

OLAHRAGA INTENSITAS SEDANG TERHADAP WAKTU PEMBEKUAN DARAH PADA TIKUS PUTIH DENGAN PAJANAN ASAP ROKOK

Lalu Win

Abstrak: Asap rokok merupakan aerosol heterogen dari pembakaran tembakau dan pembungkusnya. Setiap batang rokok mengandung lebih dari 4000 bahan kimia, 400 diantaranya beracun dan kira-kira 43 diantaranya bersifat karsinogenik. Rokok mempunyai hubungan erat dengan kanker paru, emfisema dan bronkhitis kronis. Selain itu, rokok juga merupakan salah satu faktor risiko terjadinya aterosklerosis. Salah satu faktor risiko baru yang belum sepenuhnya diketahui adalah homosistein. Merokok merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan peningkatan kadar homosistein plasma. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh olahraga intensitas sedang terhadap waktu pembekuan darah tikus putih yang di pajan asap rokok. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *postest only control group design*. Sampel adalah 30 ekor tikus putih (*Rattusnorvegicus*) jantan dewasa yang telah berumur 2 sampai 3 bulan dengan berat badan 160-175gr, dengan kondisi sehat fisik. Tikus dibagi secara acak dalam 3 kelompok: Kelompok kontrol yang tidak diberikan pajanan asap rokok dan olahraga hanya diletakkan pada air dangkal pada saat K2 berenang. Kelompok yang diberikan pajanan asap rokok tanpa olahraga Tikus diberikan pajanan asap rokok kretek sebanyak 2 batang/ hari dengan menggunakan *smooking pump*, dengan menempatkan tikus pada kotak kaca. Meletakkan tikus pada air dangkal pada saat K2 berenang. Kelompok yang diberikan pajanan asap rokok dan olahraga 30 menit setelah diberikan pajanan asap rokok, tikus direnangkan selama 80% waktu kemampuan renang maksimal dengan beban 6% berat badan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pajanan asap rokok memperpendek waktu pembekuan darah pada tikus putih. Olahraga intensitas sedang mencegah pemendekan waktu pembekuan darah pada tikus putih dengan pajanan asap rokok. Kesimpulan dari penelitian olahraga intensitas sedang terhadap waktu pembekuan darah pada tikus putih dengan pajanan asap rokok.

Kata Kunci : Asap rokok, Olah raga, Pembekuan darah.

EXERCISE INTENSITY ARE FREEZING TIME OF BLOOD IN RATS WITH WHITE SMOKE EXPOSURE

Abstract: Cigarette smoke is a heterogeneous aerosols from burning tobacco and wrapping. Each cigarette contains over 4000 chemicals, 400 of them are poisonous and approximately 43 of which are carcinogenic. Smoking is closely linked with lung cancer, emphysema and chronic bronchitis. In addition, smoking is also a risk factor for atherosclerosis. One of the new risk factors are not fully known is homocysteine. Smoking is one of the factors that can lead to increased plasma homocysteine levels. The purpose of this study was to know the influence of moderate intensity exercise on blood clotting time in rats that pajan smoke. The design of the study is a posttest only control group design. The sample is 30 rats (*Rattusnorvegicus*) adult males over the age of 2 to 3 months with severe badan 160-175gr, with a healthy physical condition. Rats were randomly divided into 3 tiem: The control group that was not given exposure to cigarette smoke and exercise just put in shallow water when swimming K2. The group that was given exposure to cigarette smoke without exercise Mice given exposure to cigarette smoke as much as 2 cigarettes / day using a pump smooking, by placing the mice in a glass box. Putting rats in shallow water when swimming K2. The group that was given exposure to cigarette smoke and exercise for 30 minutes after being given the exposure to cigarette smoke, mice direnangkan for 80% of the time swimming ability 6% maximum load weight. The results showed that exposure to cigarette smoke

shortening clotting time in rats. Moderate intensity exercise prevented shortening clotting time in rats with exposure to cigarette smoke. Conclusions from the study of moderate intensity exercise on blood clotting time in rats with exposure to cigarette smoke.

Keywords : Cigarette Smoke, Exercise, Blood Clotting.

LATAR BELAKANG

Data epidemi rokok di dunia menunjukkan bahwa rokok menyebabkan kematian lebih dari lima juta orang setiap tahunnya (Depkes RI, 2010). Tingginya populasi dan konsumsi rokok menempatkan Indonesia menduduki urutan ke-5 tertinggi di dunia setelah Cina, Amerika Serikat, Rusia dan Jepang dengan perkiraan konsumsi 220 milyar batang pada tahun 2005 (Depkes RI, 2010). Asap rokok merupakan aerosol heterogen dari pembakaran tembakau dan pembungkusnya. Setiap batang rokok mengandung lebih dari 4000 bahan kimia, 400 diantaranya beracun dan kira-kira 43 diantaranya bersifat karsinogenik (Yoga, 2001 dalam Christyaningsih, 2002). Persentase merokok di Indonesia sendiri mencapai 24,2% pada orang dewasa dan 25,3% pada remaja pada keseluruhan populasi (WHO, 2009). Rokok mempunyai hubungan erat dengan kanker paru, emfisema dan bronkhitis kronis. Selain itu, rokok juga merupakan salah satu faktor risiko terjadinya aterosklerosis (Halliwell,1999). Aterosklerosis terjadi melalui suatu proses yang kompleks dan multifaktorial. Berdasarkan studi epidemiologis yang banyak dilakukan, menetapkan bahwa faktor risiko aterosklerosis yang penting seperti merokok, hipertensi, diabetes mellitus, dan riwayat keluarga. Pada kenyatannya banyak penderita terkena serangan jantung maupun stroke tanpa riwayat konvensional ini (Wijaya, 1998). Para peneliti mulai mendalami beberapa

faktor risiko lain yang menyebabkan aterosklerosis. Salah satu faktor risiko baru yang belum sepenuhnya diketahui adalah homosistein. Merokok merupakan salah satu faktor yang dapat menyebabkan peningkatan kadar homosistein plasma (Verhoef, et al., 2002). Homosistein merupakan senyawa antara yang dihasilkan pada metabolisme metionin, suatu asam amino essensial yang terdapat dalam beberapa bentuk di plasma (Pusparini,2002). Homosistein mempengaruhi beberapa faktor yang terlibat dalam kaskade pembekuan darah, seperti menurunkan aktivitas anti trombin (Meyer ,1996 dalam Pusparini, 2002). Trombin adalah suatu serin protease yang terbentuk dari prekusornya di sirkulasi yaitu protrombin. Trombin katalisasi perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Trombin memiliki efek lain, meliputi aktivasi trombosit, sel endotel, leukosit melalui reseptor yang terangkai ke protein G (Sherwood ,2001). Homosistein juga menghambat aktivitas kofaktor trombomodulin dan aktivasi protein C, meningkatkan aktivitas faktor V dan faktor XII, mengganggu sekresi faktor von willebrand oleh endotel dan mengurangi sintesis prostasiklin (Meyer ,1996 dalam Pusparini,2002). Prostatiklin memiliki efek anti agregasi (Sherwood ,2001).Berkurangnya sintesis prostasiklin akan menyebabkan terjadinya trombosis, namun hasil ini masih dipertentangkan (Mayer ,1996 dalam Pusparini,2002). Mayer menyatakan bahwa homosistein meningkatkan metabolisme asam arakhidonat trombosit normal,

sehingga terjadi peningkatan trombosit A2, akibatnya akan terjadi akumulasi yang berlebihan dari agregator trombosit yang memungkinkan untuk terjadinya trombus (Pusparini, 2002). Penelitian Spalver dkk (2004) menunjukkan bahwa homosistein mempercepat pembentukan trombus melalui peningkatan kaskade pembekuan darah dan peningkatan agregasi trombosit. Homosistein juga menekan trombolisis alami melalui penurunan aktivator plasminogen jaringan. Hal yang paling penting untuk mencegah pembekuan dalam sistem vaskuler normal adalah pertama kehalusan endotel yang mencegah kontak aktivasi sistem pembekuan intrinsik (Guyton & Hall 2008). Prostatiklin juga dapat mencegah pembekuan darah dalam sistem vaskuler normal. Prostatiklin merupakan suatu zat yang menghambat agregasi trombosit (Sherwood, 2001). Homosistein menyebabkan kerusakan pada endotel, kerusakan tersebut menyebabkan penurunan produksi prostatiklin yang dapat menyebabkan bekuan darah dalam sistem vaskuler normal sehingga terjadi trombus. Hubungan peningkatan homosistein dengan penyakit vaskuler pertama kali dikemukakan oleh Mc Cully pada tahun 1969, melaporkan adanya aterosklerosis disertai trombus arteri pada otopsi dua orang anak yang mempunyai kadar homosistein darah dan urin tinggi. Berbagai penelitian epidemiologi telah dilakukan sebagai konfirmasi terhadap hipotesis Mc Cully tersebut, hasil penelitian menunjukkan bahwa hiperhomosisteinemia merupakan faktor risiko terjadinya aterosklerosis dan aterotrombus (Pusparini, 2002). Peningkatan kadar homosistein dalam darah telah ditegaskan sebagai faktor risiko

yang dapat menyebabkan terjadinya trombus dan penyakit vaskuler (Clarke, et al., 1991). Hiperhomosisteinemia akan meningkatkan kejadian aterotrombus vaskuler pada individu dengan faktor risiko yang lain seperti kebiasaan merokok dan hipertensi (Graham, et al., 1997). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hiperhomosistein merupakan faktor risiko yang signifikan terhadap aterosklerosis dan terjadinya penyakit jantung koroner (Christen, et al., 2000; Irawan, dkk., 2005). Beberapa gaya hidup seperti merokok, konsumsi alkohol, kopi berlebihan, dan kurang olahraga dapat meningkatkan kadar homosistein (Verhoef, et al., 2002 dalam Surjadjaja, 2005). Kegiatan olahraga/ latihan fisik sangat bermanfaat bagi kesehatan. Latihan fisik dapat terbagi dalam berbagai macam bentuk. Salah satu pembagian tersebut adalah berdasarkan pemakaian oksigen atau sistem energi dominan yang digunakan dalam suatu latihan, yaitu latihan aerobik dan anaerobik. Latihan aerobik adalah latihan yang menggunakan energi yang berasal dari pembakaran dengan oksigen, dan membutuhkan oksigen tanpa menimbulkan hutang oksigen yang tidak terbayar. Contoh latihan aerobik adalah lari, jalan, treadmill, bersepeda, renang (Sukmaningtyas, dkk., 2004). Hasil penelitian Tomohiro, et al., (2006): latihan aerobik teratur menurunkan homosistein plasma pada hiperhomosistein dari 23,1 (12.1) menjadi 19,6 (7.6) $\mu\text{mol/l}$. Pengaruh olahraga intensitas sedang terhadap waktu pembekuan darah pada tikus putih dengan pajanan asap rokok sejauh ini belum diketahui.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian *eksperimental laboratories* untuk mengetahui pengaruh olahraga intensitas sedang terhadap waktu pembekuan darah tikus putih yang di pajan asap rokok dengan memberikan perlakuan pada kelompok eksperimen dan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *postest only control group design* (Zainuddin, 2000).

Populasi, Sampel, Besar sampel dan Teknik Pengambilan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattusnorvegicus*) jantan dewasa yang telah berumur 2 sampai 3 bulan dengan berat badan 160-175gr, dengan kondisi sehat fisik. Sampel dari penelitian ini adalah darah tikus putih (*Rattusnorvegicus*) jantan dewasa. Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer* (Hanafiah, 1991) :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(3-1)(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 8,5 \text{ dibulatkan menjadi } 9 \text{ ekor}$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok

r = jumlah replikasi

jadi jumlah replikasi minimal perkelompok adalah = 9. Sampel penelitian dalam menghindari kemungkinan hewan coba mati, digunakan $(f) \pm 10\%$ sehingga replikasi dikalikan $1/1 - f$ (Zainudin, 1998 mengutip Higgins dan Kleinbaun, 1995), sehingga: $1/(1-0,1) \times 9 = 9,9$ dibulatkan menjadi 10 ekor. Replikasi pada penelitian ini adalah 10ekor/ kelompok dan jumlah sampel keseluruhan 30 ekor.

Teknik pengambilan sampel : Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* (Sugiyono, 2007). Kriteria sampel yang memenuhi, yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan dewasa dengan berat badan 150-175 g, berumur 2 sampai 3 bulan, kondisi sehat fisik.

Tempat : Tahapan penelitian pemeliharaan hewan coba hingga pengambilan unit analisis dan pemeriksaan waktu pembekuan darah dilakukan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

Variabel Penelitian

Variabel independent : olahraga dan pajanan asap rokok.

Variabel dependen : waktu pembekuan darah .

Variabel moderator : berat badan tikus

Variabel kendali : karakteristik Binatang percobaan : umur tikus, jenis kelamin tikus, dan strain tikus bahan makanan tikus putih: pakan standar untuk tikus putih, cara perlakuan, cara pemberian pajanan asap rokok, cara pemeriksaan waktu pembekuan darah.

Bahan Penelitian dan Instrumen Penelitian

Bahan penelitian : Hewan coba adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar, jantan, umur 2 sampai 3 bulan 150-175g, dengan kondisi sehat fisik. Pemilihan hewan coba jenis ini dikarenakan beberapa alasan yaitu: (1) digunakan dalam penelitian sebelumnya yang terkait, (2) mudah dalam pemberian perlakuan dan pemeliharaan, struktur biologi mirip dengan manusia (kusumawati, 2004). Kesehatan hewan coba berbadan sehat dengan ciri-ciri fisik sebagai berikut: bermata jernih, bulu

mengkilat, gerakan aktif/lincah, feses baik, tidak lembek, berat badan tidak turun 10% selama aklimatisasi. Rokok kretek merek tertentu yang sama dengan kadar nikotin : 2,3 mg dantar : 39 mg. Ketamin HCL injeksi, dosis yang digunakan 20-40 mg/kgBB untuk anestesi hewan coba. **Instrumen penelitian** : kandang ukuran 40 x 30 x 15 cm, (2) Timbangan *torsion balance* (3) spidol untuk memberi tanda pada tikus,(4) Spuit untuk mengambil darah dan pemberian anaestesi, (5) Tabung reaksi tempat pemeriksaan waktu pembekuan darah,(6)stopwatch 10 digit untuk menentukan waktu pembekuan darah dan waktu renang, (7) kotak kaca 60 cm x 40 cm sebagai tempat pajanan asap rokok, (8) *smoking pump* untuk pajanan asap rokok, (6) Ember renang dengan diameter 50 cm, tinggi 60 cm dengan kedalaman air 40 cm.

Unit analisis : Darah sebanyak 3 ml.

Cara Pengumpulan Data :

Aklimatisasi dan Perlakuan Hewan Coba :

Aklimatisasi adalah pemeliharaan hewan coba dengan kondisi yang sama agar dapat beradaptasi. Aklimatisasi dilakukan selama 1 minggu (7 hari). Hewan coba yang sakit atau mati, akan dikeluarkan dari penelitian.

Tikus dibagi secara acak dalam 3 klompok :

1). Kelompok kontrol

Tidak diberikan pajanan asap rokok dan olahraga hanya diletakkan pada air dangkal pada saat K2 berenang

2). Kelompok yang diberikan pajanan asap rokok tanpa olahraga

Tikus diberikan pajanan asap rokok kretek sebanyak 2 batang/ hari dengan menggunakan *smooking pump*, dengan menempatkan tikus pada kotak kaca. Meletakkan tikus pada air dangkal pada saat K2 berenang.

3). Kelompok yang diberikan pajanan asap rokok dan olahraga

30 menit setelah diberikan pajanan asap rokok, tikus direnangkan selama 80% waktu kemampuan renang maksimal dengan beban 6% berat badan.

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba :

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan sebuah kandang yang ada di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga surabaya. Kandang terbuat dari plastik yang dimodifikasi dan ditutup dengan anyaman kawat aluminium dan beralaskan sekam. Sekam diganti setiap hari untuk menjaga kebersihan kandang dan kesehatan hewan coba. Ukuran kandang 40 x 30 x 15 cm , setiap kandang diisi 3-4 ekor hewan coba.

Cara pengambilan sampel darah tikus :

Pengambilan sampel darah berasal dari jantung tikus, dimana sebelumnya dilakukan anestesi dengan menggunakan ketamin HCl injeksi dengan dosis 20-40 mg/Kg BB pada daerah kaki belakang, kemudian dilakukan dekapitasi (Kusumawati, 2004). Setelah mata meredup dan badan tidak bergerak, kemudian kulit perut diinsisi dengan pisau bedah dan setelah terlihat jantungnya, dengan spuit 5 ml diambil darah dari jantung sebanyak 3 ml. Darah dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang telah disiapkan masing-masing 1 ml untuk memeriksa waktu pembekuan darah.

Cara Pengolahan dan Analisis Data : Data hasil penelitian ditabulasi dan dianalisis dengan menggunakan program *Statistical Product and Service Solution (SPSS) for Windows XP* yang meliputi analisis statistik : (1) Analisis deskriptif, (2) analisis uji normalitas distribusi data, (3) uji homogenitas, (4) analisis analitik dengan *Ujianova one w*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

HASIL

Data Penelitian

Penelitian yang dilakukan memiliki data berupa variabel bebas yang meliputi : olahraga intensitas sedang dan pajanan asap rokok, variabel tergantung meliputi: waktu pembekuan darah (menit), sedangkan variabel moderator berupa berat badan tikus (gram). Data hasil penelitian selanjutnya diolah dengan uji normalitas data dengan menggunakan *Kolomogorov smirnov*, uji homogenitas menggunakan *Anova* satu arah, uji untuk membandingkan pengaruh antar variabel menggunakan uji statistik *Anova one way*.

Analisis dan Hasil Penelitian

Uji homogenitas berat badan

Berat badan merupakan data berskala rasio. Sebelum dilakukan pengujian homogenitas menggunakan *anovaone way* yang mensyaratkan data berdistribusi normal, maka terlebih dahulu dilakukan penghitungan normalitas data dengan menggunakan *kolomogorov smirnov*. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Normalitas Berat Badan Hewan Coba Kelompok Perlakuan Tahun 2012

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	BB Hewan Coba	Waktu Pembekuan Darah
N	30	30
Normal Parameters	Mean	167,67
	Std. Deviation	5,68
Kolmogorov-Smirnov Z	1,06	0,54
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,22	0,93

Hasil uji normalitas menunjukkan harga $p=0,22 (> 0,05)$ pada kelompok 1-3 dengan jumlah sampel 30 ekor. Maka dapat disimpulkan seluruh data berat badan berdistribusi normal.

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah sampel pada penelitian ini memiliki kondisi awal yang sama antara semua kelompok dan juga untuk memastikan bahwa berat badan sebagai variabel moderator tidak mempengaruhi perlakuan yang diberikan. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Homogenitas Berat Badan Hewan Coba Pada Kelompok Perlakuan Tahun 2012

	BB Hewan Coba
N	30
Kolmogorov-Smirnov Z	1,06
Asymp. Sig. (2-tailed)	0,22

Uji homogenitas yang telah dilakukan menunjukkan hasil $p=0,22 (>0,05)$ yang berarti tidak ada perbedaan yang bermakna. Maka dapat disimpulkan bahwa ketiga kelompok hewan coba adalah homogen.

Deskripsi data variabel tergantung

Tabel 3. Nilai Rata-Rata Dan Standar Deviasi Variabel Tergantung (Waktu Pembekuan Darah Tahun 2012)

Perlakuan	N	Mean	Std. Deviation
P0	10	4,85	0,43
P1	10	3,76	0,38
P2	10	4,87	0,48
Total	30	4,49	0,67

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata waktu pembekuan darah yang terpanjang (4,87) adalah hewan coba dengan perlakuan pajanan asap rokok dan olahraga (P2), sedangkan rerata waktu pembekuan darah terpendek (3,76) adalah hewan coba dengan perlakuan pajanan asap rokok (P1).

Uji normalitas variabel tergantung

Uji normalitas merupakan syarat untuk uji statistik lebih lanjut. Apabila data berdistribusi normal, maka digunakan statistik parametrik. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *kolmogorov-smirnov test*. Hasil uji normalitas tampak pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Normalitas Variabel Tergantung (Waktu Pembekuan Darah) Pada Hewan Coba Pada Kelompok Perlakuan Tahun 2012

		Waktu Pembekuan Darah
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	4,49
	Std. Deviation	0,67
Most Extreme Differences	Absolute	0,10
	Positive	0,07
	Negative	-0,10
Kolmogorov-Smirnov Z		0,54
Asymp. Sig. (2-tailed)		0,93

Hasil uji normalitas menunjukkan harga $p=0,93(>0,05)$, maka dapat disimpulkan data variabel

Tabel 7. Hasil Analisa Post Hoc Test Dengan Anova Terhadap Waktu Pembekuan Darah Hewan Coba Pada Kelompok Antar Perlakuan Tahun 2012
Multiple Comparisons

tergantung berdistribusi normal. Uji homogenitas hasil pemeriksaan waktu pembekuan darah dengan levene test ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Uji Homogenitas Varian Tergantung (Waktu Pembekuan Darah) Pada Kelompok Perlakuan Tahun 2012

Waktu Pembekuan darah			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0,31	2	27	0,73

Berdasarkan uji homogenitas waktu pembekuan darah dengan *Levene test*, nilai $p=0,73 (P>0,05)$. Hal ini menunjukkan bahwa waktu pembekuan darah variannya homogen.

Analisis pengaruh variabel bebas dan variabel tergantung dengan Anova one way

Pengujian pengaruh variabel bebas dengan variabel tergantung menggunakan *anova one way*. Hasil uji dapat dilihat pada table 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Waktu Pembekuan Darah Hewan Coba Pada Kelompok Perlakuan Tahun 2012

ANOVA					
Waktu Pembekuan darah					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8,13	2	4,06	21,68	0,00
Within Groups	5,06	27	0,19		
Total	13,19	29			

Hasil pengujian didapatkan $p=0,000 (p<0,05)$, hal ini menunjukkan bahwa waktu pembekuan darah pada hewan coba terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil analisa data waktu pembekuan darah pada kelompok antar perlakuan (p_0, p_1, p_2) dilakukan *post hoc test* dengan *anova*, dapat dilihat pada tabel 7.

Dependent Variable: Waktu Pembekuan darah

	(I) Hewan Coba	(J) Hewan Coba	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
<i>Tukey HSD</i>	P0	P1	1,10*	0,19	0,00
		P2	-0,01	0,19	1,00
	P1	P0	-1,10*	0,19	0,00
		P2	-1,11*	0,19	0,00
	P2	P0	0,01	0,19	1,00
		P1	1,11*	0,19	0,00
<i>Bonferroni</i>	P0	P1	1,10*	0,19	0,00
		P2	-0,01	0,19	1,00
	P1	P0	-1,10*	0,19	0,00
		P2	-1,11*	0,19	0,00
	P2	P0	0,01	0,19	1,00
		P1	1,11*	0,19	0,00

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa ada perbedaan rata-rata waktu pembekuan darah yang bermakna antar kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (p0) dengan kelompok yang diberikan pajanan asap rokok (p1) dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Waktu pembekuan darah antara kelompok perlakuan pajanan asap rokok (p1) dengan kelompok perlakuan pajanan asap rokok dan renang (p2) terdapat perbedaan yang bermakna dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Sedangkan waktu pembekuan darah pada kelompok perlakuan pajanan asap rokok dan renang (p2) dengan kelompok kontrol yang tidak diberi perlakuan (p0) tidak terdapat perbedaan rata-rata waktu pembekuan darah yang bermakna dengan nilai $p=1,00$ ($>0,05$).

PEMBAHASAN

Merokok merupakan faktor risiko utama terhadap penyakit kardiovaskuler. Merokok akan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler meliputi gangguan hemostatik, abnormalitas lipid, dan disfungsi endotel (Sussana, dkk, 2003).

Mekanisme homeostasis melibatkan beberapa sistem fisiologi yang saling berkaitan. Salah satu Fungsi utama homeostasis adalah menjaga keenceran darah (*blood fluidity*) sehingga darah dapat mengalir dalam sirkulasi dengan baik (Bakta, 2000). Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan pengaruh pajanan asap rokok terhadap waktu pembekuan darah dan pengaruh olahraga intensitas sedang terhadap waktu pembekuan darah pada tikus putih dengan pajanan asap rokok. Sampel yang digunakan adalah hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*), hal ini pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya oleh Davis (2004) untuk menaikkan homosistein dengan memberi pajanan asap rokok pada tikus putih. Jenis kelamin yang dipilih jantan untuk homogenitas sampel dan karena pada tikus betina terdapat siklus *estrous* yang diduga dapat mempengaruhi profil hematologi tikus (Lord & Murphy, 1972). Dalam penelitian ini Perlakuan olahraga intensitas sedang, diberikan dalam bentuk renang dengan beban. Perlakuan olahraga intensitas sedang pernah dilakukan pada penelitian sebelumnya untuk meningkatkan

jumlah trombosit (Lister, 2008). Uji normalitas pada penelitian ini menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel yang dilakukan pada semua kelompok yaitu variabel moderator berat badan dan variabel dependen waktu pembekuan darah. Uji normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah sebuah data mengikuti atau mendekati distribusi normal. Uji normalitas merupakan salah satu prasyarat dalam menentukan uji statistik parametrik atau non parametrik. Hasil uji normalitas berat badan hewan coba tikus putih dan waktu pembekuan darah pada penelitian ini menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas data dengan *Lavene test* pada variabel dependen menunjukkan bahwa waktu pembekuan darah pada ketiga kelompok homogen ($p > 0,05$). Jumlah kelompok dalam penelitian ini terdiri dari tiga kelompok, terdiri dari kelompok kontrol (K0), kelompok dengan pajanan asap rokok (K1), kelompok dengan pajanan asap rokok dan olahraga. Salah satu Penyakit kardiovaskular yang mempunyai hubungan erat dengan gangguan pada mekanisme hemostasis adalah aterosklerosis. Aterosklerosis diawali oleh perlukaan pada sel endotelial (Ross, 1993). Homosistein merupakan salah satu penyebab perlukaan sel endotelial tersebut, karena homosistein merupakan asam amino yang sangat reaktif, bersifat vaskulotoksik dan trombogenik (Herzlich, 1996). Menurut Verhoef, et al (2002) dalam Surjadjaja (2005), merokok merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar total homosistein dalam plasma. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hiperhomosisteinemia merupakan faktor risiko untuk terjadinya aterosklerosis dan aterotrombosis.

Kurang olahraga merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi peningkatan kadar homosistein (Verhoef, et al., 2002). Hasil penelitian Tomohiro, et al., (2006): latihan aerobik teratur menurunkan homosistein plasma pada hiperhomosistein. Peningkatan aktivitas tubuh dengan cara berolah raga secara teratur dapat menurunkan faktor risiko dari penyakit kardiovaskular, dan sebaliknya kurang melakukan aktivitas fisik merupakan faktor penting peningkatan risiko pada penyakit kardiovaskular (Rattu, 2000). Hasil analisis deskriptif mengenai waktu pembekuan darah yang ditunjukkan tabel 5.1 pada hewan coba kelompok kontrol (K0) dibandingkan dengan kelompok dengan pajanan asap rokok (K1) menunjukkan bahwa rerata waktu pembekuan darah K1 lebih pendek dibandingkan K0 dengan hasil uji analitik menggunakan analisis statistik *anova one way* menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai $p = 0,00$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pajanan asap rokok memperpendek waktu pembekuan darah pada hewan coba. Hasil penelitian ini mendukung penelitian yang dilakukan Ivan U.H, (2008) dengan kesimpulan yang didapat dari hasil analisis data dan pembahasan adalah terdapat perbedaan kecepatan waktu perdarahan yang bermakna antara mencit yang dipajani rokok dengan mencit yang tidak dipajani asap rokok dan terbukti bahwa merokok mempengaruhi waktu perdarahan yaitu memperpendek waktu perdarahan sebelumnya bahwa pajanan asap rokok memperpendek waktu perdarahan. Hal ini sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa merokok merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kadar total homosistein dalam plasma (Verhoef et al

2002). Studi menunjukkan bahwa perokok memiliki kadar homosistein yang lebih tinggi dibandingkan non-perokok. Peningkatan homosistein sesuai dengan jumlah rokok yang dihisap (Archana, 2000). Perokok cenderung memiliki kadar vitamin B6, asam folat dan B12 lebih rendah, yang semuanya mempengaruhi kadar homosistein (Callaghan, 2002). Defisiensi asam folat, vitamin B6, B12 dapat menyebabkan terjadinya hiperhomosisteinemia (Walsh, 2002, dalam Surjadjaja, 2005). Asam folat berperan pada proses penurunan kadar homosistein dalam darah. Dalam metabolisme homosistein, asam folat sebagai donor metil (dalam bentuk 5 metil tetrahidrofolat) dan vitamin B-12 berperan sebagai ko-enzim. Asam folat merupakan faktor penentu dalam reaksi remetilasi, ketidakhadiran donor metil dalam reaksi tersebut tidak dapat diambil alih oleh vitamin B-12 (Pietrzik dan Bronstrup, 1996 dalam Permadi, 1999). Vitamin B6 atau piridoksal fosfat diperlukan sebagai ko-faktor untuk enzim sistationin β -sintase yang berperan dalam reaksi transulfurasi homosistein menjadi sistationin dan sistein (Martin, 1992). Homosistein juga mempengaruhi beberapa faktor yang terlibat dalam kaskade pembekuan darah, seperti menurunkan aktivitas anti *trombin*. Selain itu homosistein juga menghambat aktivitas kofaktor trombomodulin dan aktivasi protein C, meningkatkan aktivitas faktor V dan faktor XII, mengganggu sekresi faktor von Willebrand oleh endotel dan mengurangi sintesis *prostasiklin*. (Pusparini, 2002). Prostrasiklin merupakan suatu zat yang menghambat agregasi trombosit, prostrasiklin diproduksi oleh endotel normal, dengan demikian sumbat trombosit terbatas

pada defek dan tidak menyebar ke jaringan vaskuler normal (Sherwood, 2001). *Trombin* bekerja sebagai enzim untuk mengubah *fibrinogen* menjadi benang *fibrin* yang merangkai *trombosit*, sel darah dan plasma untuk membentuk bekuan (Guyton & Hall, 2008). *trombin* juga berfungsi (1) mengaktifkan faktor XIII untuk menstabilkan jaring fibrin yang sudah terbentuk; (2) meningkatkan agregasi trombosit, yang pada gilirannya penting untuk proses pembekuan; (3) bekerja melalui umpan balik untuk mempermudah pembentuk *trombin* (Sherwood, 2001). Sebagai akibat dari peningkatan *trombin* dan produksi prostrasiklin mengakibatkan peningkatan agregasi trombosit. Hubungan peningkatan homosistein dengan penyakit vaskuler pertama kali dikemukakan oleh Mc Cully pada tahun 1969. Dilaporkan adanya aterosklerosis disertai trombosis arteri pada otopsi dua orang anak yang mempunyai kadar homosistein darah dan urin yang tinggi. Berdasarkan observasi tersebut Mc Cully membuat hipotesis bahwa hiperhomosisteinemia dapat menyebabkan penyakit vaskuler (Pusparini, 2002). Hasil penelitian yang dilakukan Pusparini (2002) menunjukkan bahwa hiperhomosisteinemia merupakan faktor risiko untuk terjadinya aterosklerosis dan aterotrombosis. Trombosis adalah keadaan dimana terjadi pembentukan massa bekuan darah intravaskuler, yang berasal dari konstituen darah, pada orang yang masih hidup. Dalam pengertian yang luas thrombus dapat bersifat fisiologik disebut sebagai • *hemostatic thrombus*. yang berguna untuk menutup kerusakan dinding pembuluh darah setelah *injury*, dapat juga bersifat patologik, disebut sebagai • *pathologic thrombus*,

thrombus yang justru dapat menyumbat lumen pembuluh darah. Pada umumnya yang dimaksud dengan thrombosis ialah pembentukan *pathologic thrombus* (Deitcher, dkk, 2004). Teori *triad of Virchow's* mengungkapkan, terdapat tiga faktor yang berperan dalam patofisiologi trombosis, yaitu kelainan dinding pembuluh darah, perubahan aliran darah dan perubahan daya beku darah. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa darah penderita trombosis lebih cepat membeku dibandingkan orang normal. Keadaan tersebut disebut hiperkoagulabilitas (Rahajuningsih, 2007). Analisis deskriptif mengenai waktu pembekuan darah (tabel 5.3) menunjukkan bahwa waktu pembekuan darah pada hewan coba dengan perlakuan pajanan asap rokok dan olahraga (K2) lebih panjang dibanding dengan hewan coba dengan pajanan asap rokok (K1). Berdasarkan hasil uji statisti *posthoc* dengan *anova one way* didapatkan bahwa perbedaan tersebut bermakna dengan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$). Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian oleh Hastuti (2007) pada orang coba tentang pengaruh latihan fisik jangka pendek menggunakan metode Harvard step terhadap waktu perdarahan, menyimpulkan bahwa terjadi peningkatan waktu perdarahan setelah latihan fisik jangka pendek. Randeve et al (2002) menyatakan bahwa latihan menurunkan plasma total homosistein. Secara mekanis, pengaruh aktivitas fisik pada konsentrasi homosistein dapat mendukung peningkatan dan penurunan berdasarkan perubahan protein dan gugus metil. Berolahraga dapat meningkatkan katabolisme metionin melalui homosistein untuk sintesis sistein atau prekursor *gluconeogenic* akan mengakibatkan penurunan

dalam konsentrasi homosistein. Penurunan konsentrasi metionin dari asupan makanan dan atau katabolisme meningkat melalui olahraga. Olahraga akan meningkatkan sintesis metionin dari homosistein untuk pembentukan protein dengan asumsi individu memiliki status vitamin B yang cukup untuk remetilasi. Oleh karena itu, peningkatan remetilasi dari homosistein oleh karena perubahan kebutuhan metionin untuk sintesis protein selama latihan akan mengurangi konsentrasi homosistein. Hal tersebut menunjukkan bahwa olahraga intensitas sedang dapat mencegah pemendekan waktu pembekuan darah dengan mencegah peningkatan homosistein dalam darah pada pajanan asap rokok. Aplikasi pada manusia bahwa merokok tidak baik untuk kesehatan dan merupakan faktor risiko untuk penyakit kardiovaskuler dan gangguan vaskuler. Pajanan asap rokok dapat memperpendek waktu pembekuan darah pada tikus putih. pada penelitian ini, olahraga bermanfaat mencegah salah satu risiko yang ditimbulkan oleh rokok yaitu mencegah pemendekan waktu pembekuan darah pada tikus putih. Akan tetapi masih banyak risiko lain yang dapat ditimbulkan oleh rokok.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Pajanan asap rokok memperpendek waktu pembekuan darah pada tikus putih.
2. Olahraga intensitas sedang mencegah pemendekan waktu pembekuan darah pada tikus putih dengan pajanan asap rokok.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan rentang waktu yang lebih lama dengan berbagai dosis pajanan asap rokok dan beberapa intensitas latihan terhadap kadar homosistein plasma dan gregasi trombosit.
2. Mengingat beberapa bahaya merokok bagi kesehatan, salah satunya adalah memendeknya waktu pembekuan darah yang merupakan representasi gangguan vaskuler, sebaiknya untuk tidak merokok atau berhenti merokok.
3. Apabila rokok tidak bisa dihentikan, dianjurkan untuk berolahraga. Olahraga dapat mencegah salah satu faktor risiko yang ditimbulkan oleh rokok, karena merokok memiliki faktor resiko lain yang dapat mengganggu kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1998, *Polycyclic aromatic hydrocarbons, US Dept of Health and human Services, public health services.* <http://ntp-server.niehs.nih.gov/htdocs/PAHs->
- [Archana McEligot ., 2000, Relationships between smoking, homocysteine & folate, viewed 18 April 2012, <file:///H:/rokok dan homosistein english.htm>](#)
- Bakta IM., 2000, *Thrombosis: pandangan dari segi hematologi.* Majalah Penyakit Dalam Udayana;1:26-34.
- Bompa TO, 1994. *Theory and methodology of training the key to athletic performance.* 3rd ed. Hunt Publishing Company. Pp 24-25
- Bollander GC, 2002. *Focus on homocysteine and the vitamins: involved in its metabolism*, second enlarged et revised edition Clarke R, Daly L., Robinson K., 1991, *Hyperhomocysteinemia : an independent risk factors for vascular disease*, N. Eng J Med; 324: 1149-1155
- Bollager AP, Everds NE, 2010., *Hematology of laboratory rodents: mouse (musculus).* Dalam: weiss DJ, wardrop KJ, editor, *scalm's veterinary hematology 6th ed*, USA Blackwell publishing Ltd.
- Cadroy Y, Pillard F, Sakariassen KS, Thalamas C, Boneu B, Riviere D, 2002, *Strenuous but not moderate exercise increase the trombotic tendency in healthy sedentary male volunteers, viewed 9 April 2012* www.jap.physiology.org
- Christen WG, Anjani UA, Glyn RJ, Hennekens CH, 2000, *Blood levels of homocysteine and increased risk of cardiovascular disease-causal or causal*, Arch Intern Med.; 160: 422.
- Callaghan PO, Meleady R, Fitzgerald T, Graham I, 2002, *Smoking and plasma homocystein*, Eur Heart J, viewed 18 april 2012 <<http://rokok dan homosistein2.htm>>
- Christyaningsih J, 2002, *Pengaruh suplementasi vitamin E dan C terhadap aktivitas enzim superoide dismutase (SOD) dalam eritrosit tikus yang terpapar asap rokok*, Tesis Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Deitcher SR, Rodgers GM.(2004), *Thrombosis and antithrombotic therapy.* In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *introbe's Clinical Hematology.* 11th ed. Philadelphia: Lippincott-Williams & Wilkins.
- Deforche B., *Changes in fat mass, fat free mass and aerobic fitness in severely obesitas children and adolescents following arab residential treatment programme.* Eur J Pediatr.
- Davis JA. Brown AT, Chen H, Wang Y, Poirier LA., 2004, *Cigarette smoke increase intimal hyperplasia and homocystein in Rat carotid endarterectomy*, viewed 8 Mei 2012 <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15313378>>.
- Depkes RI, 2010, *Rokok membunuh lima juta orang setiap tahun.*
- Hastuti B, 2007, *Pengaruh latihan fisik jangka pendek menggunakan metode harvard step*

- terhadap waktu perdarahan. Artikel karya tulis ilmiah. FK Undip Semarang
- Heijer M, Koster T, Blom HJ, Reitsma PH, Vandebroucke JP, Rosedall FR, 1996, *Hiperhomocysteinemia as risk factor for deep-vein thrombosis*. NEJM.
- Fox EL, 1993, *The Physiological basis exercise and sport* 5th ed. USA : WM.Crown Communication
- Guyton A, Hall J, 2008, *Buku ajar fisiologi kedokteran* Edisi 11. Jakarta Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton A, Hall J, 2006, *Texbook of medical physiology*, Philadelphia. Pennsylvania
- Graham IM, Daly LE, Refsum HM, 1997, *Plasma homocysteine as a risk factor forvascular disease*, JAMA,; 227: 1775-1781.
- Handin R, 2004, *Disorder of platelet and vessel Wall*. Dalam: Fauci, editor. Harrison's principles of internal medicine. Inggris: The McGraw-Hill Companies, hlm 673-675.
- Halliwell, B, Gutteridge (1999). *Free radical in biology and medicine*, third edition, Oxford University Press, N.Y. pp. 478
- Hanafiah KA, 1991, *Rancangan percobaan; teori dan aplikasi*, jakarta. Raja Grafindo Persada
- Herlich BC., 1996, *Plasma homocystein, folate, vitamin B6 and coronary arteri disease risk.*, AM Coll. Nutr, 15: 109-110
- Hastuti B, 2007, *Pengaruh latihan fisik jangka pendek menggunakan metode Harvard step terhadap waktu perdarahan*. Artikel Karya Tulis Ilmiah. Universitas Diponegoro Semarang
- Irawan B, Sja'baniM, AstoniMA, 2005, *Hyperhomocysteinemia as risk for coronary hearth disease*, Journal Kedokteran Brawijaya, Desember Vol XXI, No.3, , 103-149.
- Ivan UH, 2008, *Pengaruh paparan asap rokok terhadap waktu perdaraha pada mencit*, viewed 22 Mei 2012
- Permadi IAR, 1999, *Pengaruh suplementasi vitamin B6, B12 dan asam folat terhadap kadar homosistein plasma pasa lansia*. Tesis Program Pasca sarjana Universitas Indonesia. Jakarta
- Kauhansky K, 2008. *Historical Review : Megakaryopoiesis and thromboiesis*. Blood 111: 981-986
- Kauhansky K, 2009. *Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis*. Hematology: 147-152.
- Kusumawati D, 2004. *Bersahabat dengan hewan coba*, Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Lister INE, 2008, *Pengaruh latihan aerobic intensitas ringan dan sedang terhadap jumlah trombosit pada remaja putri di Universitas Prima Indonesia*. Tesis sekolah Pasca sarjana Universitas sumatra Utara.
- Lord BI, Murphy Jr MJ, 1972. *The estrous cycle and hemopoietic stem cell in the mouse*, Blood vol 40 no 3.
- Mirkin G, 2007, *Exercise Lowers Homocystein*, viewed 9 Mei 2012 <<http://www.DrMirikin.com>>
- Martin DW, (1992), *Vitamin yang larut dalam air dalam biokimia harper*, Jakarta., EGC.
- Mayer EL , Jacobsen DW, Robinson K, 1996, *Homocysteine and coronary atherosclerosis*. JACC. 27: 517-27.
- Neuman JA, 2010, *Exercise prevents hyperhomocysteinemia in a folate-deficient mouse model*, Iowa. Iowa State University Ames
- Ardle WD, Katch FI, and Katch VL, 1966 *Exerchise hysiology*. 2nd ed. Phiadelphia: Lea & Febiger.
- Pusparini, 2002. *Homosistein faktor resiko baru (non tradisional) penyakit kardiovaskuler*. J. Kedokteran Trisakti, vol 21 no.1, hal. 32-33
- Rattu AJM., (2000), *Blood Coagulation Variabel In Response To Short Term Exercise*. Jurnal Kedokteran Yarsi; 8(1). pp. 92-100
- Refsum HS., Smith D., Ueland PM., Nexo E., Clark R., McParthin J., dkk, 2004. *Facts and recomendation about total homocystein*

- determination; An Expert opinion. *Clinical chemistry*. Vol: 50 No 1.
- Randeva Hs., Lewandowski KC., Drzewoski J., Brooke-Wavell K., Collaghan C., Czzupryniak L., 2002, *Exercise decrease plasma total homocysteine in overweight young women with polycystic ovary syndrome*. Viewed 24 April 2012, <[file://H:/olahraga](#) dan homosistein 2 html >.
- Splaver A., Lamas G.A., Hennekens C.H., 2004, *Homocysteine and cardiovascular disease: biological mechanisms, observational epidemiology and the need for randomized trials*. *Am Heart J*;148: 34-40.
- Surjadjaja M, 2005, *Pengaruh pemberian vitamin B12 terhadap kadar homosistein vagan dewasa*, Tesis Pasca sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sukmaningtyas H, Pudjonarko D, Basjar E, 2004, *Pengaruh Latihan Aerobik dan Anaerobik terhadap Sistem Kardiovaskuler dan Kecepatan Reaksi*. Media Medika Indonesia
- Sugiyono, 2007, *Metode penelitian kuantitatif dan kualitatif*, Bandung. Alfabeta
- Sussana D., Hartono B., Fauzan H., 2003, *Penentuan kadar nikotin dalam asap rokok*, Makara Kesehatan 7:2
- Sherwood L, (2001), *Fisiologi manusia, dari sel ke sistem*, EGC.Jakarta
- Setjowati N, Sujudi H, Astuti TW, Widodo A, 1998. *Free radical and vitamin E influence are about the number circulating endothel of blood rat on chronic clove-flavoured cigarette fume exposure*. Majalah Kedokteran Unibraw.
- Tomohiro O, Rankinen T, Gagnon J, Lussier CS, Davignon J, Leon S, 2006. *Effect of regular exercise on homocysteine concentrations: the HERTAGE Family Study*.
- Verhoef P., Pasma WJ., Vliet T., Urgert R., Katan MB., 2002, *Contribution of caffeine to homocysteine raising effect of coffee: a randomized controlled trial in humans* *Am.J. Clin. Nutr.* 76, 1224
- Widodo MA. 1995. *Efek pemicu radikal bebas dan vitamin E pada diabetes komplikasi pembuluh darah tikus diabetes*. Laporan Penelitian hibah Bersaing 1992-1995 ; Malang. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya
- World Health Organisation, 2009. *WHO report on the global tobacco epidemic 2009*.
- Wijaya A, 1998. *Faktor resiko penyakit kardiovaskuler perspektif baru*, Dalam forum Diagnostikum No2/1 .Lab.Prodia
- Welch & Loscalzo, 1998, *Mechanism of Homocysteine and atherothrombosis*, *New Engl J Med*.
- Zainuddin M, 2000, *Metodologi penelitian*, Surabaya. Program Pasca sarjana Universitas Airlangga