log standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Kadar Protein

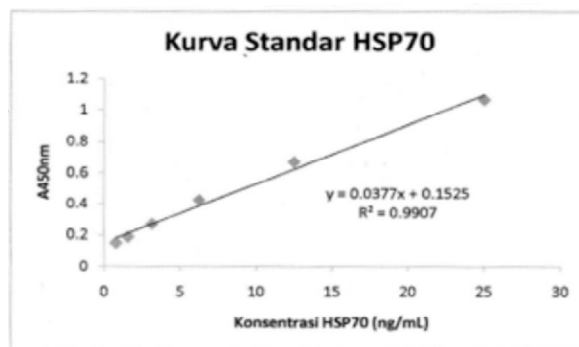
Perhitungan konsentrasi protein HSP70 didalam jaringan otot jantung berdasarkan hukum *Beer-Lambert*, absorbansi suatu senyawa dalam campuran secara langsung tergantung pada konsentrasi senyawa tersebut. Konsentrasi suatu senyawa dapat ditentukan dengan terlebih dahulu membuat kurva standar dari senyawa yang dicari pada panjang gelombang khusus dari senyawa HSP70.

Kurva Standar kadar HSP70

Pengukuran konsentrasi HSP70 homogenat otot jantung dilakukan secara spektrofotometri pada panjang gelombang 530 nm. Pengukuran dilakukan secara duplo untuk setiap sampel dan dihitung konsentrasinya menggunakan standar. Perhitungan konsentrasi protein jaringan otot jantung tikus dilakukan pada tiap sampel berdasarkan kurva standar HSP70 yang diperlihatkan pada gambar grafik 1 berikut ini:

$$y = 0,0377x + 0,1525$$

$$R^2 = 0,9907$$



Grafik 1. Kurva standar Heat Shock Protein (HSP70)

Dari grafik 1 diatas didapatkan persamaan garis yang diperoleh nilai $y = 0,0377x + 0,1525$. Adapun dari persamaan ini menunjukkan spektrum absorbansi standar yang secara teoritis harus membentuk garis linier sehingga dapat digunakan sebagai kurva standar dalam menentukan konsentrasi.

HSP adalah suatu protein yang dihasilkan karena adanya *Heat shock response* (HSR). HSR adalah suatu respon berbasis genetik untuk menginduksi gen-gen yang mengkode *molecular chaperone*, protease dan protein-protein lain yang penting dalam mekanisme pertahanan dan pemulihan terhadap jejas seluler yang berhubungan dengan terjadinya misfolded protein (*Environmental*) (Westerheide & Morimoto, 2005).

Kadar *Heat Shock Protein* (HSP70) Otot Jantung Tikus Galur Wistar pada Aktivitas Fisik Anaerobik

Kelompok	Standar Deviasi	Pvalue
Pembanding	0,63±0,21	
7 hari	0,95±0,46	0,26

Hasil pengukuran kadar HSP70 pada kelompok anaerobik 7 hari berturut-turut enunjukkan terjadinya peningkatan kadar HSP otot jantung dibandingkan kelompok pembanding. Menurut peneliti hal ini dikarenakan terjadi proses adaptasi otot jantung terhadap beban latihan fisik yang diberikan, sehingga otot jantung merespon latihan fisik tersebut sebagai suatu beban.

Menurut peneliti hal ini dikarenakan pada latihan fisik anaerobik terjadi peningkatan kadar asam laktat sebagai produk akhir dari metabolisme anaerob. Selain adanya produksi asam laktat pada aktivitas fisik anaerobik, peningkatan kadar HSP otot jantung ini juga dikarenakan adanya radikal bebas yang terbentuk selama aktivitas fisik berlangsung. Mekanisme terbentuknya radikal bebas pada latihan fisik ini terdapat perbedaan. Pada latihan fisik aerobik sistem metabolisme membutuhkan oksigen untuk memenuhi kebutuhan energi bagi otot yang berkontraksi. Akan tetapi tidak semua oksigen tersebut dipakai untuk proses metabolisme, 2-5% dari oksigen yang akan digunakan dalam proses metabolisme di dalam tubuh akan menjadi ion superoksid yang berdampak terhadap peningkatan radikal bebas (Chevion, 2003). Sebaliknya pada latihan fisik anaerobik radikal bebas terbentuk karena adanya *reperfusion injury*.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Soufi *et al* (2008) yang menyatakan bahwa terjadi peningkatan ekspresi gen HSP70 yang diberi perlakuan *long-term training*. Penelitian yang dilakukan oleh Yuefei *et al* (1998) pada otot skeletal atlet yang melakukan *rowing training* selama 4 minggu didapatkan bahwa terjadi peningkatan kadar HSP70. Begitu pula penelitian yang dilakukan oleh Starnes *et al* (2005) didapatkan bahwa terjadi peningkatan HSP70 sebesar 44% pada otot jantung tikus yang melakukan latihan fisik selama 10 minggu menggunakan *treadmill*.

SIMPULAN

Terdapat pengaruh aktivitas fisik anaerobik yang dilakukan tiap hari terhadap rerata kadar HSP70 otot jantung tikus wistar ($0,95 \pm 0,46$) ($p\text{ value} = 0,26$).

DAFTAR PUSTAKA

- Chevion, S., Moran, D.S., Heled, Y., Shani, Y., Reggev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadman, E.R dan Epstein, Y., 2003. *Plasma Antioxidant Status and Cell Injury After Severe Physical Exercise*. Proc Nati Acad Sci. 100(9): 5119-5123.
- Foss, L.M. 2006. *Physiological Basis for Exercise and Sport*. New York: Mc Graw Hill Book Company. 59-64.
- Flora, R. 2011. *Perbedaan Mekanisme Adaptasi Molekuler Otot Jantung Tikus Wistar Terhadap Pembebanan Aktivitas Fisik Aerobik dan Anaerobik Tanpa Hari Istirahat*. Disertasi Program Doktor Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Indonesia.

- Guyton, A. C. & Hall, J. E., 2006, *Text book of medical physiology*, 11 Editions.
- Ji LL, 1995. *Exercise and Oxidative Stress: Role of the Cellular Antioxidant Systems dalam Exercise and Sport Sciences Reviews* Holloszy J. American College of Sports Medicine Series. Williams & Wilkins.
- Lelj-Garolla B, Mauk AG. Self-association and chaperone activity of HSP27 are thermally activated. *J. Biol Chem*, 2006; 281: 8169-74.
- Liu, Y., Lormes, W., Baur, C., Opitz-Gress, A., Altenburg, D., Lehman, M. and Steinacker, J.M. (2000). *Human skeletal muscle HSP70 response to physical training depends on exercise intensity*. *International Journal of Sports Medicine*, 21:351-355.
- Li, Z. and P. Srivastava, 2004. *Heat-shock proteins*. Current protocols in immunology / edited by John E. Coligan et al. Appendix 1: Appendix 1T. doi:10.1002/047114255X.ch101, PMID 18432918.
- Harris, M.B. and J. W. Starnes, 2001. *Effects of body temperature during exercise training on myocardial adaptations*, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 280: H2271-H2280.
- Mooren, F.C., Volker, K. 2005. *Human Kinetics*. Molecular and Cellular Exercise Physiology. USA.
- Thompson, H.S., Scordilis, S.P., Clarkson, P.M., and Lohrer, W.A. 2001. *A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and HSC/HSP70 in human skeletal muscle*. *Acta. Physiol. Scand.*, 171:187-193.
- Young IS, Woodside JV. *Antioxidant in health and disease*. *J Clin Pathol*, 2001; 54:176-86.
- Westerheide SD, Morimoto RI. *Heat shock response modulators as therapeutic tools for diseases of protein conformation*. *J Biol Chem*. 2005;280:33097-100