

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C TERHADAP KADAR  
*MALONDIALDEHYDE* (MDA), KADAR *HEMOGLOBIN* (Hb), DAN  
KADAR *INTERLEUKIN-6* (IL-6) PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIBERI *OVERTRAINING EXERCISE*  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar)**

**Magister Ilmu Biomedik**



**Murni Wahyu Setyowati**

**MBK.20.15.01.0180**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG 2023**

**LEMBAR PENGESAHAN**  
**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C TERHADAP KADAR**  
**MALONDIALDEHYDE (MDA), KADAR HEMOGLOBIN (Hb) DAN KADAR**  
**INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIBERI**  
**OVERTRAINING EXERCISE**

(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar)

disusun oleh :

Murni Wahyu Setyowati


MBK.20.15.01.0180

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

  
Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.  
NIK. 210101059

  
Dr. Hj. Dra. Atina Husaana, M.Si, Apt  
NIK. 210198047

Menyetujui,

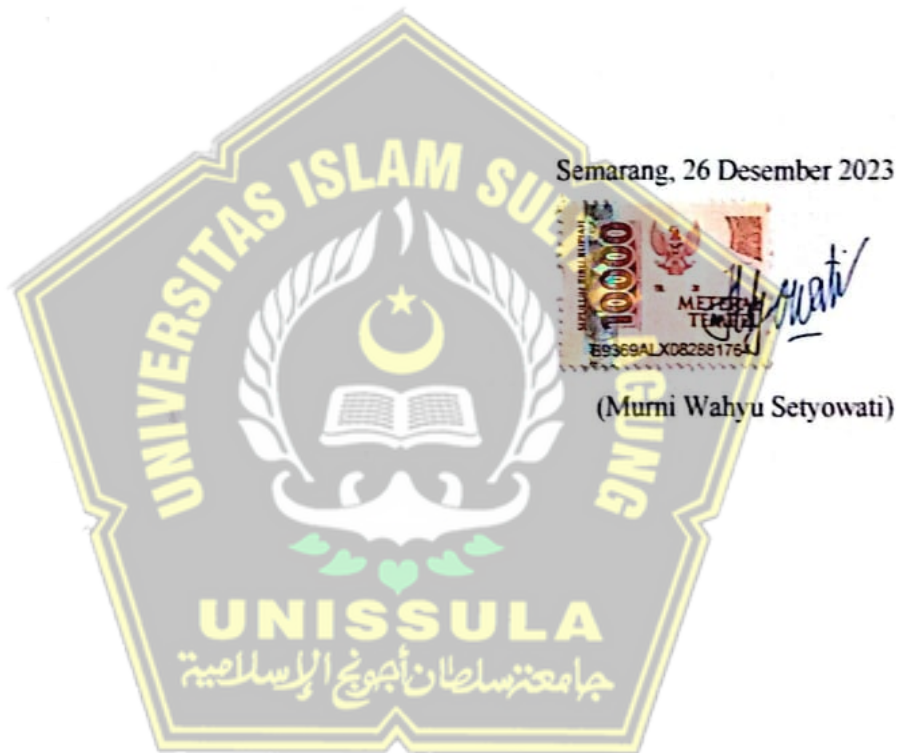
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

  
Prof. Dr. dr. Agung Putra, Msi.Med  
NIK. 210199050

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar magister di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan ataupun yang belum tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 26 Desember 2023



(Murni Wahyu Setyowati)

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan atas berkat-Nya, sehingga tesis dengan judul **“Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar *Malondialdehyde* (MDA), Kadar *Hemoglobin* (Hb), Dan Kadar *Interleukin-6* (IL-6) Pada Tikus Wistar Jantan Yang Diberi *Overtraining Exercise* (Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar)”** ini dapat diselesaikan. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister bidang Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. Gunarto, S.H., M. Hum. selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Prof. Dr. dr. Agung Putra, Msi.Med selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan dorongan, semangat, bimbingan dan masukan pada penyusun selama mengikuti program magister khususnya pada saat penyusunan Tesis ini.
4. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku dosen pembimbing I yang selalu sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya tesis ini.
5. Dr. Hj. Dra. Atina Husaana, M.Si, Apt selaku dosen pembimbing II yang selalu sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya tesis ini.
6. Prof. Dr. dr. Agung Putra, Msi.Med selaku penguji I yang telah memberikan masukan dan arahan dalam perbaikan Tesis.
7. Prof. Dr. Hj. Ir. Titiek Sumarawati, M. Kes selaku penguji II yang telah memberikan masukan dan arahan dalam perbaikan Tesis.

8. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji III yang telah memberikan masukan dan arahan dalam perbaikan Tesis.
9. Seluruh staf dan pengajar di Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan banyak ilmu yang bermanfaat.
10. Orang tua tercinta Ibu Tien Martini, Bapak Wahyu, Ibu Elidawati yang selalu memberikan dukungan dan semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.
11. Suami dan anak tercinta, Ika Aditya Wirawan, Qyara Trisha Wirawan dan Shaqueena Milady Wirawan yang selalu memberikan dukungan dan semangat, sehingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.
12. Seluruh teman – teman pengajar FK Unissula yang selalu menyemangati dan memberikan masukan
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terima kasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak.

Semarang, Desember 2023

Murni Wahyu Setyowati

**PENGARUH PEMBERIAN VITAMIN C TERHADAP KADAR  
MALONDIALDEHYDE (MDA), KADAR HEMOGLOBIN (Hb), DAN  
KADAR INTERLEUKIN-6 (IL-6) PADA TIKUS WISTAR JANTAN YANG  
DIBERI *OVERTRAINING EXERCISE*  
(Studi Eksperimental Pada Tikus Jantan Galur Wistar)**

Murni Wahyu Setyowati<sup>1</sup>, Hadi Sarosa<sup>2</sup>, Atina Husaana<sup>3</sup>  
Universitas Islam Sultan Agung Semarang

**Abstrak**

**Latar Belakang:** latihan fisik berlebihan (*overtraining exercise*) membutuhkan konsumsi oksigen lebih banyak jika dibandingkan dengan *exercise* yang terukur. Kondisi *overtraining exercise* mengakibatkan terjadinya stress oksidatif, menurunnya kadar Hb, dan terjadinya reaksi inflamasi. Oleh sebab itu dibutuhkan pasokan antioksidan dari luar tubuh seperti vitamin C. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C terhadap penurunan kadar *Malondialdehyde* (MDA), peningkatan kadar Hemogloblin (Hb), dan penurunan kadar Interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur wistar yang diberi aktivitas fisik berlebihan.

**Metode:** Penelitian menggunakan eksperimen dengan pendekatan *post test randomized control group design*. Subyek penelitian berjumlah 30 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok K1, K2, K3, K4, dan K5. K1 ialah kelompok kontrol. K2 ialah kelompok yang hanya diberi "*overtraining exercise*", K3, K4, dan K5 merupakan kelompok dengan aktivitas fisik berlebihan diberikan Vitamin C dengan dosis 9mg/ekor, 18mg/ekor, 36mg/ekor. Hari ke 29 pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar MDA, Hb, dan IL-6. Uji beda dilakukan dengan "*One Way Anova*" dan dilanjutkan dengan uji "*Post Hoc*".

**Hasil:** Terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar MDA, Hb, dan IL-6 antar kelompok ( $p < 0,005$ ). Pemberian Vitamin C dengan dosis 9, 18, dan 36 mg/ml/hari menurunkan kadar MDA, menaikkan kadar Hb, dan menurunkan kadar IL-6.

**Kesimpulan:** Pemberian Vitamin C berpengaruh pada kadar MDA, Hb, dan IL-6 pada tikus jantan galur wistar yang diberi aktivitas fisik berlebihan.

**Kata Kunci:** Vitamin C, *Malondialdehyde* (MDA), *Hemogloblin* (Hb), *Interleukin-6* (IL-6)

# EFFECT OF VITAMIN C ON MALONDIALDEHYDE, HEMOGLOBLIN AND INTERLEUKIN-6 LEVELS IN RAT MODEL OF *OVERTRAINING EXERCISE*

Murni Wahyu Setyowati<sup>1</sup>, Hadi Sarosa<sup>2</sup>, Atina Husaana<sup>3</sup>  
Faculty of Medicine, Sultan Agung Islamic University of Semarang

## **Abstract**

**Background:** *Overtraining exercise requires more oxygen consumption compared to measurable exercise. It will result in oxidative stress, decreased Hb levels, and an inflammatory reaction leading to the need for antioxidants from outside the body such as vitamin C. To determine the effect of the administration of vitamin C on malondialdehyde (MDA), hemoglobin (Hb), and interleukin-6 (IL-6) levels in rat model of overtraining.*

**Method:** *Experimental research using a randomized control group post test design. Performed on 30 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups. K1 served as the control group. K2 undertook overtraining. K3, K4, and K5 were treated with overtraining and vitamin C at the dose of 9, 18, 36 mg/ml/day, respectively. On day 29, blood sample was taken for the evaluation of MDA, Hb and IL-6 levels. One Way Anova followed by Post Hoc test was applied for the statistical analysis.*

**Results:** *There were significant differences in MDA, Hb and IL-6 levels among the groups ( $p < 0.005$ ). The administration of vitamin C at the dose of 9 mg/ml/day, 18 mg/ml/day and 36 mg/ml/day reduced Malondialdehyde (MDA) levels, increased Hemoglobin (Hb) levels, and reduced Interleukin-6 (IL-6) levels.*

**Conclusion:** *The administration of vitamin C affects on MDA, Hb and IL-6 level.*

**Keywords:** *Vitamin C, Malondialdehyde (MDA), Hemoglobin (Hb), Interleukin-6 (IL-6)*

## DAFTAR ISI

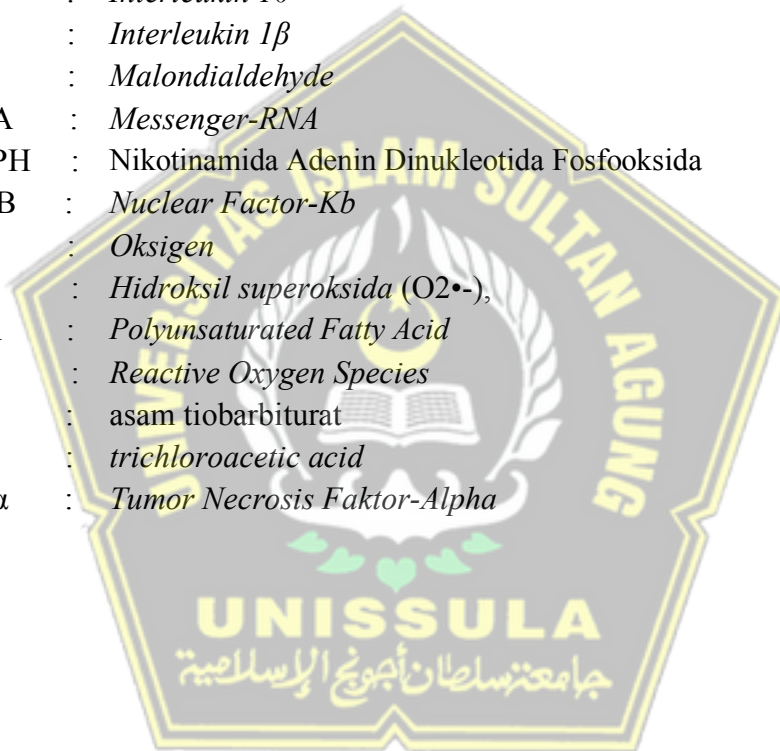
<b>HALAM JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Originalitas Penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	9
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	9
1.5.2. Manfaat Praktis.....	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>10</b>
2.1. Latihan Fisik.....	10
2.2. Vitamin C.....	14
2.3. <i>Malodiandehyde</i> (MDA).....	14
2.4. Pengaruh <i>overtraining exercise</i> terhadap peningkatan <i>ROS</i> dan kadar <i>MDA</i> .....	16
2.5. <i>Hemoglobin (Hb)</i> .....	18



2.6. Pengaruh <i>overtraining exercise</i> terhadap kadar <i>Hb</i> .....	19
2.7. <i>Interleukin 6 (IL-6)</i> .....	18
2.8. Pengaruh <i>overtraining exercise</i> terhadap kadar <i>IL-6</i> .....	21
2.9. Pengaruh vitamin C terhadap kadar MDA, kadar <i>Hb</i> , dan kadar <i>IL-6 pada overtraining exercise</i> .....	22
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>	
3.1. Kerangka Teori.....	24
3.2. Kerangka Konsep.....	29
3.3. Hipotesis Penelitian.....	29
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1. Jenis Rancangan Penelitian.....	30
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian.....	31
4.2.1. Populasi/Subjek Penelitian.....	31
4.2.2. Teknik Sampling.....	28
4.2.3. Jumlah Sampel.....	32
4.3. Variabel dan Definisi Operasional.....	32
4.4. Bahan Penelitian.....	34
4.5. Peralatan Penelitian.....	31
4.6. Cara Penelitian.....	35
4.7. Alur Penelitian.....	37
4.8. Teknik Pengambilan Data.....	38
4.9. Tempat dan Waktu Penelitian.....	38
4.10. Analisis Data.....	38
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
5.1. Hasil Penelitian.....	39
5.2. Pembahasan.....	46
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
6.1. Kesimpulan.....	50
6.2. Saran.....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>59</b>

## DAFTAR SINGKATAN

ATP	: <i>Adenosin Tri Phospat</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
eNOS	: <i>Endhotelial Nitric Oxide Synthase</i>
H <sup>+</sup>	: Hidron
Hb	: Hemoglobin
HIIT	: <i>High Intensity Interval Training</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
IL-10	: <i>Interleukin 10</i>
IL-β	: <i>Interleukin 1β</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
mRNA	: <i>Messenger-RNA</i>
NADPH	: Nikotinamida Adenin Dinukleotida Fosfooksida
NF-KB	: <i>Nuclear Factor-Kb</i>
O <sub>2</sub>	: <i>Oksigen</i>
OH	: <i>Hidroksil superoksida (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TBA	: asam tiobarbiturat
TCA	: <i>trichloroacetic acid</i>
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Faktor-Alpha</i>



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Mekanisme pembentukan Malodiandehyde.....	15
Gambar 2.2. Struktur Hemoglobin.....	19
Gambar 3.1. Skema kerangka teori.....	28
Gambar 3.2. Skema kerangka konsep.....	29
Gambar 4.1. Skema rancangan penelitian.....	30
Gambar 4.2. Skema alur penelitian.....	37
Gambar 5.1. Grafik rerata kadar MDA.....	41
Gambar 5.2. Grafik rerata kadar Hb.....	43
Gambar 5.3. Grafik rerata kadar IL-6.....	45



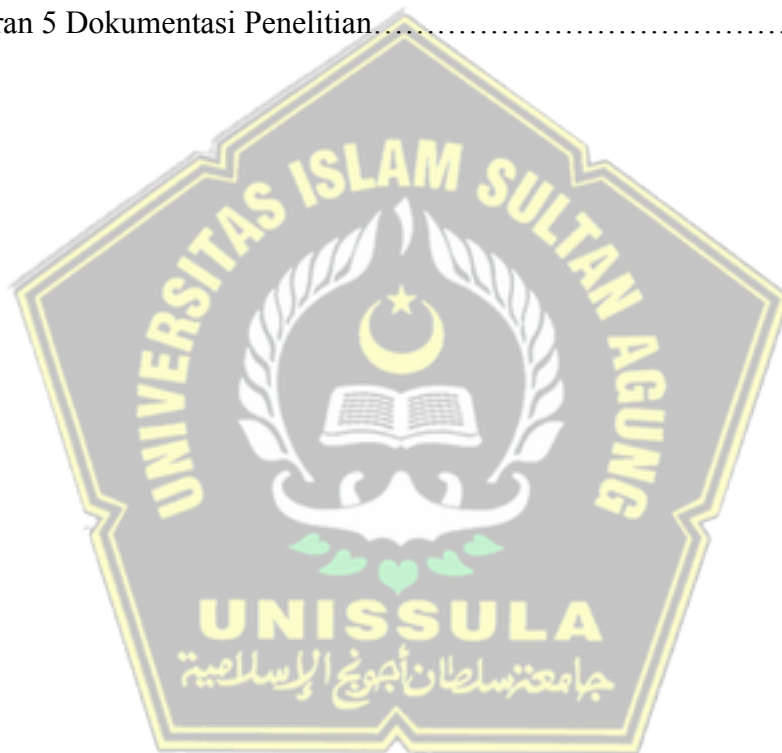
## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 2.1. Jalur potensial pembentukan oksidan.....	11
Tabel 5.1. Hasil analisa rerata kadar MDA, Hb, IL-6.....	40
Tabel 5.2. Perbedaan rerata kadar MDA antar 2 kelompok.....	42
Tabel 5.3. Perbedaan rerata kadar Hb antar 2 kelompok.....	44
Tabel 5.4. Perbedaan rerata kadar IL-6 antar 2 kelompok.....	45



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil pengolahan SPSS.....	59
Lampiran 2 <i>Ethical Clearance</i> .....	63
Lampiran 3 Surat Keterangan Telah Melakukan Penelitian.....	64
Lampiran 4 Surat Keterangan Bebas Peminjaman.....	65
Lampiran 5 Dokumentasi Penelitian.....	66



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Melakukan exercise adalah salah satu keperluan esensial untuk setiap orang, jika dilakukan secara rutin dan dijadwalkan maka akan meningkatkan kinerja berbagai sistem tubuh.<sup>1</sup> Akan tetapi, penting untuk memperhatikan prinsip dasar latihan karena aktivitas fisik juga dapat menjadi sumber stres fisik. Jika prinsip dasar tersebut diabaikan, hal ini dapat menyebabkan masalah kesehatan.<sup>1</sup> Salah satu contohnya adalah "Overtraining Exercise" atau latihan yang berlebihan.<sup>2</sup> Jenis latihan ini memerlukan lebih banyak konsumsi oksigen dibandingkan dengan latihan yang teratur. Saat terjadi proses fosforilasi oksidatif, sekitar 4-5% dari oksigen yang terlibat akan mengalami transformasi menjadi Reactive Oxygen Species (ROS). Namun, pada latihan fisik yang berlebihan ("Overtraining Exercise"), produksi ROS dapat meningkat hingga 100 kali lipat lebih tinggi.<sup>3</sup> Peningkatan produksi radikal bebas bisa menyebabkan rusaknya lipid, protein, dan DNA, serta mengganggu fungsi sel yang pada akhirnya dapat mengarah pada kematian sel baik melalui nekrosis maupun apoptosis. Hal ini juga memiliki kontribusi dalam proses patogenesis berbagai penyakit.<sup>4</sup> Stres oksidatif merujuk pada ketimpangan antara pembentukan radikal bebas (pro-oksidan) dan sistem pertahanan tubuh (antioksidan).<sup>5</sup> Stres oksidatif terjadi karena sistem antioksidan tubuh berkurang akibat ketidakmampuan pertahanan tubuh dalam meredam produksi

radikal bebas, sehingga dibutuhkan suplai antioksidan external seperti vitamin C. Vitamin C adalah antioksidan yang memiliki kekuatan yang signifikan dalam mencegah proses oksidasi di dalam tubuh manusia. Vitamin C mudah larut air dan yang paling mudah diekskresikan, namun penting untuk memahami efek antioksidan yang dimilikinya terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA), kadar Hemoglobin (Hb) kadar *interleukin-6* (IL-6), jumlah leukosit, dan trombosit saat kondisi *overtraining exercise*.<sup>7</sup>

Latihan berlebihan akan menyebabkan kelelahan pada atlet, yang membuat mereka rentan terhadap infeksi.<sup>8</sup> Dalam studi kasus pada pelari marathon, ditemukan bahwa 33% dari total 140 atlet mengalami infeksi saluran nafas. Program latihan bagi seorang atlet biasanya terdiri dari 5-6 sesi latihan setiap minggunya, seringkali, pelari marathon menambahkan latihan pada pagi dan sore hari di pusat pelatihan, yang dapat menyebabkan peningkatan hingga enam kali lipat dalam insiden infeksi saluran nafas setelah kompetisi. Penelitian lain juga mengindikasikan bahwa latihan berintensitas tinggi dapat meningkatkan pergerakan neutrofil dan monosit dalam aliran darah. <sup>8</sup> Latihan berlebihan menyebabkan pemicuan proses peradangan pada lapisan endotel pembuluh darah, yang dicirikan oleh pelepasan mediator peradangan seperti sitokin, termasuk interleukin-6 (IL-6).<sup>9</sup>

Asam askorbat merupakan istilah lain dari vitamin C, adalah salah satu yang tersering digunakan sebagai agen antioksidan. Berperan sebagai koenzim dan kofaktor, vitamin C bermanfaat dalam melawan radikal bebas. Secara kimiawi, vitamin C memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan

sebagian besar radikal bebas dan oksidan yang terdapat dalam tubuh.<sup>10</sup> Studi sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian suplemen vitamin C pada dosis 1,8 mg dapat mengurangi tingkat stres oksidatif setelah perlakuan selama 14 hari pada tikus jantan galur Wistar setelah melakukan aktivitas fisik maksimal.<sup>7</sup> Penelitian lain telah mengonfirmasi bahwa pemberian vitamin C sebanyak 500 mg selama periode 7 hari dapat meningkatkan tingkat Hemoglobin (Hb) dan mengurangi konsentrasi Malondialdehyde (MDA) pada atlet yang terlibat dalam aktivitas fisik yang intens.<sup>11</sup> Memberikan dosis 500 mg vitamin C kepada pasien Tuberkulosis (TB) selama 10 hari menyebabkan peningkatan kadar limfosit.<sup>12</sup> Memberikan suplemen vitamin C selama 4 minggu dapat mengakibatkan peningkatan jumlah limfosit pada pasien yang mengidap HIV/AIDS.<sup>13</sup> Studi yang dilakukan oleh Dwikuntari pada tahun 2016 menyatakan bahwa pemberian dosis 1000 mg vitamin C per hari dapat mengurangi kadar IL-6 dalam serum pada pasien pneumonia.<sup>14</sup>

Latihan yang berlebihan meningkatkan tingkat stres oksidatif, sehingga diperlukan jumlah antioksidan eksternal yang besar untuk meredam dampak stres oksidatif tersebut. Malondialdehyde (MDA) adalah indikator yang digunakan untuk mengukur tingkat stress oksidatif, yang terjadi sebagai hasil akhir dari peroksidasi lipid.<sup>16</sup> Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan, memicu respons inflamasi di sel endotel pembuluh darah. Respons ini dicirikan dengan pelepasan mediator inflamasi seperti sitokin, khususnya interleukin 6 (IL-6).<sup>17</sup> Respons inflamasi yang diatur oleh NF-KB menyebabkan peningkatan jumlah leukosit dan trombosit untuk



menjaga integritas sistem kekebalan tubuh.<sup>18</sup> Untuk mengatasi kondisi tersebut, diperlukan antioksidan eksternal seperti vitamin C untuk menekan produksi Reactive Oxygen Species (ROS). Vitamin C berperan sebagai kofaktor pada proses reaksi enzimatik di dalam tubuh dan memiliki potensi untuk menambah komponen sistem imun, dengan harapan dapat mempengaruhi kadar malondialdehyde (MDA), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami latihan fisik berlebihan.

## **1.2. Perumusan Masalah**

Bagaimana pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA), kadar Hemoglobin (Hb), dan kadar *interleukin-6* (IL-6) pada tikus wistar jantan yang diberi *overtraining exercise*?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian Vitamin C terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA), kadar Hemoglobin (Hb), dan kadar *interleukin-6* (IL-6) pada tikus wistar jantan yang diberi *overtraining exercise*.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

- 1.3.2.1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C dosis 9, 18, 36 mg/hari terhadap penurunan kadar *malondialdehyde* (MDA) pada tikus jantan galur wistar yang diberi *overtraining exercise*.
- 1.3.2.2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C dosis 9, 18, 36 mg/hari terhadap peningkatan kadar Hemoglobin (Hb) pada tikus jantan galur wistar yang diberi *overtraining exercise*.
- 1.3.2.3. Untuk mengetahui pengaruh pemberian vitamin C dosis 9, 18, 36 mg/hari terhadap penurunan kadar *interleukin-6* (IL-6) pada tikus jantan galur wistar yang diberi *overtraining exercise*.

### 1.4. Originalitas Penelitian

Kerangka penelitian yang orisinal menyoroiti perbedaan dan kesamaan dalam domain penelitian yang diteliti oleh peneliti dengan studi-studi sebelumnya. Hal ini bertujuan untuk menghindari duplikasi penelitian terhadap topik yang sama, yang dapat dilihat dalam tabel 1.1.

**Tabel 1.1 Originalitas Penelitian**

Peneliti	Judul Penelitian	Metode penelitian	Hasil Penelitian
Yuniarti,	Pengaruh	Penelitian	Hasil menunjukkan
Elsa	Latihan	eksperimental,	rata-rata kadar IL-6
2014 <sup>19</sup>	Submaksimal	Rancangan <i>-pretest</i>	sebelum latihan
	Terhadap		submaksimal adalah

	Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat	<i>posttest control design group</i>	4,2±2,8 pg/ml, meningkat menjadi 7,2±3,6 pg/ml setelah latihan. Peningkatan kadar IL-6 secara signifikan tinggi secara statistik nilai $p < 0,001$ .
Sinaga, Rika Nailuvar 2015 <sup>11</sup>	Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar <i>Malondialdehid</i> dan <i>Haemoglobin</i> Atlet pada Aktivitas Fisik Maksimal	Penelitian eksperimental, Rancangan <i>-pretest posttest control design group</i>	Latihan fisik maksimal dapat mengurangi tingkat hemoglobin (Hb) dan meningkatkan tingkat <i>malondialdehyde</i> (MDA), sedangkan pemberian vitamin C dapat meningkatkan tingkat Hb dan mengurangi tingkat MDA pada atlet yang melakukan latihan fisik maksimal

Silvi	Efektivitas	Penelitian	quasi	Minuman	kombinasi
Lailatul	minuman	experimental		maltodekstrin	dan
Mahfida,	kombinasi	dengan	rancangan	vitamin C	berefek
Istiti	maltodekstrin	within	subject	pada	penurunan
Kandarina,	dan vitamin C	design		limfosit dan monosit	
Arta	terhadap			setelah latihan selama	
Farmawati	hitung jenis			30 menit	
2015 <sup>20</sup>	leukosit pada				
	atlet sepak bola				
Resmanto	Pengaruh	Penelitian		Penelitian	ini
2017 <sup>21</sup>	Pemberian	eksperimental,		menyimpulkan bahwa	
	Vitamin C	Post test	only	terjadi peningkatan	
	sebagai	<i>control</i>	<i>design</i>	jumlah leukosit pada	
	Antioksidan	<i>group</i>		latihan fisik maksimal,	
	terhadap			dan vitamin C dosis 65	
	Jumlah			mg/kgBB/hari dapat	
	Leukosit dan			meningkatkan jumlah	
	Trombosit			trombosit pada latihan	
	pada Latihan			fisik maksimal.	
	Fisik				
	Maksimal.				
	(Penelitian				
	Eksperimental				

	Laboratorium		
	pada Mencit		
	( <i>Mus musculus</i> )		
Agra, Atessa 2017 <sup>22</sup>	Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Total Leukosit Mencit (Mus Musculus) Yang Dipapar Asap Rokok	Penelitian eksperimental, Post test only <i>control design</i> group	Vitamin C dapat menurunkan jumlah total leukosit mencit yang meningkat akibat paparan asap rokok
Rusiani, Elma <i>et al</i> 2019 <sup>7</sup>	Suplementasi Vitamin C Dan E Untuk Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Melakukan Aktivitas Fisik Maksimal	Penelitian eksperimental, Rancangan <i>posttest control design</i> group	suplementasi vitamin C dan E menurunkan tingkat stres oksidatif setelah melakukan aktivitas fisik maksimal.

Oleh karena itu, perbedaan antara penelitian-penelitian dalam tabel 1.1 adalah bahwa belum ada yang menginvestigasi dampak pemberian antioksidan vitamin C terhadap tingkat malondialdehyde (MDA), hemoglobin (Hb), dan interleukin-6 (IL-6) pada tikus wistar jantan yang mengalami overtraining exercise.

## **1.5. Manfaat Penelitian**

### **1.5.1. Manfaat Teoritis**

Dapat menjawab dampak pemberian vitamin C terhadap penurunan tingkat malondialdehyde (MDA), peningkatan tingkat hemoglobin (Hb), dan penurunan tingkat interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur Wistar yang menjalani overtraining exercise merupakan langkah dalam pengembangan ilmu.

### **1.5.2. Manfaat Praktis**

Mengembangkan penggunaan vitamin C sebagai antioksidan untuk meningkatkan fungsi kekebalan atau sistem imunitas tubuh.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Latihan Fisik**

##### **2.1.1. Definisi**

Latihan fisik, yang berasal dari kata "exercise" dalam Bahasa Inggris, merujuk pada aktivitas gerakan tubuh yang melibatkan otot rangka dan memerlukan penggunaan energi.<sup>1</sup> Kombinasi umum dari latihan fisik meliputi dua jenis aktivitas, yakni aktivitas anaerobik dan aerobik.<sup>23</sup>

Latihan aerobik merupakan salah satu cara latihan guna mendapatkan oksigen sebanyak – banyaknya.<sup>24</sup> Dalam aktivitas aerobik, pembentukan ATP sebagai sumber energi sangat tergantung pada ketersediaan oksigen. Beberapa contoh aktivitas aerobik meliputi berenang, berlari, dan bersepeda.<sup>25</sup> Sedangkan untuk latihan anaerobik tidak membutuhkan oksigen dalam kegiatannya membentuk sumber energi.<sup>26</sup> Energi yang diperoleh dalam kegiatan anaerobik berasal dari otot yang berkontraksi tanpa memerlukan oksigen yang dihirup. Beberapa contoh kegiatan anaerobik termasuk lari sprint jarak pendek, angkat beban, dan High Intensity Interval Training (HIIT).<sup>27</sup>

### 2.1.2. Latihan Fisik Berlebihan (*Overtraining Exercise*)

Latihan fisik berlebihan (*overtraining exercise*) merupakan sebuah aktivitas berlebihan yang disebabkan karena frekuensi aktivitas yang terlalu sering dan durasi aktivitas yang terlalu panjang.<sup>28</sup> Jika latihan dilakukan tujuh kali dalam seminggu, itu dianggap memiliki frekuensi yang sangat tinggi, sedangkan jika latihan dilakukan hanya sekali dalam seminggu, itu dianggap memiliki frekuensi yang sangat rendah.<sup>29</sup>

Overtraining exercise dapat meningkatkan produksi radikal bebas, yang mengakibatkan terjadinya stres oksidatif. Ketika seseorang terlalu banyak berlatih fisik (*overtraining exercise*), kebutuhan oksigen dalam tubuh bisa meningkat hingga 100–200 kali lipat dari kondisi istirahat, yang dapat mengakibatkan penurunan fungsi sistem kekebalan tubuh.<sup>30</sup> Saat melakukan latihan fisik berlebihan (*overtraining exercise*), terdapat beberapa jalur potensial yang terkait dengan produksi oksidan di dalam tubuh, yang meliputi:

**Tabel 2.1 Jalur Potensial Pembentukan Oksidan<sup>31</sup>**

Jalur	Mekanisme
Fosforilasi Oksidatif	Kebutuhan oksigen yang meningkat bisa menyebabkan kebocoran elektron dalam aliran elektron di mitokondria, yang pada gilirannya menyebabkan pembentukan anion superoksida.



Xanthin Oksidase	Ketika jantung mengalami fase iskemia yang kemudian diikuti oleh reperfusi, ATP mengalami degradasi menjadi AMP. Kondisi ketika oksigen terbatas mengakibatkan AMP berubah menjadi hipoksantin, Setelah itu, anion superoksida bisa berubah menjadi xantin dan asam urat melalui tindakan enzim xantin oksidase. Proses ini juga dapat berpotensi memicu pembentukan radikal superoksida dan radikal hidroksil.
Autooksidasi	Setelah mencapai aktivitas fisik maksimum, peningkatan katekolamin melalui aktivasi $\beta$ -adrenergik akan menghasilkan Reactive Oxygen Species (ROS). Oksihemoglobin akan mengalami transformasi menjadi methemoglobin, yang memicu pembentukan radikal superoksida.
Respon inflamasi	Latihan fisik yang mengakibatkan kerusakan jaringan akan memicu aktivasi sel-sel inflamasi, berperan sebagai sumber tambahan produksi Reactive Oxygen Species (ROS).

## **2.2. Vitamin C**

### **2.2.1. Definisi Vitamin C**

Vitamin C diproduksi dari glukosa dalam hati pada semua mamalia, kecuali manusia. Ini disebabkan oleh ketiadaan enzim gluonolaktone oksidase yang diperlukan untuk mengubah precursor vitamin C, yaitu 2-keto-1-gulonolakton, menjadi vitamin C. Oleh karena itu, di dalam tubuh manusia tidak dapat memproduksi vitamin c secara alamiah.<sup>32</sup>

Vitamin C adalah senyawa karbon yang larut dalam air dan memiliki rumus kimia  $C_6H_8O_6$ . Dalam kondisi yang tidak dicampur dengan bahan lain, vitamin C cenderung mudah teroksidasi dan bisa berubah secara terbalik menjadi asam dehidro-L-askorbat dengan kehilangan dua atom hidrogen. Dengan berat molekul 176, vitamin C dapat dengan mudah teroksidasi oleh panas, logam, dan cahaya. Vitamin C tidak larut dalam lemak dan cenderung terurai oleh oksigen dalam larutan basa. Namun, vitamin C tetap stabil dalam larutan netral jika tidak terpapar oksigen.<sup>33</sup>

### **2.2.2. Fungsi Vitamin C**

Nama lain dari Vitamin C adalah asam askorbat, merupakan salah satu antioksidan alami yang mudah diperoleh dan tersedia dengan harga yang terjangkau jika dikonsumsi dari sumber alami. Sebagai antioksidan, vitamin C berperan dalam mengikat molekul oksigen ( $O_2$ ), sehingga

mencegah terjadinya reaksi oksidasi (oxygen scavenger).<sup>34</sup> Vitamin C sendiri sudah lama dipercaya memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan merupakan vitamin yang paling populer dikalangan masyarakat awam dibandingkan dengan vitamin lainnya. Vitamin C merupakan antioksidan alami yang larut dalam air, sehingga lebih efektif dalam melawan radikal bebas, baik sebagai antioksidan primer maupun sekunder. Dalam tubuh, asam askorbat bertindak sebagai antioksidan primer dengan menyumbangkan atom hidrogen. Selain itu, vitamin C juga penting dalam sintesis kolagen, Sebuah protein yang melimpah terdapat dalam tulang rawan, kulit, dentin, dan endotelium vaskular. Peranannya dalam pemulihan luka dan kemampuan tubuh untuk melawan infeksi dan stres juga harus diperhatikan.<sup>35</sup>

Asupan Vitamin C yang direkomendasikan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi antara 45mg/hari – 90mg/hari. Sedangkan untuk kebutuhan Vitamin C sebagai suplementasi yaitu 500mg/hari – 2000mg/hari.<sup>36</sup>

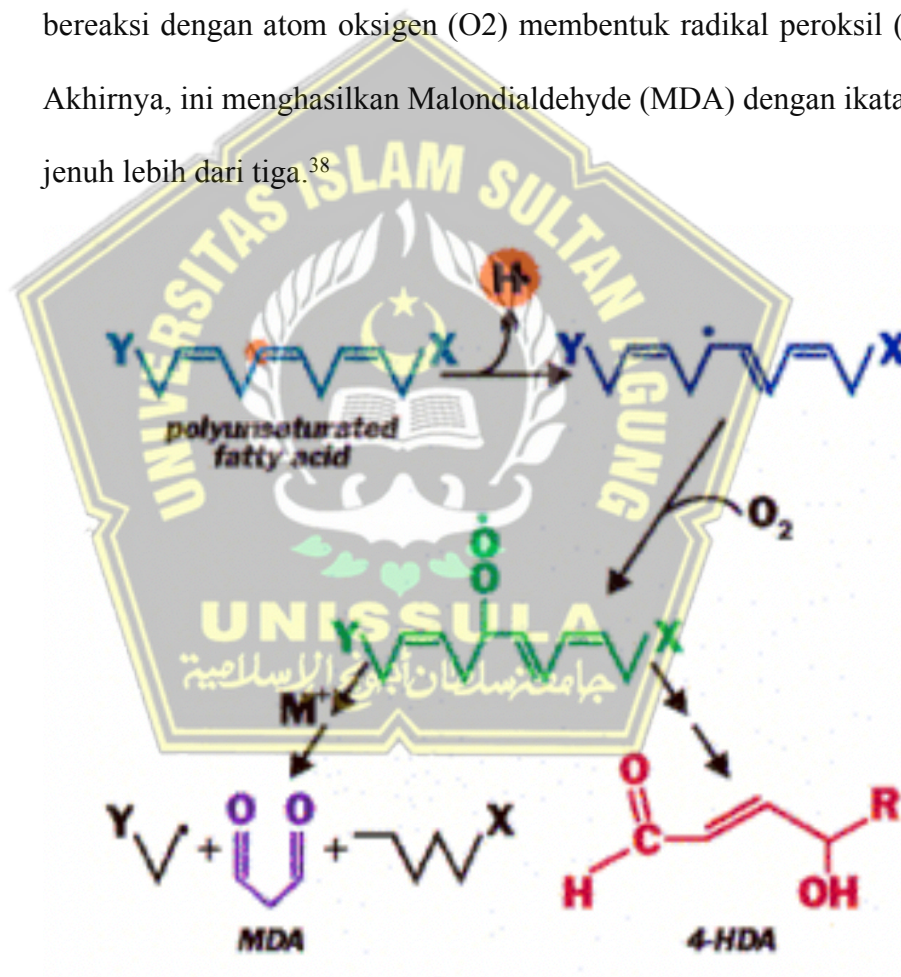
### **2.3. Malodiandehyde (MDA)**

#### **2.3.1. Definisi**

Malondialdehyde (MDA) terbentuk sebagai hasil akhir dari oksidasi lipid yang diinduksi oleh radikal bebas selama exercise maksimal yang intens. Oleh karena itu, untuk mengevaluasi tingkat

radikal bebas dan kapasitas oksidasi tubuh secara tidak langsung, pengukuran kadar MDA sering digunakan sebagai indikator utama.<sup>37</sup>

Malondialdehyde (MDA) terbentuk melalui peroksidasi lipid, dimulai dengan kehilangan atom hidrogen (H) dari molekul lipid tak jenuh dalam rantai panjang oleh gugus radikal hidroksil (OH). Mekanisme tersebut menjadikan lipid sebagai radikal, yang akan bereaksi dengan atom oksigen (O<sub>2</sub>) membentuk radikal peroksil (OO). Akhirnya, ini menghasilkan Malondialdehyde (MDA) dengan ikatan tak jenuh lebih dari tiga.<sup>38</sup>



Gambar 2.1 Mekanisme pembentukan *Malodiandehyde* (MDA)<sup>38</sup>

### **2.3.2. Metode Pengukuran MDA**

Konsentrasi Malondialdehyde (MDA) bisa diukur dengan mengadopsi modifikasi metode uji asam tiobarbiturat (TBA) menggunakan spektrofotometri. Dalam metode ini, 400 µl sampel dideproteinasi dengan menambahkan 200 µl trichloroacetic acid (TCA) 20%. Selanjutnya, sampel diinkubasi pada suhu 96°C selama 10 menit setelah ditambahkan 400 µl larutan TBA 0,67%. Setelah inkubasi, sampel didinginkan hingga suhu ruang, dan serapan diukur pada panjang gelombang 532 nm setelah proses pengvortexan dan sentrifugasi supernatan pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit.<sup>39</sup>

### **2.4. Pengaruh Latihan Fisik Berlebihan (*Overtraining Exercise*) terhadap Peningkatan ROS dan Kadar MDA**

Reactive Oxygen Species (ROS) adalah molekul yang sangat reaktif secara oksidatif yang dibuat di dalam mitokondria, terdiri dari radikal bebas dan molekul nonradikal. Enzim lipoksigenase ikut serta dalam pembentukan radikal bebas.<sup>41</sup>

Selama aktivitas fisik maksimal (*Overtraining Exercise*), terdapat dua mekanisme pembentukan radikal bebas. Mekanisme pertama melibatkan pelepasan elektron superoksida dari mitokondria. Hal tersebut terjadi karena adanya peningkatan konsumsi oksigen 20 – 100 kali saat melakukan aktifitas fisik maksimal (*Overtraining Exercise*) sehingga memicu pembentukan radikal bebas diberbagai jaringan tubuh. Kondisi ini terjadi karena adanya

proses iskemia perfusi ketika seseorang melakukan aktivitas fisik maksimal (Overtraining Exercise), proses tersebut melibatkan periode relatif hipoksia pada organ-organ seperti ginjal, hati, dan usus yang tidak sedang aktif. Hal ini dilakukan untuk mengarahkan aliran darah ke otot dan kulit sebagai respons terhadap aktivitas yang sedang berlangsung.<sup>42</sup>

Reactive oxygen species memiliki kapasitas untuk merusak sel. Membrane lipid akan rusak melalui rangkaian reaksi peroksidasi lipid, ini disebabkan oleh membran sel kaya akan polyunsaturated fatty acid (PUFA). Proses peroksidasi lipid pada membran dapat mengakibatkan kenaikan permeabilitas membran sel, menurunnya transportasi kalsium di retikulum sarkoplasma, terganggunya fungsi mitokondria dan enzim, bersama dengan pembentukan metabolit yang bersifat beracun.<sup>43</sup> Jika peningkatan radikal bebas dalam tubuh melewati ambang batas kemampuan tubuh untuk menetralkannya, dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan. Ketika asam lemak terputus, reactive oxygen species dapat menghasilkan berbagai senyawa yang bersifat toksik bagi sel, termasuk Malondialdehida (MDA). MDA yang dihasilkan akan dibebaskan ke dalam sirkulasi darah, sehingga kadar MDA dalam darah dapat berfungsi sebagai penanda tidak langsung dari peningkatan Reactive Oxygen Species. Proses peroksidasi lipid menghasilkan MDA sebagai produk akhir, yang sering dipakai sebagai biomarker biologis dari peroksidasi lipid dan mencerminkan tingkat stres oksidatif.<sup>44</sup>

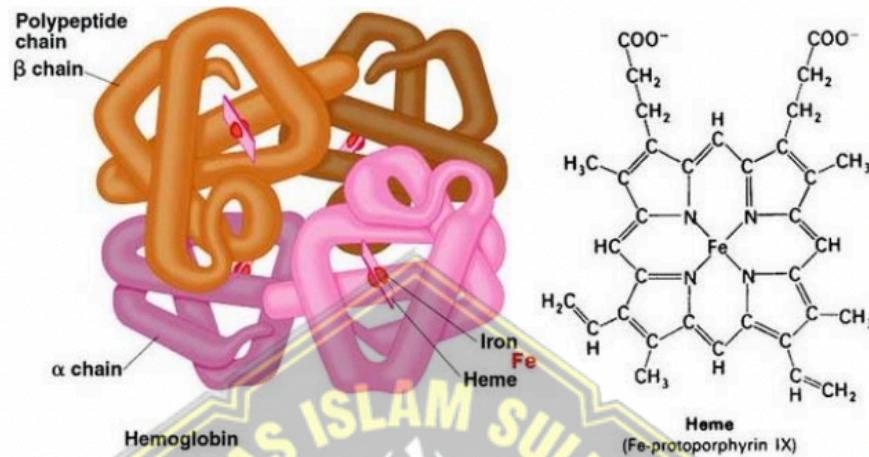
## 2.5. Kadar Hemoglobin (Hb)

### 2.5.1. Definisi

Hemoglobin (Hb) adalah protein tertrimerik yang terdapat dalam eritrosit dan mengikat molekul heme, yang merupakan senyawa porfirin dengan inti besi. Hemoglobin memiliki peran krusial dalam tubuh manusia, seperti sebagai transporter oksigen ke jaringan, pembawa karbon dioksida, dan proton carrier dari jaringan perifer ke organ pernapasan. Apabila jumlah Hemoglobin (Hb) dalam eritrosit menurun, kemampuan eritrosit untuk mengangkut oksigen ke seluruh jaringan tubuh akan menurun juga, yang dapat mengakibatkan kekurangan oksigen atau anemia.<sup>45</sup>

Di tengah molekul Hemoglobin (Hb), terdapat sebuah porfirin cincin heterosiklik yang mengandung satu atom besi yang berikatan dengan oksigen. Porfirin ini, yang mengandung besi, dikenal sebagai heme. Setiap subunit Hemoglobin (Hb) memiliki satu molekul heme, sehingga secara total, Hemoglobin (Hb) dapat membawa empat molekul oksigen. Zat besi yang terikat pada molekul heme berperan dalam transportasi oksigen dan karbon dioksida melalui darah, dan gugus heme ini memberikan warna merah pada darah. Struktur Hemoglobin (Hb) terdiri dari empat kelompok heme dan empat rantai polipeptida yang secara keseluruhan memiliki 574 asam amino. Rantai polipeptida ini terdiri dari dua rantai  $\alpha$  dan dua rantai  $\beta$ , dimana masing-masing

mengikat satu kelompok heme. Tiap rantai  $\alpha$  mengandung 141 asam amino, sementara tiap rantai  $\beta$  mengandung 146 asam amino.<sup>46</sup>



Gambar 2.2 Struktur Hemoglobin<sup>47</sup>

## 2.6. Pengaruh Latihan Fisik Berlebihan (*Overtraining Exercise*) terhadap Kadar Hb

Latihan fisik berlebihan (*Overtraining Exercise*) memicu terbentuknya radikal bebas yang sangat reaktif dan tidak terkontrol sehingga mengakibatkan terjadinya ikatan silang (*cross-link*) pada DNA, protein dan lipid. Kerusakan membrane sel terjadi karena terganggunya fluiditas dan permeabilitas akibat peroksidasi lipid di membrane sel. Protein dapat mengalami kerusakan langsung akibat paparan radikal bebas yang mempengaruhi beragam jenis protein, mengacaukan aktivitas enzim serta fungsi struktural protein.<sup>37</sup>

Melakukan latihan fisik dapat meningkatkan tingkat metabolisme, yang menghasilkan peningkatan produksi ion hidrogen dan asam laktat dapat terjadi, yang mengakibatkan penurunan pH dalam tubuh. Akibatnya, afinitas antara



oksigen dan hemoglobin dapat berkurang. Sebagai akibatnya, emoglobin akan melepaskan oksigen lebih banyak, meningkatkan suplai oksigen ke otot. Peningkatan pengiriman oksigen ini pada akhirnya dapat mengakibatkan penurunan kadar hemoglobin.<sup>48</sup>

Selain itu latihan fisik berlebihan (*Overtraining Exercise*) yang dilakukan juga dapat menyebabkan kerusakan eritrosit karena adanya stress oksidatif yang terjadi. Eritrosit akan sangat mudah mengalami hemolisis saat terjadinya proses peroksidasi lipid pada membrane sel. Terjadinya hemolisis pada eritrosit ini akan membuat haemoglobin terbebas dan akan membuat kadar haemoglobin pada eritrosit menurun dan jika kondisi ini terjadi terus menurun maka akan menyebabkan *sport anemia*.<sup>49</sup>

## **2.7. Interleukin – 6 (IL-6)**

### **2.7.1. Definisi *Interleukin – 6 (IL-6)***

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin yang memiliki efek beragam, termasuk mengatur pertumbuhan sel, koordinasi interaksi antarsel, serta merangsang reaktivitas imun dalam kedua jenis imunitas, baik nonspesifik maupun spesifik. Produksi IL-6 berasal dari berbagai jenis sel, seperti sel T, makrofag, osteoblas, sel pembuluh darah, dan sel otot halus di tunika media.<sup>50</sup>

Interleukin-6 (IL-6) merupakan jenis sitokin yang dikategorikan sebagai pro-inflamasi. Karena itu, IL-6 sering dijadikan indikator untuk mengevaluasi tingkat peradangan pada sel endotel di pembuluh darah.<sup>51</sup>

Konsentrasi normal Interleukin-6 (IL-6) dalam serum biasanya kurang dari 4 pg/ml. Jika kadar IL-6 meningkat, ini menunjukkan adanya proses inflamasi dalam tubuh. Peningkatan IL-6 dapat mengakibatkan kenaikan suhu tubuh, dan jika peningkatannya bersifat kronis, dapat menyebabkan kerusakan jaringan yang disertai dengan peradangan.<sup>52</sup>

### **2.7.2. Cara Pengukuran *Interleukin – 6 (IL-6)***

Konsentrasi Interleukin-6 (IL-6) dapat diukur dengan metode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), sebuah metode biokimia dalam konteks bidang imunologi yang digunakan untuk mengidentifikasi antibodi atau antigen pada sampel yang spesifik. Nilai normal Interleukin-6 (IL-6) yang diukur dengan ELISA adalah kurang dari 11 nanogram per mililiter (ng/mL).<sup>54</sup>

### **2.8. Pengaruh Latihan Fisik Berlebihan (*Overtraining Exercise*) terhadap Kadar *Interleukin – 6***

Latihan fisik yang berlebihan dan menyebabkan kelelahan dapat menciptakan stres oksidatif merujuk pada ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan tubuh, dapat memicu respons inflamasi, yang pada gilirannya dapat menyebabkan kerusakan pada jaringan. Reaksi inflamasi yang diinduksi oleh latihan fisik yang berlebihan memicu terbentuknya sel-sel inflamasi seperti neutrofil, yang kemudian menjadi sumber tambahan produksi reactive oxygen species (ROS).<sup>55</sup>

Proses inflamasi yang terjadi pada sel endotel pembuluh darah, terjadinya reaksi inflamasi ditandai oleh pelepasan mediator-mediator inflamasi seperti interleukin-6 (IL-6), salah satu jenis sitokin proinflamasi yang berperan dalam respons inflamasi. Oleh karena itu, IL-6 dapat berfungsi sebagai indikator untuk mengevaluasi tingkat inflamasi pada sel endotel pembuluh darah yang disebabkan oleh mikrotrauma selama latihan fisik berlebihan (Overtraining Exercise), yang menyebabkan peningkatan kadar IL-6.<sup>24</sup>

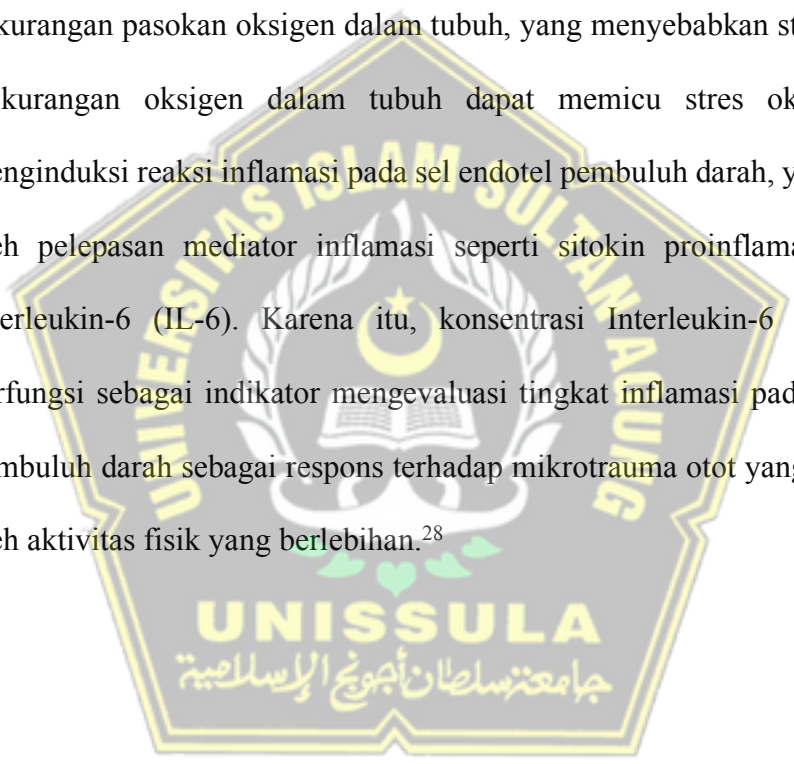
### **2.9. Pengaruh Vitamin C terhadap Kadar MDA, Kadar Hb, dan Kadar Interleukin-6 pada Aktivitas Fisik Berlebihan**

Vitamin C berperan dalam menetralkan stres oksidatif dalam tubuh dengan cara donasi atau transfer elektron. Ini efektif dalam melawan peroksidasi lipid yang disebabkan oleh penumpukan Reactive Oxygen Species (ROS). Vitamin C berperan dengan menyumbangkan elektron untuk mencegah oksidasi senyawa lainnya, dan juga menghentikan pembentukan anion superoksida, radikal hidroksil, dan lipid hidroperoksida. Ketika diberikan sebagai antioksidan eksternal, vitamin C mampu mengurangi jumlah radikal bebas dalam tubuh, menghambat peroksidasi lipid, dan mencegah kerusakan sel. Akibatnya, kadar Malondialdehyde (MDA) yang meningkat karena stres oksidatif dapat ditekan.

Vitamin C berperan sebagai antioksidan yang dapat menghambat peroksidasi lipid pada membran sel, yang mencegah penghancuran sel darah

merah dan pelepasan hemoglobin. Ini menghindari penurunan kadar hemoglobin dalam darah. Kekurangan asupan antioksidan dalam tubuh dapat menyebabkan eritrosit mudah pecah atau mengalami hemolisis, yang berujung pada penurunan kadar Hb.<sup>49</sup>

Latihan fisik berlebihan dapat memicu peningkatan produksi reactive oxygen species (ROS) karena peningkatan tingkat metabolisme aerobik dan kekurangan pasokan oksigen dalam tubuh, yang menyebabkan stres oksidatif. Kekurangan oksigen dalam tubuh dapat memicu stres oksidatif yang menginduksi reaksi inflamasi pada sel endotel pembuluh darah, yang dicirikan oleh pelepasan mediator inflamasi seperti sitokin proinflamasi, terutama Interleukin-6 (IL-6). Karena itu, konsentrasi Interleukin-6 (IL-6) dapat berfungsi sebagai indikator mengevaluasi tingkat inflamasi pada sel endotel pembuluh darah sebagai respons terhadap mikrotrauma otot yang diakibatkan oleh aktivitas fisik yang berlebihan.<sup>28</sup>



## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Teori

Latihan berlebihan adalah kegiatan yang meningkatkan kebutuhan oksigen, menyebabkan kebocoran elektron dari sistem transportasi mitokondria, dan menghasilkan radikal bebas yang termasuk dalam ROS.<sup>1</sup> Peningkatan ROS dapat menghancurkan lipid, protein, DNA dan mengakibatkan nekrosis atau apoptosis yang turut berperan dalam patogenesis berbagai penyakit.<sup>2</sup> Peningkatan apoptosis *hematopoietic stem cell* meningkat yang mengakibatkan peningkatan kadar Hemoglobin (Hb). Kebutuhan otot terhadap oksigen meningkat saat melakukan *overtraining exercise* sekitar 100-200 kali lipat daripada saat beristirahat. Selama melakukan latihan aerobik, terjadi peningkatan konsentrasi oksigen dalam darah yang merupakan hasil sekunder dari peningkatan output jantung karena hipertrofi otot jantung. Hal ini memungkinkan pembentukan lebih banyak hemoglobin (Hb), serta perkembangan sistem pernapasan selama latihan aerobik.<sup>51</sup>

ROS meruakan molekul oksidatif yang sangat reaktif yang sebagian besar dihasilkan di dalam mitokondria. Mereka terdiri dari dua kelompok utama: radikal bebas dan nonradikal. Radikal bebas meliputi radikal hidroksil ( $\cdot\text{OH}$ ), anion superoksida ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), dan radikal peroksil ( $\cdot\text{RO}_2$ ), sementara nonradikal mencakup hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) dan peroksida organik ( $\text{ROOH}$ ).<sup>55</sup> Enzim lipoksigenase juga dapat berkontribusi dalam pembentukan

radikal bebas.<sup>56</sup> Sistem aerobik adalah suatu proses oksidasi ini terjadi di dalam mitokondria untuk menghasilkan energi. Proses ini melibatkan bahan makanan seperti glukosa, asam lemak, dan asam amino, yang diambil dari makanan berinteraksi dengan oksigen melalui beberapa tahap metabolisme untuk menghasilkan energi yang signifikan. Energi ini kemudian dimanfaatkan untuk mengubah adenosine monofosfat dan adenosine difosfat menjadi adenosine trifosfat (ATP). ATP yang dihasilkan melalui proses metabolisme aerobik dapat digunakan untuk mendukung aktivitas fisik dalam jangka waktu yang cukup lama.<sup>48</sup>

Reactive oxygen species (ROS) menyebabkan kerusakan pada peroksidasi lipid dapat menyebabkan kerusakan peristiwa pada lapisan lipid membran melalui serangkaian reaksi oksidasi lipid.<sup>43</sup> Hal ini terjadi akibat membran sel memiliki tingkat peroksidasi lipid yang tinggi, yang dapat mengakibatkan meningkatnya permeabilitas membran sel, menurunnya transportasi kalsium dalam retikulum sarkoplasma, terganggunya fungsi mitokondria serta enzim, terbentuknya metabolit karena keberadaan polyunsaturated fatty acid (PUFA) yang bersifat beracun.<sup>61</sup> Ketika peroksidasi lipid terjadi, konsentrasi MDA dalam tubuh meningkat. MDA berperan sebagai indikator aktivitas radikal bebas yang diproduksi oleh stres oksidatif dalam tubuh.<sup>53</sup>

Latihan berlebihan dapat mengubah banyak jalur pensinyalan sel yang terlibat dalam aktivasi, termasuk NF-kB dan activatory protein-1 (AP-1). Faktor-faktor ini memengaruhi regulasi pembentukan kemokin inflamasi dan

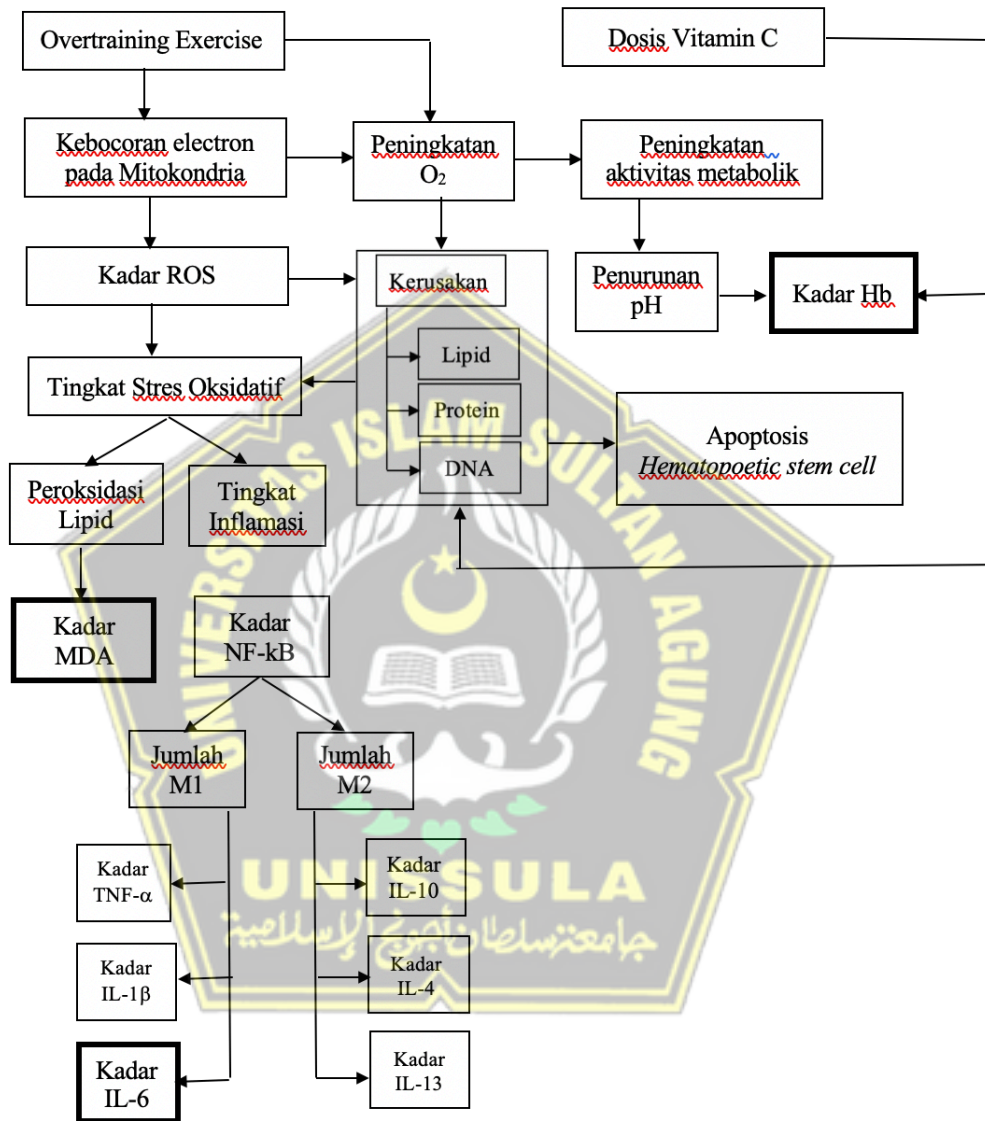
apoptosis. Stress oksidatif dapat merusak dinding sel endotel pembuluh darah dan menyebabkan proses peradangan dengan pelepasan mediator proinflamasi seperti sitokin.<sup>11</sup> Cytokine proinflammatory seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan IL-1 $\beta$  yang dihasilkan oleh makrofag tipe 1 (M1) bertugas untuk merangsang sel inflamasi. Proses ini melibatkan diferensiasi monosit menjadi makrofag yang kemudian bergerak menuju area luka dengan bantuan monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Makrofag, yang memiliki peran krusial dalam proses penyembuhan luka, berfungsi untuk menelan bakteri dan materi mati. Kemudian, mereka dapat mengalami diferensiasi menjadi makrofag efferositosis (M2), yang menghasilkan sitokin antiinflamasi seperti IL-4, IL-10, dan IL-13.<sup>66</sup>

Stres oksidatif dapat diredakan dengan menggunakan antioksidan, di antaranya adalah vitamin C yang merupakan antioksidan eksternal dan merupakan substansi di dalam tubuh yang akan melawan munculnya radikal bebas. Antioksidan dalam vitamin C juga mampu mencegah peroksidasi lipid pada membran sel, yang dapat mencegah hemolisis eritrosit dan pelepasan hemoglobin, sehingga dapat menjaga kadar hemoglobin dalam darah tetap stabil. Vitamin C bertindak sebagai donor elektron, mampu menyumbangkan elektron pada proses biokimia sel. Vitamin C dapat secara langsung menyerap radikal bebas oksigen, entah dengan atau tanpa bantuan enzim katalisator. Tingkat kecepatan reaksinya terhadap senyawa oksigen reaktif lebih tinggi daripada komponen lainnya. Selain itu, vitamin C juga melindungi

makromolekul penting dari oksidasi, sehingga dapat mengurangi kadar MDA, meningkatkan kadar hemoglobin, dan menurunkan IL-6.<sup>49</sup>

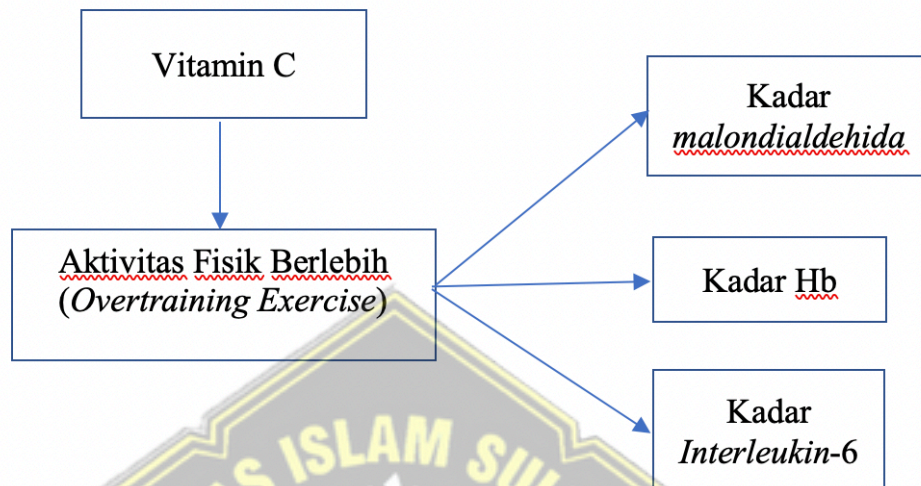






Gambar 3.1 Skema Kerangka Teori

### 3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Skema Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis

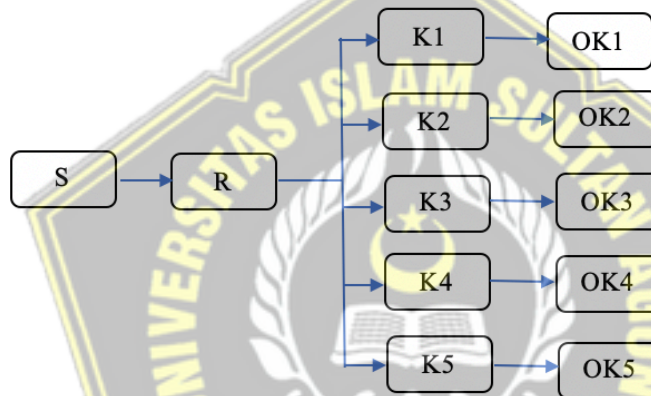
Pemberian Vitamin C memiliki dampak terhadap pengurangan kadar malondialdehyde (MDA), peningkatan kadar Hemoglobin (Hb), dan penurunan kadar interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami overtraining exercise.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimen, dengan rancangan penelitian menggunakan post-test only control group design, melibatkan tikus galur Wistar sebagai subjek penelitian.



**Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian**

Keterangan:

- S : Subyek penelitian
- R : Pengelompokan secara acak dilakukan menjadi lima kelompok
- K1 : Kelompok yang hanya diberi pakan standar tanpa menjalani latihan fisik berlebihan.
- K2 : Kelompok yang diberi pakan standar dan menjalani latihan fisik berlebihan.
- K3 : Kelompok perlakuan yang menerima suplemen vitamin C dosis 9mg/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan.

- K4 : Kelompok perlakuan yang menerima suplemen vitamin C dosis 18mg/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan.K5 : Kelompok perlakuan yang menerima suplemen vitamin C dosis 36mg/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan.
- OK1 : Pengamatan dilakukan pada kelompok control negatif
- OK2 : Pengamatan dilakukan pada kelompok control positif
- OK3 : Pengamatan dilakukan pada kelompok perlakuan 1
- OK4 : Pengamatan dilakukan pada kelompok perlakuan 2
- OK5 : Pengamatan dilakukan pada kelompok perlakuan 3

## **4.2. Populasi dan Teknik Pengambilan Sampel**

### **4.2.1. Populasi**

Populasi penelitian terdiri dari tikus jantan galur Wistar di PAU, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Tikus disimpan dengan memberikan pakan pellet sesuai standar yang telah ditetapkan dan diberikan air minum berupa akuades pada suhu kamar sekitar 28° – 32° C, dengan ventilasi yang memadai dan lingkungan yang cukup. Sebelum mendapatkan perlakuan, tikus kemudian diadaptasi selama satu minggu.

### **4.2.2. Teknik Pengambilan Sampel**

#### **4.2.2.1. Kriteria Inklusi**

- a. Tikus jantan

- b. Tikus yang aktif, sehat, dengan perilaku dan aktivitas normal
- c. Umur 8 minggu
- d. Memiliki berat badan antara 150 hingga 200 gram

#### 4.2.2.1. Kriteria Ekslusi

- a. Tikus mati
- b. Tikus mengalami kondisi sakit selama proses perlakuan

#### 4.2.3. Jumlah Sampel

Menurut pedoman WHO, jumlah sampel minimal adalah 5 ekor per kelompok dengan tambahan cadangan sebesar 10% (1 ekor). Sampel dipilih secara acak menggunakan metode alokasi random sampling dan kemudian dibagi menjadi 5 kelompok. Total tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor.

### 4.3. Variabel dan Definisi Operasional

#### 4.3.1. Variabel

##### 4.3.1.1. Variabel Bebas

Pemberian Vitamin C

##### 4.3.1.2. Variabel Tergantung

- 1) Kadar *malondialdehyde*
- 2) Kadar HB
- 3) Kadar IL-6

#### 4.3.1.3. Variabel Prakondisi

Latihan fisik yang dilakukan adalah berenang selama sekitar 30 menit.

#### 4.4. Definisi Operasional

##### 4.4.1. Vitamin C

Pemberian vitamin C dengan dosis 9 mg/hari, 18 mg/hari, dan 36mg/hari di sonde sebelum melakukan aktivitas fisik berat selama 28 hari.

Skala : Rasio

##### 4.4.2. Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah produk akhir dari peroksidasi lipid. Dalam penelitian ini, MDA digunakan sebagai penanda stres oksidatif. Konsentrasi MDA diukur dalam sampel darah pada hari ke-29 dengan metode TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) dan pembacaan dilakukan pada spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Hasilnya dilaporkan dalam satuan nmol/mL

Skala : Rasio

##### 4.4.3. Kadar Hb

Kadar Hb dalam darah hewan coba yang diambil pada hari ke 29 penelitian dan dinyatakan dalam satuan sel/mm<sup>3</sup>, yang diperiksa

menggunakan *Automatic Hematology Analyzer*.

Skala : Rasio

#### **4.4.4. Kadar *Interleukin-6* (IL-6)**

Banyaknya IL-6 di dalam serum darah hewan coba yang diambil pada hari ke 29 pada penelitian dan dinyatakan dalam satuan ng/mL yang diukur menggunakan metode ELISA.

Skala : Rasio

### **4.5. Instrumen dan Bahan Penelitian**

#### **4.5.1. Peralatan Penelitian**

- 1) Kandang tikus dengan tempat pakan dengan ukuran P: 40cm, L: 30cm, T: 30cm
- 2) Timbangan tikus “Nigushi Scale”
- 3) Mikroskop cahaya
- 4) Gunting kecil
- 5) Pinset sirurgik
- 6) Pisau silet
- 7) Gelas obyek
- 8) Cawan petri
- 9) Sarung tangan
- 10) Kapas counter
- 11) Pipet tetes

- 12) Tabung ependorf
- 13) Kamera digital
- 14) Spektrofotometer
- 15) Reagen TBA untuk mengukur MDA
- 16) ELISA *reader*
- 17) Hematologi *Autoanalyzer*.

#### **4.5.2. Hewan Coba**

Tikus Wistar jantan yang akan digunakan dalam penelitian ini memiliki usia 8 minggu dan berat badan antara 150 hingga 200 gram. Tikus Wistar jantan ini diperoleh dari pembiakan di PAU, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. Sebanyak 30 ekor tikus jantan Wistar dipilih dari hasil pembiakan sebagai subjek penelitian.

#### **4.6. Cara Penelitian**

##### **4.6.1. Proses Pembuatan dan Cara Pemberian Vitamin C**

Dosis vitamin C disesuaikan dengan berat tikus, dihitung menjadi 9 mg/ekor/hari, 18 mg/ekor/hari, dan 36 mg/ekor/hari. Dalam penelitian ini, bubuk vitamin C dilarutkan ke dalam air destilasi dengan rasio 2 ml per ekor.

##### **4.6.2. Perlakuan Hewan Coba**

Penelitian ini melibatkan 30 tikus jantan Wistar berusia 8 minggu dengan berat badan 150 - 200 gram. Tikus-tikus ini dikelompokkan

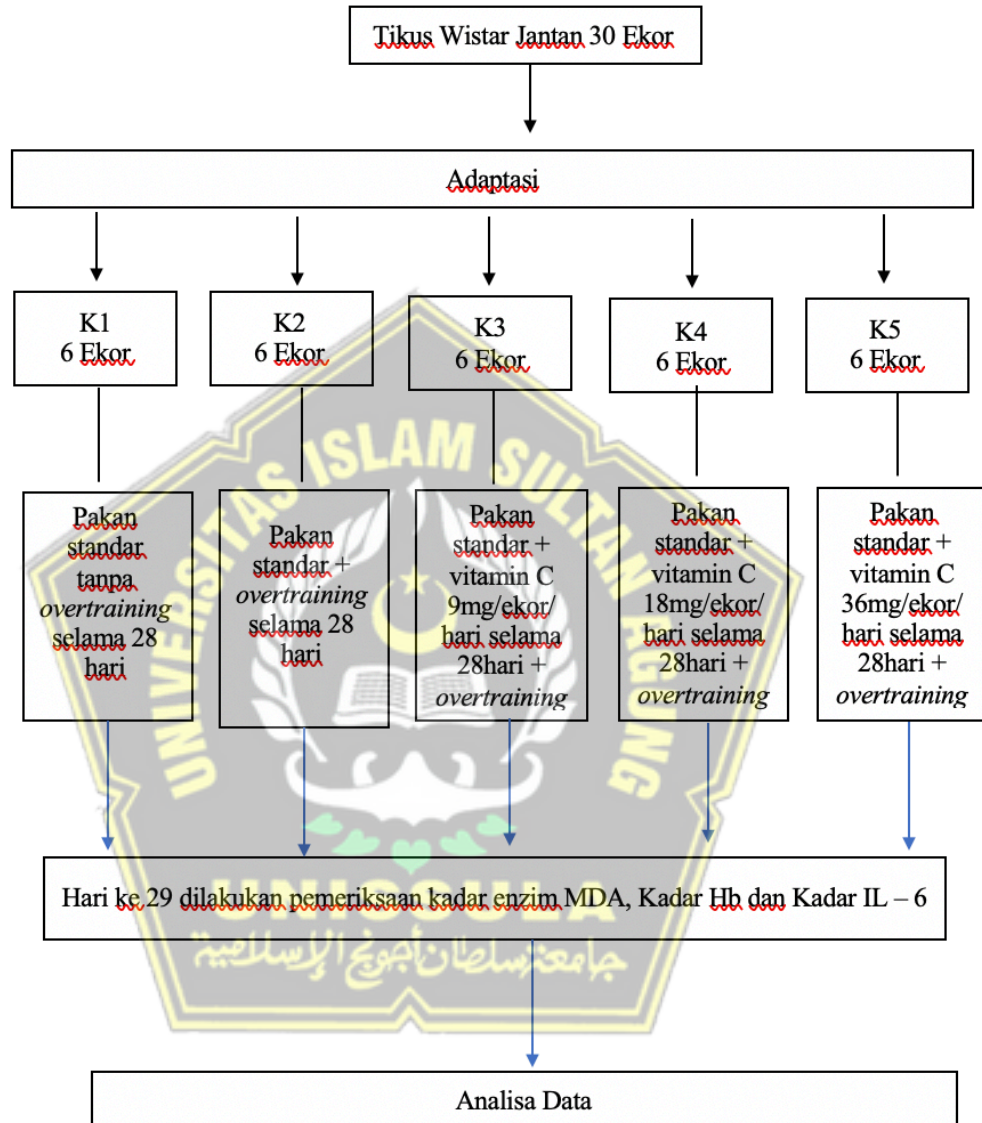


menjadi 5 kelompok, dengan masing-masing kelompok menerima perlakuan tertentu. Masing – masing kelompok terdapat 6 tikus jantan Wistar. Perincian pembagian kelompok adalah sebagai berikut:

1. Kelompok 1: 6 ekor tikus jantan Wistar diberi pakan standar tanpa menjalani latihan fisik berlebihan
2. Kelompok 2: 6 ekor tikus jantan Wistar diberi pakan standar dan menjalani latihan fisik berlebihan selama 28 hari.
3. Kelompok 3: 6 ekor tikus jantan Wistar diberi pakan standar dengan penambahan vitamin C dosis 9 mg/ekor/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan selama 28 hari.
4. Kelompok 4: 6 ekor tikus jantan Wistar diberi pakan standar dengan penambahan vitamin C dosis 18 mg/ekor/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan selama 28 hari
5. Kelompok 5: 6 ekor tikus jantan Wistar diberi pakan standar dengan penambahan vitamin C dosis 36 mg/ekor/hari dan menjalani latihan fisik berlebihan selama 28 hari.

Pada hari ke-29, dilakukan pengambilan darah dari tikus jantan Wistar untuk pemeriksaan enzim malondialdehyde, kadar Hb, dan kadar Interleukin-6.

#### 4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Skema Alur Penelitian

#### **4.8. Teknik Pengambilan Data**

Data dalam penelitian ini dikumpulkan menggunakan teknik observasi. Dalam teknik observasi, peneliti secara langsung mengamati tikus Wistar jantan dan mencatat semua perubahan atau aspek yang relevan dengan tujuan penelitian.

#### **4.9. Tempat dan Waktu Penelitian**

- a. Penelitian dilakukan menggunakan tikus sebagai hewan uji di PAU Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
- b. Pemeriksaan MDA, Hb, dan IL – 6 dilakukan di PAU Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- c. Penelitian dilakukan selama periode 28 hari pada bulan Oktober - November 2023

#### **4.10. Analisis Data**

Penelitian ini melakukan perbandingan rata-rata parameter, yakni kadar enzim MDA, kadar Hb, dan kadar IL-6 pada empat kelompok pada hari ke-29. Data disajikan secara deskriptif, dan uji Shapiro-Wilk digunakan untuk menilai normalitas distribusi data. Homogenitas antar kelompok diuji menggunakan uji Levene. Untuk menentukan signifikansi pengaruh perlakuan terhadap kadar enzim MDA, kadar Hb, dan kadar IL-6, dilakukan analisis one-way ANOVA. Analisis data untuk membandingkan perbedaan antar setiap kelompok dilakukan dengan uji post hoc.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Telah dilakukan studi di PAU Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang mengevaluasi pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar malondialdehyde (MDA), kadar hemoglobin (Hb), dan kadar interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur Wistar yang diberi latihan fisik berlebihan selama 28 hari. Latihan fisik berlebihan dalam penelitian ini dilakukan dengan sesi renang selama 30 menit setiap harinya. Total 30 tikus jantan galur Wistar dipilih secara acak dan dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok pertama (control negatif) hanya diberi pakan standar tanpa exercise berlebihan. Kelompok kedua hanya diberi pakan standar dan menjalani exercise berlebihan. Kelompok ketiga diberi pakan standar ditambah vitamin C dengan dosis 9 mg/ekor/hari dan latihan fisik berlebihan. Kelompok keempat diberi pakan standar ditambah vitamin C dengan dosis 18 mg/ekor/hari dan latihan fisik berlebihan. Kelompok kelima diberi pakan standar ditambah vitamin C dengan dosis 36 mg/ekor/hari dan exercise berlebihan. Exercise berlebihan yang dilakukan yaitu renang selama 30 menit setiap harinya selama periode 28 hari.

Pada hari ke – 29, tikus jantan wistar diambil darahnya melalui vena orbita sebanyak 2ml guna pemeriksaan kadar *Malondialdehyde*, kadar Hb, dan kadar *Interleukin-6*. Kadar *Malondialdehyde* diukur dengan menggunakan metode TBARS dibaca pada spektrofotometer 532nm sedangkan untuk kadar

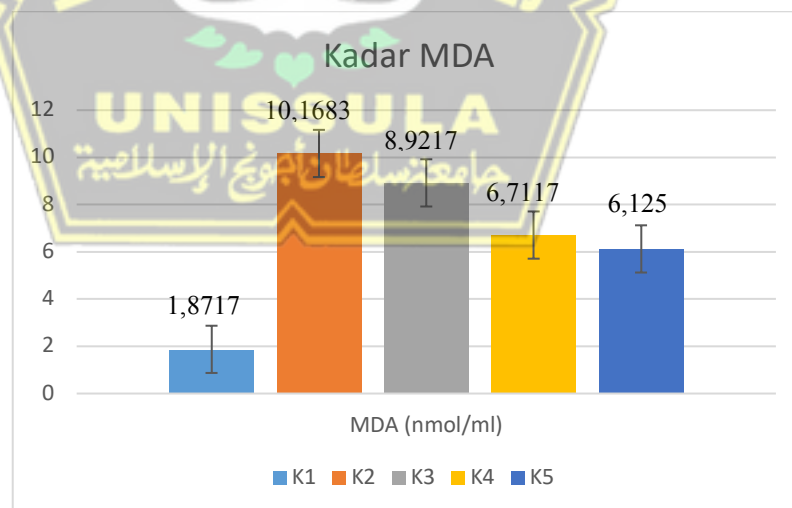
Hb diukur dengan menggunakan *Automatic Hematology Analyzer*. Dan untuk kadar *Interleukin-6* diukur dengan menggunakan ELISA. Untuk hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 5.1.

**TABEL 5.1 Hasil Analisis Rerata Kadar Malondialdehyde (MDA), Kadar Hemoglobin (Hb), Dan Kadar Interleukin-6 (IL-6)**

Variabel	Kelompok					Sig.(p)
	K1 N=5 Mean (±SD)	K2 N=5 Mean (±SD)	K3 N=5 Mean (±SD)	K4 N=5 Mean (±SD)	K5 N=5 Mean (±SD)	
<b>Kadar MDA</b>	1,87 (±0,30)	10,17 (±0,30)	8,92 (±0,40)	6,71 (±0,31)	6,13 (±0,24)	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,982*	0,696*	0,703*	0,365*	0,591*	
<i>Levene Test</i>						0,726**
<i>Anova</i>						0,000***
<b>Kadar Hb</b>	15,38 (±0,36)	9,18 (±0,24)	9,42 (±0,35)	11,60 (±0,44)	11,99 (±0,26)	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,193	0,868*	0,902*	0,732*	0,675*	
<i>Levene Test</i>						0,606**
<i>Anova</i>						0,000***
<b>Kadar IL-6</b>	26,24 (±0,49)	80,49 (±0,97)	70,97 (±1,53)	56,81 (±0,46)	51,67 (±1,50)	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,800*	0,985*	0,960*	0,797*	0,419*	
<i>Levene Test</i>						0,018
<i>Anova</i>						0,000***
<b>Keterangan:</b>	*Normal >0,05 **Homogen >0,05 ***Signifikan<0,05					

### 5.1.1. Kadar *Malondialdehyde* (MDA)

Tabel 5.1 menggambarkan bahwa rerata kadar *Malondialdehyde* (MDA) terendah terdapat pada kelompok 1, diikuti oleh kelompok 5, kelompok 4, dan kelompok 3 secara berurutan. Kelompok 2 memiliki rerata kadar MDA yang paling tinggi. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa data kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada semua kelompok memiliki distribusi yang normal ( $p > 0,05$ ). Uji homogenitas menggunakan Levene test menunjukkan homogenitas ( $p = 0,726$ ), sehingga dilakukan uji parametrik One-way ANOVA. Hasil uji One-way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok ( $p = 0,000$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan, dilakukan uji post hoc LSD seperti yang dijelaskan di bawah ini.



**Gambar 5.1. Grafik rerata kadar *Malondialdehyde* (MDA)**

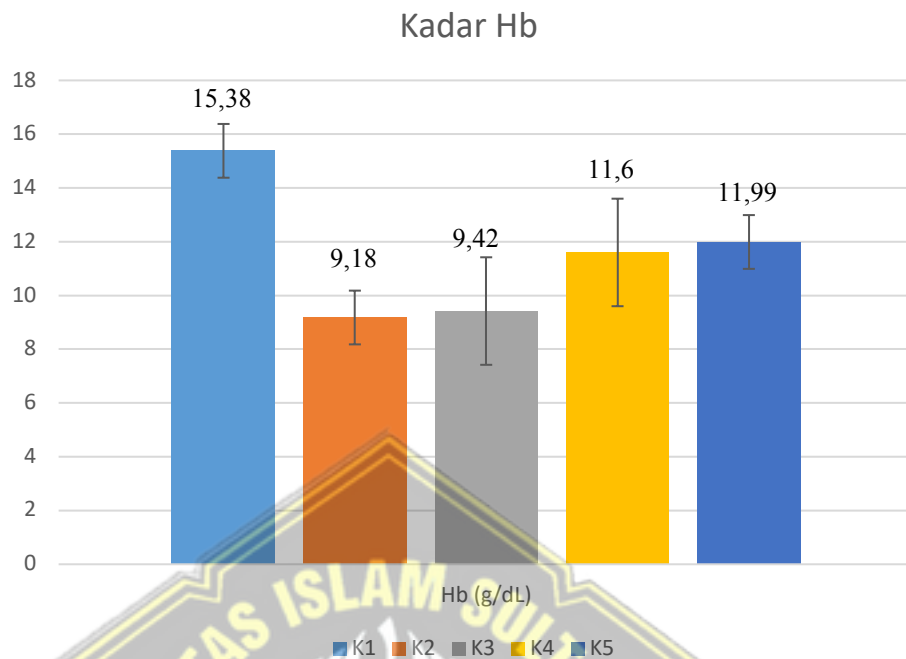
Dari analisis uji post hoc LSD pada Tabel 5.2, terlihat variasi rerata kadar MDA antar kelompok. Kesimpulannya adalah pemberian Vitamin C secara signifikan memengaruhi penurunan kadar Malondialdehyde (MDA) pada tikus jantan galur Wistar yang diberi latihan fisik berlebihan. Signifikansi perbedaan rerata kadar MDA antar kelompok dalam penelitian ini tercermin dalam grafik/tabel di bawah ini:

	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0.000	0.000	0.000	0.000
K2			0.000	0.000	0.000
K3				0.000	0.000
K4					0.003
K5					

Tabel 5.2. Perbedaan rerata kadar MDA antar 2 kelompok dengan uji posthoc LSD

### 5.1.2. Kadar Hemoglobin (Hb)

Dari hasil uji post hoc LSD pada Tabel 5.3, diperoleh rerata kadar Hb antar kelompok. Kesimpulannya adalah terdapat perbedaan yang signifikan dalam rerata kadar Hb antara K1 dan K2, K1 dan K3, K1 dan K4, K1 dan K5, K2 dan K4, K2 dan K5, K3 dan K4, serta K3 dan K5. Namun, perbedaan rerata antara K2 dan K3 serta K4 dan K5 tidak signifikan. Signifikansi perbedaan rerata kadar Hemoglobin (Hb) antar kelompok dalam penelitian ini tergambar dalam grafik/tabel di bawah ini:



**Gambar 5.2. Grafik rerata kadar *Hemoglobin* (Hb)**

Dari hasil analisis uji post hoc LSD pada Tabel 5.3, terdapat variasi rerata kadar Hb antar kelompok. Kesimpulannya adalah terdapat perbedaan yang signifikan dalam rerata kadar Hb antara K1 dan K2, K1 dan K3, K1 dan K4, K1 dan K5, K2 dan K4, K2 dan K5, K3 dan K4, serta K3 dan K5. Namun, tidak ditemukan perbedaan yang signifikan dalam rerata antara K2 dan K3 serta K4 dan K5. Signifikansi perbedaan rerata kadar Hemoglobin (Hb) antar kelompok dalam penelitian ini terlihat dalam grafik/tabel di bawah ini:

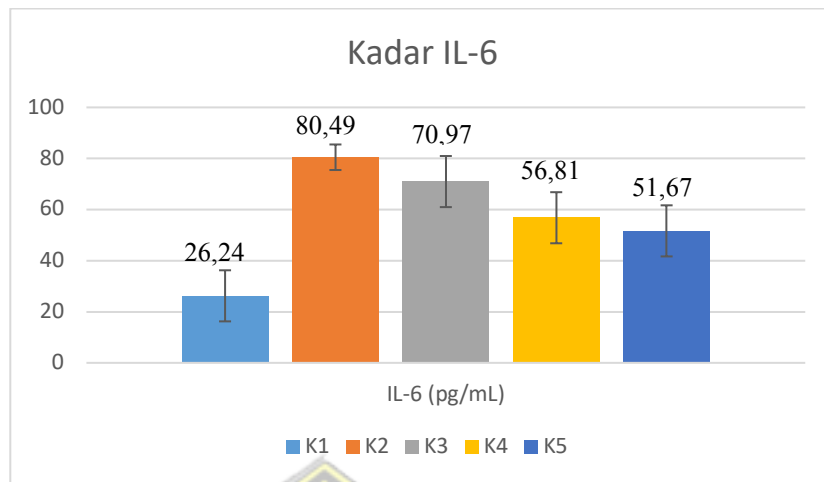


	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0.000	0.000	0.000	0.000
K2			0.227	0.000	0.000
K3				0.000	0.000
K4					0.058
K5					

Tabel 5.3. Perbedaan rerata kadar Hb antar 2 kelompok dengan uji posthoc LSD

### 5.1.3. Kadar *Interleukin* – 6 (IL-6)

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar *Interleukin*-6 (IL-6) terendah terdapat pada kelompok 1, diikuti secara berurutan oleh kelompok 5, kelompok 4, dan kelompok 3. Sedangkan kelompok 2 memiliki rerata kadar IL-6 yang tertinggi. Berdasarkan uji Shapiro-Wilk, data kadar *Interleukin*-6 (IL-6) pada seluruh kelompok menunjukkan distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Namun, uji homogenitas menggunakan Levene test menunjukkan ketidakhomogenan ( $p = 0,018$ ), sehingga digunakan uji parametrik One-way ANOVA. Hasil uji One-way ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok ( $p = 0,000$ ). Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan, dilakukan uji post hoc Tamhane seperti yang dijelaskan di bawah ini.



**Gambar 5.3. Grafik rerata kadar *Interleukin – 6* (IL-6)**

Berdasarkan hasil uji post hoc Tamhane pada Tabel 5.4, terlihat adanya perbedaan rerata kadar IL-6 antara kelompok. Dari analisis ini, dapat disimpulkan bahwa pemberian Vitamin C memiliki dampak signifikan dalam menurunkan kadar Interleukin-6 (IL-6) pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami latihan fisik berlebihan. Signifikansi perbedaan rerata kadar IL-6 antar kelompok dalam penelitian ini tercermin dalam grafik/tabel di bawah ini:

	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0.000	0.000	0.000	0.000
K2			0.000	0.000	0.000
K3				0.000	0.000
K4					0.002
K5					

**Tabel 5.4. Perbedaan rerata kadar IL-6 antar 2 kelompok dengan uji posthoc Tamhane**

## 5.2. PEMBAHASAN

Latihan berlebihan menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan sistem pertahanan antioksidan, hal ini terjadi karena produksi radikal bebas lebih besar dibandingkan dengan kemampuan sistem pertahanan antioksidan dalam tubuh.<sup>44</sup> Pada keadaan *overtraining exercise* akan meningkatkan kebutuhan oksigen yang lebih tinggi 10 – 15 kali.<sup>59</sup> Penggunaan oksigen yang berlebihan dapat menyebabkan electron dari mitokondria mengalami kebocoran sehingga menjadi Reactive Oxygen Species (ROS).<sup>60</sup> Stress oksidatif yang terjadi juga dapat merusak sel dengan reaksi peroksid lipid yang dapat meningkatkan produksi *Malondialdehyde* (MDA) sebagai penanda tidak langsung adanya peningkatan ROS (*Reactive oxygen species*).<sup>44</sup> Temuan dari studi ini mengindikasikan bahwa aktivitas olahraga yang dilakukan secara berlebihan akan meningkatkan stres oksidatif dalam tubuh. Hal ini disebabkan oleh peningkatan konsumsi oksigen selama aktivitas otot rangka. Akibat dari latihan berlebihan yaitu kerusakan oksidatif pada protein dan lipid di dalam miosit. Senyawa oksidatif ini memicu berbagai mekanisme sinyal sel dan mengatur ekspresi beberapa gen dalam sel eukariot, menyebabkan perubahan transkripsi, serta merusak stabilitas mRNA.<sup>61</sup> MDA terbentuk sebagai konsekuensi dari peroksidasi lipid pada membran sel adalah hasil dari interaksi radikal bebas, terutama radikal hidroksil, dengan PUFA dalam rantai lipid. Proses ini berlangsung secara berantai dan menghasilkan hidrogen peroksida sebagai akhiran. Lipid hidroperoksida yang terbentuk dapat diuraikan dan diubah oleh logam transisi, menghasilkan senyawa karbonil

pendek seperti aldehida dan keton, yang memiliki sifat sitotoksik. Pembentukan MDA terjadi selama peroksidasi lipid karena pemutusan ikatan karbon.<sup>60</sup>

Seperti yang ditunjukkan dalam penelitian oleh Sinaga, ditemukan bahwa pemberian vitamin C menghasilkan penurunan kadar MDA pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami *overtraining exercise*.<sup>37</sup> Antioksidan yang terdapat dalam Vitamin C diperlukan oleh tubuh guna menetralkan radikal bebas yang terbentuk sebagai akibat dari kekurangan elektron, serta untuk menghambat serangkaian reaksi yang menghasilkan radikal bebas yang dapat memicu stres oksidatif. Ini dilakukan dengan transfer elektron atau Memberikan elektron untuk mencegah senyawa lain dari mengalami oksidasi dan menangkap anion superoksida, radikal hidroksil, dan lipid hidroperoksida adalah salah satu fungsi Vitamin C sebagai antioksidan eksogen. Dengan mengurangi radikal bebas, Vitamin C dapat menghambat peroksidasi lipid dan mencegah kerusakan sel dalam tubuh.<sup>62</sup>

Stress oksidatif yang disebabkan oleh *overtraining exercise* juga dapat mengakibatkan kerusakan eritrosit dimana eritrosit dalam darah mudah lisis karena proses peroksidasi lipid yang merusak membrane sel dan merusak organisasi sel sehingga menyebabkan penurunan dari kadar Hb.<sup>49</sup> Menurunnya kadar Hb jg dipengaruhi oleh peningkatan volume plasma dalam darah dan melarutkan eritrosit sehingga kadar Hb di dalam darah menjadi rendah.<sup>62</sup> Di samping itu, peningkatan aktivitas metabolisme yang intensif menghasilkan peningkatan produksi asam, termasuk ion hidrogen dan asam laktat. Hal ini

menyebabkan penurunan pH dalam tubuh, yang dapat mengakibatkan hemolisis intravaskular, yang pada gilirannya menyebabkan penurunan kadar hemoglobin.<sup>63</sup>

Pemberian vitamin C terbukti meningkatkan Hb pada tikus jantan galur Wistar yang menjalani latihan fisik berlebihan, seperti yang terdokumentasikan dalam penelitian yang dilakukan oleh Sinaga.<sup>37</sup> Sebagai antioksidan Vitamin C akan melepaskan electron guna mencegah senyawa lain mengalami oksidasi, electron ini akan menjadi radikal askorbil yang relative stabil dan tidak reaktif. Setelah radikal askorbil terbentuk, tahapan selanjutnya adalah free radical scavenging, dimana radikal bebas reaktif direduksi menjadi senyawa yang kurang aktif, yang kemudian menghasilkan peningkatan kadar hemoglobin. Vitamin C dikenal sebagai agen free radical scavenging yang efektif.<sup>37</sup>

Peningkatan kadar *interleukin-6* pada kondisi *overtraining exercise* karena adanya kerusakan sel jaringan sehingga mengaktifkan sel – sel inflamasi.<sup>55</sup> Sel – sel yang mengalami inflamasi akan melepaskan mediator inflamasi salah satunya IL- 6.<sup>24</sup> Proses inflamasi yang terjadi akan menyebabkan kerusakan pada jaringan otot dan akan mengakibatkan terganggunya proses fisiologis dari otot.<sup>64</sup> Pemberian vitamin C memiliki potensi untuk menghasilkan penurunan kadar IL-6 setelah melakukan *overtraining exercise*. Ini terjadi karena suplemen tersebut mengurangi stres oksidatif, yang mengakibatkan perlambatan respons inflamasi.<sup>65</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Wibawa menunjukkan bahwa konsumsi vitamin C mampu menurunkan kadar IL-6 pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami

overtraining exercise. Penelitian lain juga menyatakan bahwa vitamin C, sebagai zat yang memiliki kemampuan kuat sebagai agen pereduksi radikal, Vitamin C memiliki kemampuan untuk mengurangi stres oksidatif serta risiko kerusakan jaringan otot akibat latihan fisik yang berlebihan. Suplemen vitamin C juga dapat menurunkan peroksidasi lipid dalam kurun waktu 1-2 jam setelah exercise, dengan vitamin C berperan sebagai agen yang menetralkan hydrogen peroksida.<sup>66</sup>

Pemberian Vitamin C dengan dosis 36mg/200gBB/hari pada penelitian ini terbukti secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA, Hb, dan IL-6 setelah diberi *overtraining exercise*. Dosis Vitamin C 36mg/200gBB/hari setara dengan dosis Vitamin C 2000mg/hari pada manusia. Walaupun secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA, Hb, dan IL-6 setelah diberi *overtraining exercise* pemberian Vitamin C ini tidak dapat menurunkan kadar MDA, Hb, dan IL-6 seperti pada kelompok kontrol.

### 5.3. Keterbatasan Penelitian

Peneliti tidak melakukan pengukuran kadar MDA, Hb, dan IL-6 sebelum diberikan perlakuan, sehingga tidak diketahui kadar MDA, Hb, dan IL-6 awal. Hanya diasumsikan bahwa kadar MDA, Hb, dan IL-6 sama dengan kelompok kontrol.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan penelitian tentang pengaruh pemberian vitamin C terhadap kadar *malondialdehyde* (MDA), kadar Hemoglobin (Hb), dan kadar *interleukin-6* (IL-6) pada tikus jantan galur wistar yang diberi *overtraining exercise*, dapat disimpulkan beberapa hal seperti yang tercantum dibawah ini:

- 6.1.1. Pemberian vitamin C dengan dosis 36mg/200gBB/hari secara bermakna dapat menurunkan kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada tikus jantan galur wistas yang diberi *overtraining exercise*.
- 6.1.2. Pemberian vitamin C dengan dosis 36mg/200gBB/hari secara bermakna dapat meningkatkan kadar *Hemoglobin* (Hb) pada tikus jantan galur wistas yang diberi *overtraining exercise*.
- 6.1.3. Pemberian vitamin C dengan dosis 36mg/200gBB/hari secara bermakna dapat meningkatkan kadar *Interleukin 6* (IL-6) pada tikus jantan galur wistas yang diberi *overtraining exercise*.

#### 6.2. Saran

- 6.2.1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap kadar asam laktat karena penurunan kadar Hb pada kondisi *overtraining exercise* dipengaruhi oleh kadar asam laktat.

6.2.2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai histopatologi mediator pro inflamasi yang terbentuk pada jaringan otot untuk melihat apakah mediator pro inflamasi juga terbentuk di jaringan otot tidak hanya di dalam darah.





## DAFTAR PUSTAKA

1. Hariadi. Aktivitas Fisik Atau Olahraga Yang Aman Untuk Kesehatan Dan Kesegaran Jasmani. *Gener Kampus*. 2009;2(April):104-121. Doi:10.1093/Aob/Mci211. 2009;
2. Ka B, Jg C. Overtraining, Exercise, And Adrenal Insufficiency. *J Nov Physiother*. 2013;03(01):1–5.
3. Laksmi Dndi. Glutathion Meningkatkan Kualitas Tubulus Seminiferus Pada Mencit Yang Menerima Pelatihan Fisik Berlebih. *Buletin Veteriner Udayana*. 2010;2(1):11–9.
4. Muchtadi D. *Gizi Anti Penuaan Dini*. Bandung: Alfabeta Cv;
5. Harahap Ns, Pahutar Up. Pengaruh Aktifitas Fisik Aerobik Dan Anaerobik Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mahasiswa Ilmu Keolahragaan Universitas Negeri Medan. *Sains Olahraga : Jurnal Ilmiah Ilmu Keolahragaan*. 2018;1(2):33.
6. Apollo F, Ginting M, Fitri K, Harefa R. Pengaruh Aktifitas Fisik Maksimal Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mahasiswa Jurusan Ilmu Keolahragaan. *J Chem Inf Model*. 2019;53(9):1689–99.
7. Rusiani E, Junaidi S, Subiyono Hs, Sumartiningsih S. Suplementasi Vitamin C Dan E Untuk Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Melakukan Aktivitas Fisik Maksimal. *Media Ilmu Keolahragaan Indonesia*. 2019;9(2):32–7.
8. Hayati. Dampak Latihan Intensitas Berat Pada Fungsi Imun Tubuh. *Prodi Kepeleatihan Dan Olah Raga Universitas Pgri Adi Buana Surabaya*. 2014;Iv:50–6.
9. Noorhasanah E. Differences Influence Of Light And Medium Aerobic Exercise Activities To Sitokin Titors Projectivity Tumor Necrosis Factor (Tnf-A) In Teenagers. *Caring Noursing Journal*. 2017;1(1):21–8.
10. Wibawa Jc, Wati Lh, Arifin Mz. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *Jossae : Journal Of Sport Science And Education*. 2020 May 28;5(1):57.

11. Sinaga Rn, Sinaga Fa. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehid Dan Haemoglobin Atlet Pada Aktifitas Fisik Maksimal. *Jurnal Unimed*. 2017;14–24.
12. Nugroho Ej. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Nilai Limfosit Pada Pasien Tuberculose Di Wilayah Kerja Puskesmas Kradenan Kabupaten Grobogan. 2012;1–13.
13. Rezeki S. Efek Suplementasi Ekstrak Ikan Gabus Dan Vitamin C Terhadap Kadar Hemoglobin, Lekosit, Limfosit, Albumin Dan Imt Pada Pasien Hiv/ Aids. *Gizi Indonesia*. 2015;38(1):41–8.
14. Wibawa Jc, Arifin Mz, Herawati L. Mekanisme Vitamin C Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Aktivitas Fisik. *Journal Of Sport Science And Education*. 2020;5(1):1.
15. Berawi Kn, Agverianti T. Efek Aktivitas Fisik Pada Proses Pembentukan Radikal Bebas Sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis. *Jurnal Majority*. 2017;6(2):86–91.
16. Sutirta-Yasa Iwp, Jawi Im, Ngrurah Ib, Subawa Aan. Umbi Ubi Jalar Ungu Bali (*Ipomoea Batatas*) Di Transaminase Serum, Malondialdehyde Hepar Dan Alkohol Kronis. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory*. 2016;14(2):151–4.
17. Rahman D. Jumlah Leukosit Dan Hitung Jenis Leukosit Pada Atlet Softball. 2018;2(April):1–9.
18. Fajri Hr, Argarini R, Effendi C. Pengaruh Pemberian Glutathione Pra Latihan Submaksimal Terhadap Jumlah Trombosit Dan Masa Perdarahan : Studi Eksperimental Pada Hewan Coba. 2015;3(1):50–8.
19. Yuniarti E. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. 2014;Vi(2):189–92.
20. Mahfida Sl, Kandarina I, Farmawati A. Efektivitas Minuman Kombinasi Maltodekstrin Dan Vitamin C Terhadap Hitung Jenis Leukosit Pada Atlet Sepak Bola. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*. 2015;11(3):126.

21. Resmanto. Pengaruh Pemberian Vitamin C Sebagai Antioksidan Terhadap Jumlah Leukosit Dan Trombosit Pada Latihan Fisik Maksimal. (Penelitian Eksperimental Laboratorium Pada Mencit (Mus Musculus). *J Chem Inf Model*. 2017;53(9):1689–99.
22. Agra A. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Jumlah Total Leukosit Mencit (Mus Musculus) Yang Dipapar Asap Rokok. Universitas Andalas; 2017.
23. Guyton H. Fisiologi Kedokteran . 12th Ed. Jakarta: Elsevier Inc.; 2011.
24. Noorhasanah E. Differences Influence Of Light And Medium Aerobic Exercise Activities To Sitokin Titors Projectivity Tumor Necrosis Factor (Tnf-A) In Teenagers. *Caring Nursing . J* 2017;1(1):21–8. 2017;
25. Patel H Ahmrsnkvtj. Aerobic Vs Anaerobic Exercise Training Effects On The Cardiovascular System . . *World J Cardiol* 2017;9(2):134. 2017;
26. Palar Chrisly M, Wongkar D, Ticoalu Shane H.R. Manfaat Latihan Olahraga Aerobik Terhadap Kebugaran Fisik Manusia. *J E-Biomedik (Ebm)*, 2015;3(1):316-321  
<https://ejournalunsratacid/index.php/Ebiomedik/Article/View/7127/6638>. 2015;
27. Irawan Ma Im (N. D. . *Metabolisme Energi Tubuh & Olahraga*. *Polt Sport Sci Performace Lab* 2007;1–4. 2007;
28. Rahman Marpaung D, Appolo Sinaga F, Dkk. Pengaruh Aktifitas Fisik Maksimal Terhadap Jumlah Leukosit Dan Hitung Jenis Leukosit Pada Atlet Softball. *Sains Olahraga : Jurnal Ilmiah Ilmu Keolahragaan .* 2018;Volume 2, Nomor 1.
29. Elfiannisa O., Andini A. Perbedaan Pengaruh Frekuensi Latihan Senam Aerobik Terhadap Penurunan Persentase Lemak Tubuh Dan Berat Badan Pada Members Wanita Di Cakra Sport Club Yogyakarta. 2016.
30. Oleh D, Ilmu Keolahragaan P, Deni Rahman Marpaung O, Apollo Sinaga F, Rismadayanti W, Ginting M, Et Al. *Sains Olahraga : Jurnal Ilmiah Ilmu Keolahragaan Pengaruh Aktifitas Fisik Maksimal Terhadap*

- Jumlah Leukosit Dan Hitung Jenis Leukosit Pada Atlet Softball.  
Available From: [Http://Jurnal.Unimed.Ac.Id/2012/Index.Php/So](http://Jurnal.Unimed.Ac.Id/2012/Index.Php/So)
31. Andryani Pg. Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Naga Merah Terhadap Kadar Malondialdehid Tikus Setelah Aktivitas Fisik Maksimal. . Jurnal Kedokteran Diponegoro 2018. 2018;
  32. Telang P. Vitamin C In Dermatology. . Indian Dermatol Online J 2013;4:143–6. 2013;
  33. Robert K. Murray Dkgpamvwr. Biokimia Harper. Edisi 25. Jakarta: Egc; 2009. 2009;
  34. Kesuma Sayuti I, Yenrina R. Antioksidan Alami Dan Sintetik. 2015.
  35. National Research Council (U.S.), Institute Of Medicine (U.S.). Dietary Reference Intakes For Vitamin C, Vitamin E, Selenium, And Carotenoids : A Report Of The Panel On Dietary Antioxidants And Related Compounds, Subcommittees On Upper Reference Levels Of Nutrients And Of Interpretation And Use Of Dietary Reference Intakes, And The Standing Committee On The Scientific Evaluation Of Dietary Reference Intakes, Food And Nutrition Board, Institute Of Medicine. National Academy Press; 2000. 506 P.
  36. Schlueter Ak, Johnston Cs. Vitamin C: Overview And Update. Vol. 16, Complementary Health Practice Review. 2011. P. 49–57.
  37. Nailuvar Sinaga R, Apollo Sinaga F. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Kadar Malondialdehid Dan Haemoglobin Atlet Pada Aktifitas Fisik Maksimal. 2017;
  38. Ratna Yustika A, Sasangka Prasetyawan Dan. Kadar Malondialdehid (Mda) Dan Gambaran Histologi Pada Ginjal Tikus Putih (Rattus Norvegicus) Pasca Induksi Cylosporine-A. Vol. 1, Universitas Brawijaya Malang. 2013.
  39. Zainuri M, Wanandi Si, Litbangkes B, Ri K. Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismutase (Mnsod) Dan Katalase Pada Hati Tikus Yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya Dengan Kerusakan Oksidatif Specific Activity Of Manganese Superoxide

- Dismutase (Mnsod) And Catalase In The Rat Liver Induced Systemic Hypoxia : Relationship With Oxidative Damage. Vol. 22, Media Litbang Kesehatan. 2012.
40. Halliwell B Wm. Somatic Embryogenesis And Plant Regeneration In Osmanthus Fragrans Lour. . Br J Pharmacol 2004;142(1):32-39 Doi:101038/Sjbjp0705776. 2004;
  41. Kumar A Kdtgrsk. Reactive Oxygen Species: Friend Or Foe? . Rsc Adv 2015;5(71):57267-57276 Doi:101039/C5ra07927f. 2015;
  42. Sari Novita H. Dampak Stres Oksidatif Akibat Aktifitas Fisik Terhadap Siklus Menstruasi Atlet Wanita. Vol. 20, Pengabdian Kepada Masyarakat. 2014.
  43. Nugroho Wa. Effect Of Physical Activity On Oxidative Stress: A Review Of Impact And Implication After Training. . Yogyakarta Int Semin Heal Phys Educ Sport Sci 2017;1(2):256-260. 2017;
  44. Rusiani E, Junaidi S, Setyo Subiyono H, Sumartiningsih S. Suplementasi Vitamin C Dan E Untuk Menurunkan Stres Oksidatif Setelah Melakukan Aktivitas Fisik Maksimal [Internet]. 2019. Available From: [Http://Journal.Unnes.Ac.Id/Nju/Index.Php/Mikiterakreditasisinta4](http://Journal.Unnes.Ac.Id/Nju/Index.Php/Mikiterakreditasisinta4)
  45. Gunadi Vir, Mewo Ym, Tiho M. Gambaran Kadar Hemoglobin Pada Pekerja Bangunan. Vol. 4, Jurnal E-Biomedik (Ebm). 2016.
  46. Desi Rusmiati. Perbedaan Kadar Hemoglobin Ibu Sebelum Dan Sesudah Persalinan Normal. 2019;
  47. Sofro Asm. Darah. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. 2012;
  48. Kosasi L Ofya. Hubungan Aktivitas Fisik Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Mahasiswa Anggota Ukm Pandekar Universitas Andalas. Artikel Penelitian 2014;3(2):178-181. 2014;
  49. Saputro D.A. Js. Pemberian Vitamin C Pada Latihan Fisik Maksimal Dan Perubahan Kadar Hemoglobin Dan Jumlah Eritrosit. . Semarang: Jurusan Ilmu Keolahragaan, Fakultas Ilmu Keolahragaan, Universitas Negeri Semarang, Indonesia Vol: 4 (3) (2015) Issn 2252-6528. 2015;

50. Baratawidjaja Kg Ri. *Imunologi Dasar*. Fkui; 2014.
51. Yuniarti Jurusan Biologi E, Universitas Negeri Padang Jln Hamka Air Tawar Padang F. Pengaruh Latihan Submaksimal Terhadap Kadar Interleukin-6 Pada Siswa Pusat Pendidikan Latihan Pelajar Sumatera Barat. 2014;Vi(2):189–92. Available From: [Http://Www.Antara-](http://www.Antara-)
52. Cahyani Kis, Sarihati Igad. Gambaran Kadar Serum Interleukin-6 Pada Perokok Aktif. Vol. 8. 2020.
53. Santosa B. Teknik Elisa Metode Elisa Untuk Pengukuran Protein Metallothionein Pada Daun Padi Ir Bagendit. 2020.
54. Albert Daniel Solang \* Antonius Pudjiadi,\* Abdul Latief,\* Yusrina Istanti,\*\*\* Sri Martuti,\*\* Moh. Supriatna,\*\*\* Pudjiastuti\*\*. Hubungan Kadar Interleukin-6 Dengan Luaran Infeksi Pascabedah. *Sari Pediatri*. 2014;Vol. 16, No. 4.
55. Kilapong Rbjd Sstrj V. Pengaruh Latihan Beban Pada Lansia Terhadap Kadar Tnf-A. *J E-Biomedik* 2015;3(3). 2015;
56. Berawi Kn At. Efek Aktivitas Fisik Pada Proses Pembentukan Radikal Bebas Sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis. *J Major* 2017;6(2):86-91 [Http://Jukekedokteranunilaacid/Indexphp/Majority/Article/View/1019](http://jukekedokteranunilaacid/index.php/Majority/Article/View/1019). 2017;
57. Sutirta-Yasa Iwp Jinisaan. Umbi Ubi Jalar Ungu Bali (*Ipomoea Batatas*) Di Transaminase Serum, Malondialdehyde Hepar Dan Alkohol Kronis. *Indonesian Journal Of Clinical Pathology And Medical Laboratory* 2016;14(2):151–4 . 2016;
58. Apollo Sinaga F. Stress Oksidatif Dan Status Antioksidan Pada Aktivitas Fisik Maksimal. Vol. 9. 2016.
59. Septivani G, Pw, Pi. Pemberian Ekstrak Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L*) Menurunkan Kadar Malondialdehid (Mda) Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Dengan Aktivitas Fisik Berlebih. *Journal Of Biological Sciences*. 2019;

60. Powers Sk, Jackson Mj. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms And Impact On Muscle Force Production. Vol. 88, *Physiological Reviews*. 2008. P. 1243–76.
61. Halim Ev, Ticoalu Shr, Wongkar D, Manado Sr, Anatomi-Histologi B, Kedokteran F, Et Al. Pengaruh Latihan Zumba Terhadap Kadar Hemoglobin. 2014.
62. Heriyanto, Sari I, Aristoteles, Bastian. Analisis Aktivitas Fisik Ringan Dan Berat Terhadap Kadar Hemoglobin. *Jurnal Kesehatan Saemakers Perdana*. 2022 Feb 28;5(1):211–6.
63. Tidball Jg. Inflammatory Processes In Muscle Injury And Repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* [Internet]. 2005;288:345–53. Available From: [Www.Ajpregu.Org](http://www.ajpregu.org)
64. Righi Nc, Schuch Fb, De Nardi At, Pippi Cm, De Almeida Righi G, Puntel Go, Et Al. Effects Of Vitamin C On Oxidative Stress, Inflammation, Muscle Soreness, And Strength Following Acute Exercise: Meta-Analyses Of Randomized Clinical Trials. Vol. 59, *European Journal Of Nutrition*. Springer Science And Business Media Deutschland Gmbh; 2020. P. 2827–39.
65. Cobley Jn, Mchardy H, Morton Jp, Nikolaidis Mg, Close Gl. Influence Of Vitamin C And Vitamin E On Redox Signaling: Implications For Exercise Adaptations. Vol. 84, *Free Radical Biology And Medicine*. Elsevier Inc.; 2015. P. 65–76.