

AKTIVITAS FISIK MAKSIMAL AKUT (*ACUTE OVERTRAINING*) MENYEBABKAN KERUSAKAN SEL β PANKREAS MENCIT

¹Ferbian M. Siswanto

²Boedi P. Yenniastuti

²Tri A. Putra

²I Made Kardena

¹Program Studi Biomedik, Program Pascasarjana
²Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Udayana Denpasar
E-mail: ferbianms@gmail.com

Abstract: Excessive physical activity can cause oxidative stress characterized by increased free radicals in the body. This oxidative stress will cause damages to a variety of cells, inter alia β cells of islets of Langerhans in pancreas. This study aimed to determine that acute overtraining could increase the risk of type I diabetes mellitus through induction of pancreatic β cell damages. This study used a completely randomized design with total samples of 36 mice divided into 3 groups. Group P0 was the group of mice without treatment; group P1 was treated with overworking and a recovery period of 48 hours; and group P2 was treated with overworking and a recovery period of 24 hours. After 14 days of treatment, the pancreas of all groups were taken for histological examination using Gomori chrome hematoxylin phloxine B staining. The descriptive analysis showed that the pancreatic tissues of groups P1 and P2 were morphologically damaged compared to group P0. The results of quantitative observations were analyzed by using One way Anova test followed by LSD, indicated that the number of pancreatic β -cells was significantly decreased among the groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** Acute overtraining may cause damages of pancreatic β cells.

Keywords: excessive physical work, pancreatic β cells

Abstrak: Aktivitas fisik berlebihan dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif yang ditandai dengan meningkatnya radikal bebas di dalam tubuh. Stres oksidatif akan menyebabkan kerusakan berbagai macam sel, salah satunya sel β pulau langerhans pankreas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas fisik maksimal akut (*acute overtraining*) dalam meningkatkan risiko terjadinya diabetes melitus tipe I melalui induksi kerusakan sel β pankreas. Rancangan penelitian ini ialah *completely randomized design* dengan sampel 36 ekor mencit yang dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok P0 ialah kelompok mencit tanpa perlakuan; kelompok P1 diberi perlakuan beban kerja maksimal dengan periode pemulihan selama 48 jam; dan kelompok P2 diberi perlakuan beban kerja maksimal dengan periode pemulihan selama 24 jam. Setelah 14 hari perlakuan, keseluruhan kelompok sampel diambil organ pankreasnya untuk dibuat sediaan histologik dengan pewarnaan khusus Gomori *chrome hematoxylin phloxine B*. Analisis deskriptif kualitatif menunjukkan bahwa morfologi jaringan pankreas pada kelompok P1 dan P2 mengalami kerusakan jika dibandingkan P0. Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan uji One way Anova dilanjutkan dengan Least Significant Difference (LSD), menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah sel β pankreas yang signifikan antar kelompok P0, P1, dan P2 ($P < 0,05$). **Simpulan:** Aktivitas fisik maksimal akut dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas.

Kata kunci: beban kerja maksimal, sel β pankreas

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik dengan ciri klinis hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya.¹ Berdasarkan laporan WHO, terdapat sekitar 8,4 juta orang penduduk Indonesia menderita DM pada tahun 2000, dan pada tahun 2010 jumlah penderita ini sedikitnya lima juta orang.² Diperkirakan pada tahun 2030 prevalensi penderita DM di Indonesia meningkat menjadi 21,3 juta jiwa.³ Jumlah penduduk dunia yang menderita DM cenderung meningkat dari tahun ke tahun, berkaitan dengan peningkatan jumlah populasi, pola hidup yang tidak teratur dan kegiatan fisik yang kurang atau berlebihan.⁴

Perkembangan jaman menuntut manusia untuk berkembang secara ekonomi melalui peningkatan kualitas dan kuantitas kerja. Tidak jarang masyarakat memaksimalkan kemampuan fisik dalam bekerja hingga terjadi kondisi beban kerja berlebih. Aktivitas fisik selalu memerlukan energi yang diperoleh dari proses metabolisme tubuh yang memerlukan oksigen. Semakin berat aktivitas fisik yang dilakukan, semakin banyak pula oksigen yang diperlukan untuk metabolisme. Peningkatan penggunaan oksigen menyebabkan terjadinya peningkatan kebocoran elektron dari mitokondria yang akan menjadi radikal bebas *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang sangat berbahaya bagi tubuh.^{5,6}

Radikal bebas dapat merusak sel-sel tubuh manusia.⁷ Bila pembentukan radikal bebas di dalam tubuh terjadi secara berlebihan maka dapat terjadi kerusakan oksidatif yang berujung pada kerusakan berbagai makromolekul dalam sel yang berperan dalam patogenesis penyakit degeneratif.⁸ Reaksi peroksidasi lipid yang dipicu oleh radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan membran sel yang mengakibatkan munculnya berbagai kondisi patologis.⁹ Akibat akhir dari reaksi peroksidasi lipid tersebut yaitu terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai aldehida seperti malondialdehid (MDA) dan bermacam-

macam hidrokarbon.¹⁰

Banyak penelitian menunjukkan bahwa aktivitas fisik berlebih dapat mengakibatkan stres oksidatif. Salah satu penelitian pada testis tikus yang direnangkan dengan intensitas tinggi dan durasi lama menunjukkan tingginya kadar MDA dan *conjugated dienes* (CD)) yang diikuti dengan menurunnya antioksidan enzimatis seperti glutathion (GSH), superoksid dismutase (SOD), katalase, glutathion-s-transferase (GST) dan peroksidase.¹¹ Pada latihan fisik berat berupa lari 8 km terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan dan oksidan intrasel yang dapat menimbulkan kerusakan sel hati sehingga terjadi peningkatan plasma aspartat transaminase (AST/SGOT) empat kali lipat.¹² Latihan fisik berat akut meningkatkan kadar MDA sangat bermakna pada hati, yang merupakan pertanda peningkatan stres oksidatif.¹³

Telah banyak dilakukan penelitian mengenai dampak beban kerja fisik berlebih terhadap stres oksidatif, dan banyak pula ditemukan penelitian dampak stres oksidatif terhadap kerusakan sel, namun belum ada penelitian yang mengaitkan antara dampak aktivitas fisik berlebih terhadap kerusakan sel-sel β pankreas sebagai salah satu patogenesis diabetes melitus tipe I (DMT1). Dari latar belakang inilah perlu diadakan penelitian mengenai dampak aktivitas fisik maksimal akut terhadap kerusakan pankreas melalui studi histopatologi sel-sel β pankreas.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan 36 ekor mencit jantan sehat yang sebelumnya telah diadaptasi selama 7 hari. Mencit dibagi atas 3 kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif (P0) tanpa perlakuan aktivitas fisik maksimal; kelompok perlakuan 1 (P1) yang diberi perlakuan aktivitas fisik maksimal dengan periode pemulihan selama 48 jam; dan kelompok perlakuan 2 (P2) yang diberi perlakuan aktivitas fisik maksimal dengan periode pemulihan selama 24 jam.

Perlakuan aktivitas fisik maksimal

pada sampel disesuaikan dengan metode O'Toole (1998),¹⁴ yaitu mencit direnangkan selama lebih kurang 45 menit berdasarkan waktu maksimal kemampuan renang mencit pada ember dengan kedalaman air 25 cm. Perlakuan diberikan selama 14 hari, yaitu pada kelompok P1 sebanyak dua hari sekali (7 kali renang) dan pada kelompok P2 setiap hari (14 kali renang) selama penelitian.

Untuk menjaga agar mencit tetap bergerak selama waktu yang ditentukan maka dilakukan rangsangan pada ekor mencit dengan lidi setiap kali mencit berhenti berenang. Tanda-tanda kelelahan berupa mencit hampir tenggelam oleh karena menurunnya kekuatan otot, menurunnya waktu reaksi dan frekuensi gerakan, serta menurunnya refleksi.

Setelah 14 hari perlakuan, keseluruhan kelompok mencit dibius dengan menggunakan ketamin untuk diambil pankreasnya. Sampel pankreas kemudian difiksasi dengan buffer formalin 10% dan selanjutnya dibuat sediaan histologik dengan mengikuti prosedur rutin dan diwarnai dengan Gomori *chrome hematoxylin phloxine B*. Pembacaan sediaan histologik dilakukan dengan mikroskop sediaan pembesaran 40x lensa objektif. Parameter yang diamati ialah karakter perubahan morfologik pankreas yang meliputi kelainan morfologik sel dan jumlah sel β pankreas.

Analisis data hasil pemeriksaan meliputi analisis deskriptif untuk karakter perubahan morfologik jaringan pankreas. Analisis jumlah sel β jaringan pankreas dilakukan dengan uji homogenitas Lavene, uji normalitas Shapiro-Wilk, uji komparasi *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).

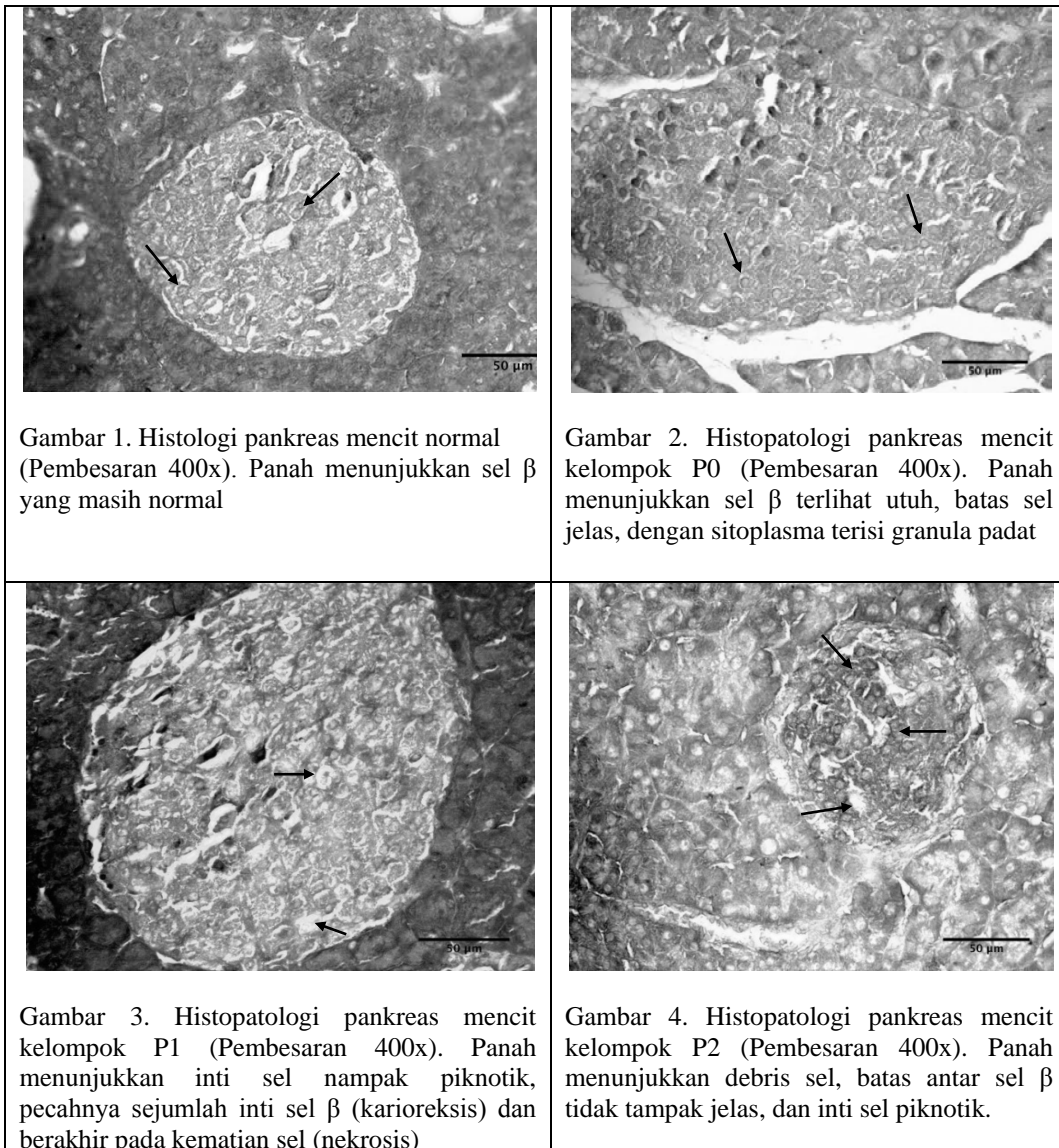
HASIL DAN BAHASAN

Dalam keadaan normal, morfologi jaringan pankreas mencit dengan pembesaran 400 kali dan pewarnaan *Gomori Chrome Hematoxylin Phloxine B-Staining* akan memperlihatkan kumpulan sel β yang terwarnai coklat dengan granula

sitoplasma berwarna keunguan serta struktur sel normal dan masih utuh. Tidak teramati adanya gambaran patologik, serta tidak ditemukan sel β yang mengalami degenerasi atau nekrosis di pulau Langerhans pankreas (Gambar 1). Pada kelompok kontrol (P0), sel β terlihat utuh, batas sel jelas, dengan sitoplasma terisi granula padat (Gambar 2). Sebaliknya pada kelompok perlakuan 1 (P1), telah teramati hilangnya granula-granula sitoplasma. Tahapan awal dari nekrosis dapat teramati pada kelompok ini, yaitu inti sel nampak piknotik, pecahnya sejumlah inti sel β (karioreksis) dan berakhir pada kematian sel (nekrosis) (Gambar 3). Begitu pula pada kelompok sampel dengan perlakuan *overworking* yang lebih intensif, dimana teramati beberapa sel yang telah mengalami nekrosis dan beberapa debris sel. Batas antar sel β dengan sel lainnya disekitar pulau Langerhans tidak tampak jelas. Banyak sel dengan inti piknotik teramati pada kelompok ini (Gambar 4).

Pengamatan terhadap sel- β pankreas dilakukan secara kuantitatif yaitu dengan menghitung jumlah sel β jaringan pankreas mencit pada masing-masing kelompok. Hasil perhitungan jumlah sel β pada pulau langerhans jaringan pankreas mencit pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan perlima lapang pandang. Hasil uji normalitas dan homogenitas terhadap jumlah sel β pankreas mencit di masing-masing kelompok menunjukkan bahwa seluruh data terdistribusi normal dengan varian yang homogen ($P > 0,05$). Hasil analisis *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significance Difference* (LSD) menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok P0 dengan P1, kelompok P0 dengan P2, dan antara kelompok P1 dan P2 ($P < 0,05$).

Aktivitas fisik berlebih dapat meningkatkan konsumsi oksigen 100-200 kali lipat dibanding kondisi istirahat,¹⁵ terutama oleh serat-serat otot yang berkontraksi yang menyebabkan terjadinya peningkatan kebocoran elektron dari mitokondria yang memproduksi ROS.⁵



Tabel 1. Rerata jumlah sel β pankreas mencit dalam pulau Langerhans

Perlakuan	Jumlah sel β pankreas (buah)
	Rerata \pm SD
Kelompok kontrol (P0)	45.45 \pm 8.568
Kelompok P1 (overtraining dengan masa penulihan 48 jam)	28.95 \pm 4.084
Kelompok P2 (overtraining dengan masa pemulihan 24 jam)	24.35 \pm 4.258

Aktivitas fisik berlebih akan mengaktifkan kondisi hipoksia relatif yang terjadi di dalam organ hati, ginjal, dan usus disebabkan redistribusi aliran darah ke otot yang bekerja. Keadaan ini menyebabkan aktivasi xantin oksidase dengan reduksi satu elektron oksigen sehingga akan meningkatkan pembentukan radikal

superoksida.¹⁶ Selain itu aktivitas fisik berlebih dapat merangsang respon biomarker stres oksidatif.¹⁷

Radikal bebas telah banyak diketahui memiliki peran dalam patogenesis DMT1 melalui induksi kerusakan sel- β pankreas. Studi laboratorium menyatakan bahwa peningkatan stres oksidatif sistemik dapat

menurunkan konsentrasi insulin¹⁸ dan pada manusia menimbulkan resistensi insulin pada pria tanpa diabetes.¹⁹ Hal ini disebabkan pada penyandang DMT1 terjadi invasi makrofag dan sel-sel dendritik pada pulau Langerhans pankreas dan menstimulasi imunitas yang dimediasi sel T yang mampu merusak sel β pankreas. Makrofag dan sel dendritik sebagai faktor primer terjadinya DMT1 teraktivasi oleh produksi ROS intrasel.²⁰ Sebagai contoh nyata stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan sel- β pankreas ialah cara kerja aloksan. Aloksan yang banyak digunakan oleh peneliti sebagai agen spesifik penyebab DMT1, bekerja dengan menginduksi pembentukan ROS yang merusak sel β pankreas.²¹ Sel β pankreas menjadi sasaran utama stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas karena rendahnya antioksidan endogen^{22,23} dalam jaringan pulau pankreas.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aktivitas fisik maksimal akut (*acute overtraining*) pada mencit dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas yang berisiko terhadap terjadinya diabetes melitus tipe 1.

Ucapan terimakasih

Ditujukan kepada Dirjen DIKTI yang telah memberikan dana hibah penelitian periode pendanaan 2014, dan kepada Kepala Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana yang telah memberi ijin dan membantu pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Purnamasari D.** Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus. In: Suroyo AW, editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III (Edisi V). Jakarta: InternaPublishing, 2009; p. 1880-1883.
2. **Darmono.** Diabetes Melitus Ditinjau dari Berbagai Aspek Penyakit Dalam. Semarang: CV. Agung Semarang, 2007.
3. **Wild A, Roglic G, Green A, Sicree R, King H.** Global prevalence of diabetes: Estimate for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care.* 2004;27:1047-53.
4. **Smeltzer SC, Bare BG.** Buku Ajar Medikal Bedah Volume 2 (Edisi 8). Alih Bahasa Kuncara HY et al. Jakarta: EGC, 2002.
5. **Clarkson PM, Thomson HS.** Antioxidant: What role do they play in physical activity and health. *Am J Clin Nutr.* 2000;729 (Suppl):637-46.
6. **Bras ML, Clement MC, Pervaiz S, Brenner C.** Reactive oxygen species and mitochondrial signaling pathway of cell death. *Histol Histopathol.* 2005;20:205-20.
7. **Goldman R, Klatz R.** The new anti-aging revolution: Stopping the clock for a younger, sexier you! *Advantage Quest.* Malaysia, 2007.
8. **Winarsi H.** Produk Oksidasi pada Senyawa Lipid. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Yogyakarta: Kanisius, 2007: p. 50-9.
9. **Woolf N, Wotherspoon A, Young M.** The Liver, Billiary System and Exocrine Pancreas. *Essentials of Pathology.* Pennsylvania: Elsevier Saunders, 2005.
10. **Kelly SA, Havrilla CM, Brady TC, Abramo KH, Levin ED.** Oxidative stress in toxicology: Established mammalian and emerging Piscine model system. *Environmental Health Perspective.* 1998;106(7):375-84.
11. **Manna P, Sinha M, Sil PC.** Aqueous extract of Terminalia arjuna prevent carbon tetrachloride induced hepatic and renal disorders. *Alternative Medicine.* 2006;6(33):1-10.
12. **Droge W.** Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002;82:47-95.
13. **Frick R.** Function of glutamine. 1999. [cited 2013 Sep 30]. Available from: <http://www.medfaq.com/glugong3.htm>
14. **O'Toole ML.** Over-reaching and over-training in endurance athletes. In: Krieder RB, Fry AC, O'Toole ML, editors. *Overtraining in Sport.* Champaign Illionis: Human Kinetic Publisher, 1998; p. 1-15.
15. **Bahr R, Sejersted OM.** Effect of intensity of exercise on excess postexercise O₂ consumption. *Metabolism.* 1991; 40(8):836-41.

16. **Ji LL.** Antioxidant and oxidative stress in exercise. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine.* 2000;222:238-92.
17. **Murray RK, Granner DK, Rodwell VW.** *Harper's Illustrated Biochemistry* (25th ed.). New York: McGraw-Hill, 2000.
18. **Hoeldtke RD, Bryner KD, McNeill DR, Warehime SS, Dyke KV, Hobbs G.** Oxidative stress and insulin requirement in patients with recent-onset type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1624-28.
19. **Meigs JB, Larson MG, Fox CS, Keaney JF, Vasan RS, Benjamin EJ.** Association of oxidative stress, insulin resistance, and diabetes risk phenotypes. *Diabetes care.* 2007;30:2529-35.
20. **Delmastro MM, Piganelli JD.** Oxidative stress and redox modulation potential in type 1 diabetes. *Clinical and Developmental Immunology.* 2011;2011. Article ID 593863. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/593863>.
21. **Mesa MD, Aguilera CM, Gil A.** Experimental models of oxidative stress related to cardiovascular disease and diabetes. In: *Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice.* New York: Springer Science+Business Media, 2011.
22. **Azavedo-Martins AK, Lortz S, Lenzen S, Curi R, Eizirik DL, Tiedge M.** Improvement of the mitochondrial antioxidant defence status prevents cytokine-induced nuclear factor-KappaB activation in insulin-producing cells. *Diabetes.* 2003;52:93-101.
23. **Kajikawa M, Fujimoto S, Tsuura Y, Mukai E, Takeda T, Hamamoto Y, et al.** Ouabain suppresses glucose-induced mitochondrial ATP production and insulin release by generating ROS in pancreatic islets. *Diabetes.* 2002;51:2522-9.