

PENGARUH PEMBERIAN *GLUTATHIONE* PRA LATIHAN SUBMAKSIMAL TERHADAP JUMLAH TROMBOSIT DAN MASA PERDARAHAN : STUDI EKSPERIMENTAL PADA HEWAN COBA

Hesty Rohmatul Fajri*, Raden Argarini, Choesnan Effendi*****

*Prodi S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya

**Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya

***Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Latihan submaksimal menyebabkan stres oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan sel, termasuk trombosit. *Glutathione* adalah antioksidan yang berpotensi, mempunyai efek proteksi terhadap sel. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal terhadap jumlah trombosit dan masa perdarahan. Rancangan penelitian ini adalah *separate post test only control group design* dengan subyek penelitian berjumlah 28 ekor tikus (*Rattus norvegicus* strain Wistar) yang dibagi menjadi empat kelompok : P1(6) tanpa perlakuan; P2(7), P3(8), dan P4(7) dengan pemberian masing-masing *placebo*, *glutathione* dosis 54 mg/kgBB, dan *glutathione* dosis 108 mg/kgBB secara *intraperitoneal* sebanyak 5 kali yang dilanjutkan dengan latihan submaksimal (berenang dengan beban 4% berat badan). Hasil uji ANOVA dan LSD menunjukkan bahwa latihan submaksimal cenderung menurunkan jumlah trombosit ($p=0,407$; tidak signifikan) dan memperpanjang masa perdarahan ($p=0,017$). Pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal cenderung meningkatkan jumlah trombosit ($p=0,407$; tidak signifikan) dan memperpendek masa perdarahan ($p=0,017$). *Glutathione* dengan dosis 54 mg/kgBB memberikan efek proteksi terhadap trombosit lebih baik daripada dosis 108 mg/kgBB. Simpulan penelitian ini adalah pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal mempunyai efek proteksi terhadap trombosit serta memperpendek waktu perdarahan.

Kata kunci : *glutathione, latihan submaksimal, jumlah trombosit, masa perdarahan*

THE EFFECT OF GLUTATHIONE PRE SUBMAXIMAL EXERCISE ON PLATELET COUNT AND BLEEDING TIME : EXPERIMENTAL STUDY IN LABORATORY ANIMALS

Hesty Rohmatul Fajri*, Raden Argarini**, Choesnan Effendi***

* Medical Programmed, Faculty of Medicine Universitas Airlangga, Surabaya

**Physiology Departement of Medical Faculty, Airlangga University, Surabaya

***Physiology Departement of Medical Faculty, Airlangga University, Surabaya

ABSTRACT

Submaximal activity leads to oxidative stress that causes cellular damage, including platelet. Glutathione as a potential antioxidant has cellular protective effect. The purpose of this research was to analyze the effect of glutathione pre submaximal exercise on platelet count and bleeding time. The study used separate post test only control group design with 28 male rats (*Rattus norvegicus*, Wistar strain) which were divided into four groups : P1(6) without intervention; P2(7), P3(8), and P4(7) with administration of placebo (aquabidest), glutathione 54 mg/kgBB, and glutathione 108 mg/kgBB intraperitoneally for each group that were given 5 times, continued with submaximal exercise (swimming with 4% of weight load). The result of ANOVA and LSD test showed that submaximal exercise had tendency to decrease platelet count ($p=0,407$; not significant) and prolonged bleeding time ($p=0,017$). Glutathione pre submaximal exercise had tendency to increase platelet count ($p=0,407$; not significant) and shortened bleeding time ($p=0,017$). Glutathione with a dose of 54 mg/kg had protective effect on platelet better than a dose of 108 mg/kg. In conclusion, the administration of glutathione pre submaximal exercise has protective effect on platelet in male rats (*Rattus norvegicus*).

Keywords: *glutathione, submaximal exercise, platelet count, bleeding time*

PENDAHULUAN

Olahraga, baik yang bersifat olahraga prestasi maupun rekreasi merupakan aktivitas yang dapat memberikan manfaat bagi kesehatan fisik maupun mental. Akan tetapi, olahraga dapat pula menimbulkan dampak yang merugikan bagi tubuh ⁽¹⁾. Sebagian besar atlet melatih daya tahan tubuhnya dengan melakukan latihan intensitas tinggi. Latihan dapat dibedakan berdasarkan intervalnya, yaitu supramaksimal, maksimal, dan submaksimal ⁽²⁾. Pada latihan fisik submaksimal, terjadi peningkatan konsumsi oksigen secara signifikan yang menyebabkan kebocoran elektron dari sistem transpor mitokondria dan mengakibatkan stres oksidatif ^(3,4). Stres oksidatif merupakan keadaan yang dimana reaksi oksidatif melebihi reaksi antioksidan karena hilangnya keseimbangan dari keduanya. Hal ini membahayakan karena pada keadaan ini radikal bebas menyerang molekul-molekul biologis seperti lemak, protein, dan DNA yang turut berperan dalam patogenesis berbagai penyakit ⁽⁵⁾. Produksi radikal bebas yang berlebihan dapat merusak lipid, protein, DNA, dan menurunkan fungsi sel ke arah kematian sel dengan nekrosis atau

apoptosis ⁽⁶⁾. Kerusakan sel akibat radikal bebas yang berlebihan juga dapat terjadi pada trombosit. Trombosit berperan dalam mekanisme hemostasis melalui adhesi ke tempat jejas dan agregasi antara satu dengan yang lain, suatu proses yang disebut sebagai hemostasis primer pada sirkulasi normal. Tes masa perdarahan dapat mengukur kemampuan trombosit untuk menghentikan perdarahan, sehingga dapat digunakan untuk mengetahui jumlah dan fungsi trombosit ⁽⁷⁾.

Stres oksidatif dapat diatasi dengan menggunakan antioksidan ⁽⁸⁾. *Glutathione*, disebut sebagai master antioksidan, mempunyai kemampuan untuk mempertahankan antioksidan eksogen seperti vitamin C dan E dalam bentuk aktifnya ⁽⁹⁾. Sebagai antioksidan intraseluler paling penting dan sebagai substrat dari reaksi GSH peroksidase, *glutathione* mempunyai peran utama memakan atau membersihkan ROS. Kadar *glutathione* yang tinggi dibutuhkan untuk fungsi seluler, transduksi sinyal, dan perlindungan terhadap karsinogen tertentu ⁽¹⁰⁾. Dalam hal ini, *glutathione* diharapkan dapat memberikan efek proteksi terhadap kerusakan yang disebabkan oleh stres

oksidatif akibat latihan submaksimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *separate post test only control group design* yang dilakukan di Unit Hewan Coba Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. Subyek penelitian ini adalah 28 ekor tikus putih galur Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, umur \pm 3 bulan, berat badan dengan rata-rata $170,9 \pm 23,5$ gram, dan kondisi sehat fisik. Subyek dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu: P1 tanpa perlakuan, P2 sebagai kontrol positif dengan perlakuan berupa latihan submaksimal dan pemberian *placebo* (aquabidest) sebelumnya, P3 dengan pemberian *glutathione* 54 mg/kgBB dan latihan submaksimal, serta P4 dengan pemberian *glutathione* 108 mg/kgBB dan dilanjutkan dengan latihan submaksimal. Pemberian *placebo* dan *glutathione* dilakukan secara *intraperitoneal* selama 3 hari dengan 2 kali pemberian dalam sehari yaitu pada pukul 07.00 WIB dan 15.00 WIB. Selanjutnya dilakukan latihan submaksimal berupa berenang dengan beban sebesar 4% berat badan dan intensitas sebesar 90% latihan maksimal.

terhadap jumlah trombosit dan masa perdarahan pada tikus (*Rattus norvegicus*) jantan.

MATERI DAN METODE

Sedangkan, latihan maksimal dilakukan pada masing-masing tikus dengan cara berenang sampai kelelahan dan tidak dapat muncul kembali ke permukaan. Setelah itu, dilakukan pemeriksaan masa perdarahan dan jumlah trombosit pada semua kelompok satu jam setelah latihan submaksimal untuk mengetahui efek akut latihan.

Darah diambil secara *intracardial* setelah diberi anestesi umum berupa ketamin dan xylasin pada setiap tikus. Hitung jumlah trombosit dianalisis menggunakan Sysmex XN-1000-B3. Pemeriksaan masa perdarahan dilakukan dengan cara : 1 mm ujung ekor dipotong dengan *scalpel* steril pada tikus yang telah diberi anestesi umum. Luka yang dihasilkan secara hati-hati dihisap dengan kertas saring pada waktu 0 dan setiap interval 30 detik sampai pendarahan berhenti. Masa pendarahan dimulai ketika tetesan pertama menyentuh kertas saring dan dilanjutkan mengecek pada kertas saring tersebut dengan interval 30 detik sampai pendarahan berhenti. Waktu saat tidak ada darah yang diserap oleh kertas saring disebut sebagai waktu pendarahan

⁽¹¹⁾. Data diolah dengan uji statistik *Analysis of Variance (Anova)* dan LSD. Penelitian ini telah mendapatkan Keterangan Kelaikan Etik dengan No. 214/EC/KEPK/FKUA/2014 oleh Komite

Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.

HASIL DAN DISKUSI

Tabel 1. Perbandingan Jumlah Trombosit dan Masa Perdarahan antar Kelompok Perlakuan.

| Variabel | Kelompok Perlakuan | | | | F | P |
|---|--------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|
| | P1 (n=6) | P2 (n=7) | P3 (n=8) | P4 (n=7) | | |
| Jumlah Trombosit ($\times 10^3/\mu\text{L}$) | 833,2 \pm 158,8 | 661,4 \pm 202,2 | 694,5 \pm 212,9 | 748,9 \pm 173,2 | 1,007 | 0,407 |
| Masa Perdarahan (detik) | 170,0 \pm 24,5 | 325,7 \pm 55,9 ^a | 236,3 \pm 91,3 | 248,6 \pm 110,5 | 4,165 | 0,017 |

Keterangan :

- n merupakan jumlah sampel dalam kelompok tersebut yang diperiksa.
- P merupakan hasil uji *One Way ANOVA* dan komparasi ganda LSD.
- Huruf *superscript* (^a) pada P2 menunjukkan hasil yang memanjang ($p < 0,05$) dibandingkan dengan P1 dan P3.

Didapatkan hasil bahwa terdapat kecenderungan penurunan jumlah trombosit akibat latihan submaksimal pada kelompok P2 dibandingkan dengan kelompok P1. Sedangkan, pada kelompok P2 didapatkan masa perdarahan memanjang secara bermakna akibat latihan submaksimal dibandingkan kelompok

P1 ($p < 0,05$). Latihan submaksimal dilakukan pada intensitas (beban kerja) di bawah konsumsi oksigen ($VO_2 \text{ max}$) seseorang. Sedangkan, intensitas latihan submaksimal dapat sangat bervariasi antara individu, maka hal itu lebih didefinisikan sebagai beban kerja dimana metabolisme aerobik menyediakan hampir

semua energi yang dibutuhkan untuk kontraksi otot. Konsumsi oksigen meningkat tajam selama beberapa menit pertama dari latihan submaksimal ⁽³⁾. Konsumsi oksigen yang meningkat menyebabkan peningkatan stres oksidatif. Dalam keadaan ini, terjadi peningkatan produksi radikal bebas yang dapat merusak lipid, protein, DNA, dan menurunkan fungsi sel ke arah kematian sel dengan nekrosis atau apoptosis ^(4,6). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa latihan submaksimal dapat menyebabkan apoptosis sel biologis meningkat, termasuk trombosit. Hal tersebut dapat menyebabkan penurunan jumlah trombosit sesuai dengan perbandingan jumlah trombosit antara kelompok P1 dan P2. Namun, hasil uji statistik menunjukkan bahwa penurunan tersebut tidak bermakna ($p > 0,05$). Pada kelompok P2, masa perdarahan memanjang secara bermakna dibandingkan dengan kelompok P1. Masa perdarahan yang memanjang tidak hanya disebabkan oleh penurunan jumlah trombosit, namun terdapat protein-protein yang berperan dalam proses agregasi.

Pada saat sel endotel rusak, trombosit kontak dengan kolagen yang terekspos dan protein koagulasi lain yang kemudian menjadi berubah bentuk. Bentuknya berubah menjadi sferis atau

iregular, mengeluarkan pseudopodia yang memanjang dengan berbagai ukuran untuk menyebar pada subendotelium yang terekspos. Sel endotel juga mengeluarkan sitokin dan protein lain yang mengaktifasi trombosit. Setelah teraktivasi, trombosit menempel pada tempat jejas dengan cepat dan membentuk sumbat trombosit. Trombosit juga mengeluarkan isi organelnya yang kemudian mengaktifasi trombosit lainnya dan agregasi serta membentuk sumbat trombosit hemostasis primer. Selanjutnya, protein koagulasi teraktivasi, fibrin disekresi dan sumbat trombosit distabilkan ⁽⁷⁾. Masa perdarahan yang memanjang secara bermakna tanpa disertai penurunan jumlah trombosit secara bermakna dapat disebabkan oleh rusaknya protein-protein yang berperan dalam proses agregasi.

Stres oksidatif dapat diatasi dengan menggunakan antioksidan ⁽⁸⁾. *Glutathione* (GSH), tripeptida terdiri dari L-sistein, L-asam glutamat, dan glisin, merupakan pemakan radikal bebas utama, pendorong kekebalan, dan penetral racun tubuh. *Glutathione* bukan suatu nutrisi esensial, tetapi disintesis dalam intraseluler dan didegradasi oleh peptidase intraseluler. Sistem antioksidannya tergolong utama di antara mekanisme protektif seluler karena berperan langsung dalam destruksi ROS

melalui GSH peroksidase⁽⁹⁾. Jadi, fungsi *glutathione* dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan proteksi terhadap trombosit dari kerusakan akibat stres oksidatif setelah latihan submaksimal.

Jumlah trombosit kelompok P3 dengan pemberian *glutathione* 54 mg/kgBB pra latihan submaksimal yang cenderung meningkat dibandingkan kelompok P2, menunjukkan bahwa pada penelitian ini *glutathione* dapat memberikan efek protektif terhadap trombosit radikal bebas yang dihasilkan setelah latihan submaksimal. Sedangkan, masa perdarahan pada kelompok P3 yang memendek secara bermakna dibandingkan dengan P2 ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa *glutathione* dapat memberikan efek proteksi terhadap trombosit dan protein-protein yang berperan dalam proses hemostasis primer yang dilihat dari masa perdarahan.

Pada kelompok P4 dengan pemberian *glutathione* 108 mg/kgBB pra latihan submaksimal, terdapat kecenderungan peningkatan jumlah trombosit dibandingkan dengan P2. Dan didapatkan masa perdarahan yang cenderung memendek dibandingkan dengan kelompok P2. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *glutathione* mempengaruhi

trombosit dan protein-protein yang berperan dalam proses agregasi dan hemostasis primer. *Glutathione* melindungi trombosit dan protein-protein tersebut dari kerusakan akibat radikal bebas setelah latihan submaksimal.

Didapatkan kecenderungan peningkatan jumlah trombosit pada kelompok P4 lebih besar dari pada kelompok P3 apabila dibandingkan dengan P2 sebagai kontrol positif. Dan apabila dibandingkan dengan kelompok P1 sebagai kontrol negatif, kelompok P4 lebih mendekati angka hasil pemeriksaan dengan P2 daripada P3 dengan P2. Kelompok P2 yang dijadikan sebagai angka normal dijadikan sebagai acuan, sehingga hasil pemeriksaan kelompok P4 lebih baik daripada kelompok P3. Hal ini menunjukkan bahwa pengaruh *glutathione* pra latihan submaksimal terhadap jumlah trombosit dengan dosis 108 mg/kgBB lebih baik daripada 54 mg/kgBB. Namun, perbedaan tersebut tidak bermakna ($p > 0,05$).

Didapatkan pemendekan pada kelompok P3 dan P4 dibandingkan dengan P2. Masa perdarahan yang memendek pada kelompok P3 lebih mendekati P1 sebagai kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok P4 dan P1. Perbedaan antar kelompok menunjukkan hasil yang

bermakna ($p < 0,05$). Sehingga, dapat disimpulkan bahwa pengaruh *glutathione* pra latihan submaksimal terhadap masa perdarahan dengan dosis 54 mg/kgBB lebih baik daripada dosis 108 mg/kgBB.

Pemberian *glutathione* 54 mg/kgBB memberikan penurunan lebih besar daripada pemberian *glutathione* 108 mg/kgBB apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol⁽¹²⁾. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian ini apabila dilihat dari masa perdarahan, yaitu *glutathione* pra latihan submaksimal dengan dosis 54 mg/kgBB memperpendek masa perdarahan lebih baik daripada dosis 108 mg/kgBB.

Pada saat terjadi aktivasi, trombosit berubah bentuk dari disk ke sferis dengan ekstensi dendrit yang membantu perlekatan (adhesi). Sitoplasma trombosit kaya akan aktin dan miosin yang berperan dalam perubahan bentuk dan retraksi bekuan. Terdapat dua kelompok granula sekretori, yaitu *dense granule* yang menghasilkan ADP dan kalsium serta *alpha granule* yang menghasilkan protein-protein, diantaranya *von Willeberand Factor* (vWF) dan *Platelet Factor* (PF) 4. ADP dan kalsium berperan dalam agregasi trombosit dan reaksi koagulasi permukaan trombosit⁽¹³⁾. Hal ini menunjukkan bahwa dalam proses agregasi yang berperan dalam masa perdarahan tidak hanya

melibatkan trombosit, melainkan juga protein-protein seperti ADP, vWF, kalsium, dan PF 4 yang tidak dianalisis dalam penelitian ini sehingga terjadi perubahan masa perdarahan yang signifikan tanpa disertai perubahan jumlah trombosit yang signifikan.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan yang didapat dari penelitian ini adalah latihan submaksimal cenderung menurunkan jumlah trombosit dan memperpanjang masa perdarahan, pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal cenderung meningkatkan jumlah trombosit dan memperpendek masa perdarahan, serta pemberian *glutathione* pra latihan submaksimal dengan dosis 54 mg/kgBB memberikan efek proteksi terhadap trombosit lebih baik daripada dosis 108 mg/kgBB.

Beberapa saran yang dapat diajukan untuk penelitian selanjutnya adalah diperlukan penelitian dengan jumlah sampel hewan coba yang lebih banyak dan diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai latihan submaksimal secara obyektif dengan menggunakan pengukuran $VO_2 \max$ serta protein-protein dalam proses agregasi yang mempengaruhi masa perdarahan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arovah NI. *Diagnosis dan Manajemen Cedera Olahraga*. Yogyakarta; 2010.
2. Paton CD, Hopkins WG. Effects of High-Intensity Training on Performance and Physiology of Endurance Athletes. *Sportscience*. 2004; 8: p. 25-40.
3. Andreacci d. *Excess Post-Exercise Oxygen Consumption (EPOC)*. ; 2011.
4. Aslan R, Sekeroglu MR, Tarakcioglu M. Effect of Acute and Regular Exercise on Antioxidative Enzymes, Tissue Damage Markers and Membran Lipid Peroxidation of Erythrocytes in Sedentary Students. *Tr. J. of Medical Sciences*. 1996;(28): p. 411-414.
5. Yoshikawa T, Naito Y. What is Oxidative Stress? *Journal of the Japan Medical Association*. 2000; 124(11): p. 1549-1553.
6. Halliwell B, Gutteridge J. *Free Radical in Biology and Medicine*. Oxford; 2007.
7. Johns CS. Platelet Function Test. *Clinical Hemostasis Review*. 2004; 18(4): p. 1-9.
8. Wahyuni , Asj'ari SR, Sadewa AH. Kajian Kemampuan Jus Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*) dalam Menghambat Peningkatan Kadar Malondyaldehyde Plasma setelah Latihan Aerobik Tipe High Impact. *Jurnal Kesehatan*. 2008; I(2): p. 123-132.
9. Dhivya. Glutathione- a Master Antioxidant and an Immune System Modulator. *Journal of Biological and Information Sciences*. 2012; 1(3): p. 28-30.
10. Abdalla MY. Glutathione as Potential Target for Cancer Therapy; More or Less is Good? (Mini-Review). *Jordan Journal of Biological Science*. 2011; 4(3): p. 119-124.
11. Stenberg P, Barrie R, Pestina T, Steward S, Arnold J. Prolonged Bleeding Time with Defective Platelet Filopodia Formation in te Wistar Furth Rat. *Blood*. 1998; 91(5): p. 1599-1608.
12. Mulyono. Pengaruh Pemberian Glutathione Pasca Aktivitas Fisik Submaksimal terhadap Kadar MDA (Malondialdehyde) Plasma Tikus (*Rattus norvegicus*). Surabaya; 2013.
13. George JN. Platelet Immunoglobulin G: its Significance for the Evaluation of Thrombocytopenia and for Understanding the Origin of Alpha-granule Proteiins. *Blood*. 1990; 76: p. 859.