

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Jumlah orang dewasa dengan usia lanjut (lansia) di Indonesia setiap tahunnya mengalami peningkatan. Menurut Badan Pusat Statistik tahun 2020 selama lima dekade, persentase lansia di Indonesia meningkat sekitar dua kali lipat, yakni menjadi 9,92% (26 juta masyarakat) dengan lansia perempuan sekitar satu persen lebih banyak dibandingkan lansia laki-laki (10,43% : 9,42%).<sup>1</sup>

Seiring pertambahan usia, kondisi fisik manusia akan menurun karena adanya proses degenerasi (penuaan) yang memudahkan terjadinya infeksi penyakit menular maupun tidak menular, dikarenakan proses degenerasi tersebut dapat menurunkan imunitas tubuh.<sup>1,2</sup> Sistem imun dalam tubuh diatur oleh sebuah organ limfoid sekunder yaitu limpa. Pada organ limpa terutama di bagian parenkim terdiri dari dua jenis jaringan, yaitu pulpa rubra dan pulpa alba. Bagian pulpa alba berfungsi untuk mengatur sintesis dan aktivasi dari komponen imunitas tubuh termasuk limfosit, makrofag, sel B dan sel T. Peningkatan fungsi serta pemeliharaan dari komponen imunitas tersebut dapat dipengaruhi oleh suatu proses homeostasis dalam tubuh yaitu autofagi.<sup>3</sup>

Autofagi adalah suatu proses homeostasis intraseluler yang terkonservasi yaitu proses degradasi dari komponen makromolekul seperti protein dan organel yang sudah tua atau rusak dengan cara mengirimkan muatan makromolekul tersebut kemudian berfusi dengan endosom atau lisosom dan didegradasi dengan bantuan asam hidrosilase atau protease.<sup>4</sup> Proses autofagi terbagi menjadi beberapa tahap yaitu induksi (aktivasi), nukleasi vesikel (fagofor), elongasi fagofor menjadi autofagosom bermembran ganda, penggabungan autofagosom dengan lisosom menjadi autolisosom, hidrolisis dan daur ulang produk autofagi.<sup>3</sup> Proses autofagi dapat dievaluasi menggunakan penanda molekuler terutama protein spesifik yang menandakan peningkatan kematangan autofagosom yaitu *microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3* (Atg8/LC3) dan *sequestosome 1* (p62/SQSTM1).<sup>5</sup>

Proses autofagi akan teraktivasi karena adanya respon untuk pemeliharaan homeostasis secara seluler. Respon tersebut merupakan kompensasi dan adaptasi metabolik terhadap perubahan aktivitas sistem intraseluler dan kerusakan komponen sel, yang diinduksi oleh stres pada tubuh. Stres yang terjadi antara lain adalah latihan fisik.<sup>6</sup>

Latihan fisik adalah aktivitas yang dilakukan secara terencana, teratur dan berulang-ulang dalam intensitas tertentu untuk meningkatkan taraf kesehatan.<sup>7</sup> Menurut Audiffren *et al* (2009) latihan fisik dikategorikan menjadi latihan fisik akut dan latihan fisik kronik. Latihan fisik akut merupakan latihan yang dilakukan dalam satu sesi selama beberapa hari, sementara latihan fisik kronik merupakan aktivitas fisik dengan sesi yang berjumlah banyak dan dilakukan secara berulang kali sepanjang waktu, biasanya beberapa kali setiap minggu dengan durasi yang bervariasi.<sup>8</sup> Latihan fisik yang dilakukan secara rutin merupakan salah satu pencegahan penurunan fungsi imunitas akibat proses penuaan pada tubuh lansia.<sup>9</sup>

Pada penelitian Kwon *et al* (2019), pemberian latihan fisik pada organ hepar tikus yang berperan penting juga dalam sistem imunitas tubuh, menyebabkan peningkatan dari aktivitas autofagi pada hepar, ditandai dengan adanya peningkatan dari ekspresi protein LC3 pada pemeriksaan immunoblot. Selain itu terdapat penurunan ekspresi protein p62 yang menandakan bahwa apabila autofagi terhambat maka akan terjadi akumulasi p62 sementara apabila autofagi terinduksi maka akan terjadi penurunan jumlah protein p62.<sup>10</sup>

Sementara pada penelitian Memme *et al* (2016), terdapat pengaruh latihan fisik kronik terhadap autofagi pada otot skelet selama 7 hari, ditandai dengan peningkatan dari ekspresi mRNA p62 pada hari ke 1 sampai hari ke 2, kemudian pada hari ke 2 sampai hari ke 7 pemberian stimulasi latihan fisik terdapat penurunan ekspresi mRNA p62, bersama peningkatan dari ekspresi protein LC3 pada hari ke 3 sampai hari ke 7. Hal tersebut menandakan bahwa terdapat proses adaptasi dari transkripsi gen autofagi setelah pemberian latihan fisik kronik yang berulang untuk pembentukan protein terkait autofagi.<sup>11</sup>

Namun penelitian tentang efek latihan fisik terhadap ekspresi gen LC3 dan p62 pada organ limpa masih terbatas. Oleh karena pada penelitian sebelumnya

hanya memperlihatkan peningkatan ekspresi protein serta gen LC3 dan penurunan protein serta gen p62 pada organ hepar dan otot skelet, maka akan dilakukan penelitian ini untuk mengetahui apakah terdapat peningkatan dari ekspresi gen LC3 dan penurunan dari gen p62 untuk menilai aktivitas dari autofagi akibat latihan fisik kronik intensitas sedang.

## **1.2 Identifikasi Masalah**

Identifikasi masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apakah latihan fisik kronik intensitas sedang dapat meningkatkan ekspresi gen LC3 pada limpa tikus galur Wistar tua.
2. Apakah latihan fisik kronik intensitas sedang dapat menurunkan ekspresi gen p62 pada limpa tikus galur Wistar tua.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh latihan fisik kronik dengan intensitas sedang terhadap peningkatan ekspresi gen LC3 dan penurunan ekspresi gen p62 pada limpa tikus galur Wistar tua.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat Akademik**

Dengan dilakukannya penelitian ini, dapat meningkatkan ilmu pengetahuan terutama dalam bidang biologi molekuler serta imunologi tentang pengaruh latihan fisik kronik dengan intensitas sedang terhadap ekspresi gen LC3 dan p62 pada limpa tikus galur Wistar tua.

## 1.4.2 Manfaat Praktis

Memberi rekomendasi mengenai latihan fisik dengan intensitas sedang yang berguna untuk sistem imun tubuh manusia yang diatur oleh organ limpa termasuk untuk golongan usia dewasa tua.

## 1.5 Kerangka Pemikiran dan Hipotesis

### 1.5.1 Kerangka Pemikiran

Latihan fisik dikategorikan menjadi latihan fisik dengan intensitas ringan, intensitas sedang, dan intensitas berat berdasarkan pengukuran subjektif berupa jumlah volume oksigen maksimal ( $VO_2\text{max}$ ) dan denyut jantung maksimal ( $HR\text{max}$ ). Latihan fisik intensitas ringan memiliki batas 20-39%  $VO_2\text{max}$  dan 40-54%  $HR\text{max}$ , latihan fisik intensitas sedang memiliki batas 40-59%  $VO_2\text{max}$  dan 55-69%  $HR\text{max}$ , sedangkan latihan fisik intensitas berat memiliki batas 60-84%  $VO_2\text{max}$  dan 70-89%  $HR\text{max}$ .<sup>12</sup> Menurut WHO (2020), lansia direkomendasikan untuk melakukan aktivitas fisik secara teratur, dengan durasi waktu 150-300 menit untuk aktivitas fisik aerobik intensitas sedang atau 75-150 menit untuk intensitas yang lebih berat maupun kombinasi keduanya selama seminggu.<sup>13</sup>

Latihan fisik adalah jenis stres fisiologis yang mempengaruhi konsentrasi sitokin, hormon, faktor pertumbuhan, dan status oksidatif tubuh. Latihan fisik juga dapat menimbulkan stress metabolik seperti peningkatan kadar stress oksidatif, insufisiensi nutrisi, ketidakseimbangan energi dan kalsium intraseluler. Dari berbagai faktor tersebut, maka akan terjadi status energi yang rendah dimana terdapat peningkatan rasio AMP/ADP dibandingkan dengan ATP, yang akan mengaktivasi *adenosine monophosphate activated gen kinase* (AMPK) untuk menginduksi terjadinya autofagi.<sup>14</sup>

Selama proses autofagi, peristiwa konjugasi memerlukan gen-gen terkait autofagi seperti LC3 yang berfungsi untuk mendorong terjadinya ekspansi dan elongasi fagofor menjadi autofagosom dan pemilihan kargo autofagi melalui proses konjugasi lipid LC3-I menjadi LC3-II oleh *phosphatidylethanolamine*. Pada proses

autofagi selektif, terjadi pemilihan kargo selama tahap ekspansi. Protein reseptor spesifik substrat yaitu p62 dapat berinteraksi dengan protein dalam organel dan merekrut autofagosom. Protein ini bertindak sebagai adaptor molekuler, karena dilengkapi dengan daerah yang berinteraksi dengan ubiquitin (Ub) dan LC3. Organel yang sudah tidak berfungsi seperti mitokondria atau agregat protein akan ditandai oleh Ub untuk didegradasi kemudian dikenali oleh protein adaptor p62 yang akan mengikat Ub dan menyatukan bahan yang akan didegradasi ke dalam autofagosom melalui interaksi reseptor dengan LC3-II.<sup>14</sup>

Pada fase induksi dari fagofor akan dimediasi oleh kompleks *unc-51-like kinase 1* (ULK1) yang teraktivasi oleh AMPK selama latihan fisik dengan secara langsung difosforilasi dalam Ser-555. Fase selanjutnya yaitu nukleasi dari membran autofagosom yang melibatkan Beclin-1 kemudian terjadi reaksi konjugasi untuk ekspansi dari fagofor menjadi autofagosom dengan proses lipidisasi LC3-I menjadi LC3-II. Lipidisasi LC3 berkaitan dengan pembentukan dan peningkatan jumlah autofagosom pada tahap awal autofagi, sehingga peningkatan dari ekspresi gen LC3 dapat menjadi marker tahap awal dari proses aktivasi autofagi. Namun, LC3 hanya menandakan adanya autofagosom dalam sel, dan rasio LC3 II/I merupakan indikator dari sintesis autofagosom yang tidak bisa menyatakan secara spesifik bahwa fluks autofagi teraktivasi atau dihambat.<sup>13</sup>

Untuk mendapatkan gambaran yang lebih baik tentang fluks autofagi, pengukuran LC3 perlu dikombinasikan dengan marker lainnya seperti p62, yang menandakan adanya degradasi autofagosom. Pemilihan dan pengenalan substrat autofagi akan melibatkan protein adaptor yaitu p62 yang akan berinteraksi dengan *ubiquitin* (Ub) dan akan berikatan dengan LC3-II kemudian akan didegradasi bersama substrat lain oleh autofagosom setelah berfusi dengan lisosom, sehingga peningkatan dari aktivitas autofagi ditandai dengan adanya penurunan ekspresi p62.<sup>14</sup>

Proses autofagi pada jaringan limpa berperan penting dalam pemeliharaan sistem kekebalan tubuh. Tanpa adanya gen terkait autofagi, maka limfosit T CD4 + dan CD8 + akan mengalami apoptosis di perifer disertai penurunan jumlah pada organ limfoid sekunder, dan kegagalan untuk berproliferasi sebagai respons

terhadap stimulasi pada reseptor antigen sel T. Autofagi berperan penting pada fungsi, diferensiasi, proliferasi, aktivasi dan homeostasis dari komponen sistem imun yaitu sel limfosit T, sel B, sel NK, makrofag dan sel dendritik yang berada di bagian jaringan limfatik pada limpa yaitu *pulpa alba*. Autofagi juga berperan pada peningkatan yang optimal dari sinyal imunostimulator melalui presentasi patogen dan antigen kepada sel imun seperti APC dan sel limfosit T CD8<sup>+</sup> sitotoksik, sehingga inisiasi dari respon imun adaptif dapat berjalan lebih lancar.<sup>3,15</sup>

### 1.5.2 Hipotesis

1. Terdapat pengaruh latihan fisik kronik dengan intensitas sedang terhadap peningkatan ekspresi gen LC3 pada limpa tikus galur Wistar tua
2. Terdapat pengaruh latihan fisik kronik dengan intensitas sedang terhadap penurunan ekspresi gen p62 pada limpa tikus galur Wistar tua.

