

Pengaruh Latihan Jalan Kecepatan Sedang terhadap Mobilisasi, Diferensiasi dan Maturasi Stem Cell pada PBMC, serta Remodeling Tulang Perempuan Pascamenopause

(The Effects of Moderate Intensity Walking Exercise on Stem Cell Mobilization, Differentiation and Maturation in PBMC and Bone Remodeling of Postmenopausal Women)

Damayanti Tinduh*, Djoko Roeshadi**, Harjanto JM***

ABSTRACT

Reduced serum estradiol (E_2) level on postmenopausal women leads to decrease muscle mass, increasing adipogenesis and negative uncoupling bone remodeling, which tends to increase osteoporosis incidence. Bone Remodeling (BR) is determined by activities of osteoblast (OB), from bone marrow derived- and adipose derived-mesenchymal stem cell/MSc, and activities of osteoclast (OC), from hematopoietic stem cell/HSC. The MSc's osteogenic differentiation are affected by osteogenic microenvironment including humoral, interleukin, vitamins and mechanical force factors. Moderate intensity walking exercise has been proved promote BR in postmenopausal women, but its effects on stem cell mobilization, differentiation and maturation which leads to positive uncoupling BR and the role of serum IL-6 and PTH in this process still not clear. The aim of this study was to analyze the effect of moderate intensity walking exercise to stem cell mobilization, differentiation and maturation in PBMC and BR on postmenopausal women, and revealed the role of serum IL-6 and PTH changes in that process. This one group pretest-posttest design research has been done on 14 postmenopausal women, which underwent moderate intensity walking exercise for 30 minute 3 times week for 3 weeks. There was an increasing of MSc mobilization, but reduced HSC mobilization on PBMC. There were increasing on differentiation and maturation of circulated stem cell on PBMC. The change of OI affected the changes of % early OB/OC lin cell, sP1NP and the ratio of sP1NP/CTX. The change of sIL-6 affected the changes of % early OB/OC lin cell, %late OC lin cell and sP1NP. The change of sPTH affected the changes of sCTX and the ratio of sP1NP/CTX. The conclusion was a moderate intensity walking exercise revealed increasing stem cell mobilization, differentiation and maturation in PBMC, with domination on osteoblastic lineage cell, which lead to positive uncoupling BR on postmenopausal women. Subacute exercise sIL-6 affected stem cell differentiation in PBMC and mature OB, subacute exercise sPTH affected positive uncoupling BR via OC.

Key words: walking exercise, stem cell, bone remodeling, IL-6, PTH

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Penurunan kadar estradiol (E_2) pada perempuan pascamenopause secara umum menyebabkan penurunan massa otot dan meningkatkan pembentukan jaringan lemak. Penurunan kadar E_2 pascamenopause juga menyebabkan peristiwa *negative uncoupling* remodeling tulang (*negative uncoupling* RT). Hal ini merupakan akibat dari peningkatan maturitas dan aktivitas progenitor osteoklas (OC), peningkatan penyerapan tulang oleh OC, penurunan

maturasi dan aktivitas progenitor osteoblas (OB) serta terjadi apoptosis OB yang menurunkan aktivitas pembentukan tulang sehingga terjadi dominasi aktivitas penyerapan tulang. Keadaan ini akan menyebabkan penurunan massa tulang sehingga memicu kejadian osteoporosis (Frost, 1999; Forwood et al., 2001; Rubin et al., 2001; Blair et al., 2002; Lane and Yao, 2009).

Osteoporosis pascamenopause terjadi akibat penurunan massa tulang secara cepat pada 10 tahun pertama (Dambacher et al., 2000). Insiden osteoporosis pascamenopause di Surabaya mencapai 26% (Roeshadi,

* Departemen Kedokteran Fisik & Rehabilitasi FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo

** Departemen Orthopaedi & Traumatologi FK UNAIR/RSUD Dr. Soetomo

*** Departemen Ilmu Faal FK UNAIR

1997). Data “White Paper Perosi Jawa Timur” 2007 menunjukkan insiden osteopenia 30% dan osteoporosis 26% dari keseluruhan populasi. Pada tahun 2020 diperkirakan insiden osteopenia 50% dan osteoporosis 35% dari proyeksi 30,3 juta perempuan pascamenopause di Indonesia (**Baziad**, 2003). Kecenderungan peningkatan insiden dengan segala konsekuensinya menyebabkan upaya pencegahan dan penanganan osteoporosis pascamenopause menjadi sangat penting dilakukan dan berdaya ungkit pada penurunan mortalitas, morbiditas dan ketergantungan. Osteoporosis berdampak luas karena akan menyebabkan keluhan nyeri hingga fraktur yang rumit penanganannya, sehingga meningkatkan angka mortalitas (**Leibson et al.**, 2002) dan morbiditas. Pada 30 tahun terakhir di Asia terjadi peningkatan insiden fraktur femur osteoporosis hingga 2–3 kali lipat. Diperkirakan tahun 2050 fraktur femur osteoporosis di dunia mencapai 6,26 juta orang dan di Asia 3,25 juta (52%) (**Baziad**, 2003). Morbiditas pascafraktur osteoporosis akan menyebabkan penurunan kualitas hidup dan meningkatkan beban ekonomi serta ketergantungan fisik maupun psikologis.

Dinamika tulang ditentukan oleh aktivitas pembentukan tulang oleh OB dan aktivitas penyerapan tulang oleh OC. Pada proses RT, OC akan menguraikan kalsium dan kolagen dari jaringan tulang, dan OB akan mensintesis *osteocalcin*, *bone-specific alkaline phosphatase*, *procollagen-1 extension peptide*. Produk penguraian dan pembentukan tulang dapat dideteksi pada darah dan urine, namun secara umum produk dari darah lebih stabil dan mudah diamati. *C-telopeptida* (CTX) adalah produk pemecahan *collagen cross-links* oleh OC yang paling stabil dalam darah dan memiliki variabilitas biologi intra dan interindividu yang paling diskriminatif. Produk yang memiliki spesifisitas tinggi bagi aktivitas pembentukan tulang adalah *procollagen type-1 amino-terminal propeptide* (P1NP), karena dipecah dari ujung amino kolagen muda yang stabil, sehingga dapat dideteksi dalam darah dalam waktu yang tidak terlalu singkat (**Albright**, 1979; 1996; **Rosen and Tenenhouse**, 1998; **Bostrom et al.**, 2000; **Manolagas**, 2000; **Mosley**, 2000). Segala upaya untuk meningkatkan maturasi dan menurunkan apoptosis OB akan meningkatkan pembentukan tulang (**Forwood et al.**, 2001; **Rubin et al.**, 2001; **Blair et al.**, 2002).

Beberapa peneliti merekomendasikan latihan fisik spesifik sebagai gaya mekanik untuk mempertahankan massa tulang pascamenopause. Pembentukan tulang pascalatihan dapat diperkirakan dengan *Osteogenic Index* (OI), yang terdiri dari unsur intensitas latihan (diwakili

oleh *ground reaction force*/GRF puncak) dan desensitisasi latihan (diwakili oleh jumlah siklus pembebanan yang terdiri dari jenis latihan dan frekuensi perminggu). Latihan jalan cepat merupakan suatu bentuk rangsangan mekanik fungsional yang bersifat osteogenik, yang bila dilakukan selama 30 menit, 3 kali seminggu akan memiliki OI 23–25 tergantung pada kecepatannya (**Santos-Rocha et al.**, 2009). Latihan berjalan bekerja secara lokal dan sistemik (**Lanyon**, 1991).

Tinduh et al., 2004 melakukan pengamatan perubahan marker biokimiawi tulang pascalatihan, dan mendapatkan bahwa latihan fisik menyebabkan perubahan pada proses RT, yang responsnya tergantung pada tipe, intensitas dan durasi latihan. Kesimpulan ini sejalan dengan pernyataan bahwa aktivitas RT bersifat *response-dose dependent* (**Forwood et al.**, 2001; **Rubin et al.**, 2001; **Blair et al.**, 2002). Aktivasi RT pascalatihan jalan cepat diduga terjadi akibat respons lokal (pada osteosit) dan sistemik (melalui aktivitas IL-6 dan PTH) yang menyebabkan dominasi peningkatan pembentukan tulang. Diduga *positive uncoupling* RT dipengaruhi oleh IL-6 dan PTH, namun mekanismenya belum jelas.

Gaya mekanik dan kontraksi otot yang memicu peningkatan *spike* IL-6 yang segera diikuti penurunan dari nilai *baseline* diduga memberikan efek anabolik pada OB. Sedangkan peningkatan *surge* PTH diduga akan merangsang PTH1R pada OB dan osteosit (Ocy) (bersifat anabolik) dan memengaruhi aktivitas OC secara langsung maupun tidak langsung. **Sejauh ini peran IL-6 dan PTH pascalatihan jalan kecepatan sedang yang menyebabkan osteogenic remodeling tulang perempuan pascamenopause alami belum diketahui.** Pemahaman tentang mekanisme ini akan membuka wawasan untuk pencegahan dan penanganan osteoporosis pascamenopause secara khusus, dan osteoporosis secara umum.

Tujuan Penelitian

Untuk menjelaskan peran IL-6 dan PTH pascalatihan jalan kecepatan sedang yang menyebabkan *osteogenic remodeling* tulang perempuan pascamenopause alami.

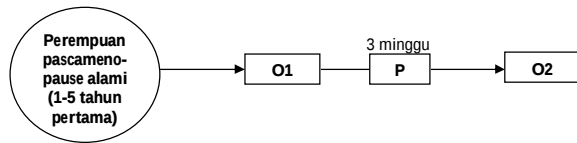
Manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan: Meningkatkan penjelasan bahwa latihan fisik menyebabkan perubahan osteogenic pada proses Remodeling Tulang.

Manfaat aplikatif:

- Meningkatkan peluang upaya terapeutik dalam pengendalian proses remodeling tulang untuk mencegah osteoporosis pascamenopause.
- Mengembangkan perluasan peran latihan olahraga untuk intervensi osteoporosis secara umum.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah **One Group Pretest-Posttest Design**, yang dilakukan terhadap perempuan pascamenopause dengan peningkatan *cadence* 25% dari *cadence* awal.



Gambar 1. Desain Penelitian.

Keterangan:

Perempuan pascamenopause alami (1–5 tahun pertama): Perempuan yang berada dalam periode 1–5 tahun berhenti haid secara alami

O1: Kadar IL-6, kadar PTH dan rasio P1NP/CTx pra perlakuan berjalan dengan peningkatan *cadence* 25% dari *cadence* awal

O2: Kadar IL-6, kadar PTH dan rasio P1NP/CTx pasca perlakuan berjalan dengan peningkatan *cadence* 25% dari *cadence* awal

P : Berjalan dengan peningkatan kecepatan 25% dari kecepatan awal

Penelitian ini melibatkan 15 orang perempuan pascamenopause alami (1–5 tahun pertama), yang berusia antara 47–60 tahun, peserta seminar “Mengenal Osteoporosis” di Sport Clinic RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Drop out rate* 6,7% (1 orang). Subjek penelitian memenuhi kriteria inklusi (kadar $E_2 < 10$ pg/mL, tidak mengidap penyakit jantung dan pembuluh darah, metabolik, degeneratif pada sistem muskuloskeletal dan gangguan neuromuskuler akut maupun kronis yang diketahui dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan laboratorium, dan setelah mendapat penjelasan (*information for consent*), bersedia mengikuti penelitian dan menaati aturan yang ditetapkan hingga selesai, dengan mengisi dan menandatangani *informed consent*) dan tidak memenuhi kriteria eksklusi (mengonsumsi bahan makanan yang bersifat “*force resorption*” setiap hari dalam jangka panjang dan menggunakan obat-obatan yang memengaruhi metabolisme tulang dalam jangka panjang). Subjek penelitian dinyatakan *drop out* bila absen 2 kali *session* latihan dan mengalami gangguan pada ekstremitas bawahnya selama penelitian berlangsung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah latihan berjalan dengan peningkatan *cadence* 25% dari *cadence* awal pada perempuan pascamenopause. Variabel antaranya adalah kadar IL-6 serum dan kadar PTH serum. Variabel

tergantungnya adalah rasio kadar P1NP/CTx serum. Variabel yang dikendalikan adalah lama menopause dan faktor *ground* (permukaan kontak kaki dan *ground*). Sedangkan variabel pengganggu adalah umur sampel, skala aktivitas fisik sebelum diberikan perlakuan, persentase lemak tubuh, kadar lemak, asam askorbat dan kalsium dalam diet.

Spesimen yang digunakan adalah darah vena, untuk pemeriksaan skrining, pra dan pascaperlakuan. Pemeriksaan skrining terdiri dari pemeriksaan hematologi rutin, kimia darah (SGOT, SGPT, kreatinin serum dan GDA), profil lemak (LDL dan HDL), ion Calcium serum, kadar E_2 serum, kadar PTH serum. Pemeriksaan pascaperlakuan terdiri dari (a) Pemeriksaan IL-6 serum, menggunakan reagen Quantikine, dengan teknik mikro ELISA, di Instalasi Patologi Klinik Gedung Diagnostic Center RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pemeriksaan ini memiliki rentang deteksi antara 0,156–10 pg/mL. Dilakukan proses standardisasi sebelum pemeriksaan serum subjek penelitian, (b) Pemeriksaan CTx serum, menggunakan Roche Elecsys systems analyzer dan Roche Beta-CrossLaps assay, suatu 2-site immunometric (sandwich) assay menggunakan electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA). Pemeriksaan ini menghitung semua fragmen degradasi kolagen tipe I yang mengandung isomerized octapeptide beta-8AA twice (beta-CTx), (c) Pemeriksaan P1NP serum, menggunakan Roche Elecsys systems analyzer, dengan teknik ECLIA menggunakan prinsip sandwich.

Pemeriksaan pascaperlakuan terdiri dari pemeriksaan IL-6 *high sensitive*, CTx, P1NP, PTH, LDL dan HDL.

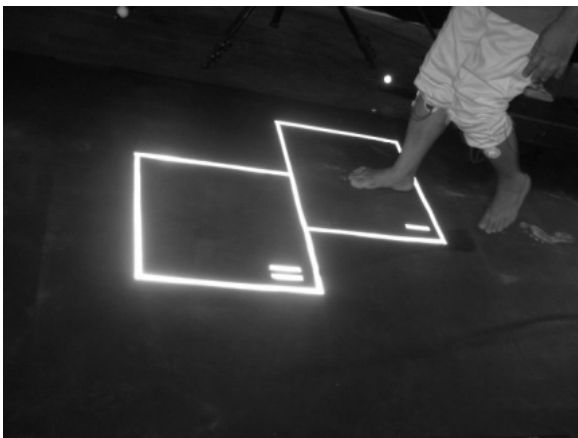
- International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)–Short Form*, yang diunduh dari www.ipaq.ki.se. Intensitas aktivitas mengacu pada The Compendium of Physical Activities Tracking Guide (Ainsworth et al., 2000).
- Three Days Record Nutrition Questionnaire*, yang merupakan bagian dari *Nutrition Questionnaire* yang diunduh dan diterjemahkan dari info@nutrition-specialists.com. Kuesioner dianalisis menggunakan software Nutri Survei oleh tim Gizi RSUD Dr. Soetomo.
- Pemeriksaan persentase lemak tubuh, diukur secara digital menggunakan Omron Body Fat Monitor tipe HBF-306. Prinsip pengukuran persentase lemak tubuh menggunakan metoda *Bioelectrical Impedance (BI)*, yaitu pengukuran tahanan listrik jaringan tubuh menggunakan arus listrik yang sangat lemah (50 KHz–500 μ A). Tahanan listrik jaringan ditentukan oleh *facilitation of electric conductivity* dan *distance of the electricity conduction*. Akurasi pemeriksaan ini

berkorelasi bermakna dengan *under-water weighing method*, yang merupakan metode standar pengukuran persentase lemak tubuh.

- d. Pengukuran *osteogenic index* (OI) menggunakan alat pengukur *ground reaction force* (GRF) melalui *platform* yang ada pada *gait analyzer* di Instalasi Rehabilitasi Medik RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Besar GRF (dalam Newton) dikonversikan dalam kilogram, dan OI untuk 1 sesion latihan ditentukan dengan rumus:

$$OI = \text{Intensitas} \times \ln (N + 1)$$

Intensitas adalah GRF (kg, dikonversikan dalam jumlah kali berat badan) dan N adalah jumlah repetisi. Pengukuran OI dilakukan pada saat sampel berjalan dengan *cadence* awal dan *cadence* perlakuan.



Gambar 2. Subjek penelitian melangkahkan kaki kanan pada *platform I* dan kaki kiri pada *platform II* pada *gait tract*.



Gambar 3. Perangkat komputer *Gait Analyzer* di Instalasi Rehabilitasi Medik RSUD Dr. Soetomo.

- e. Pengukuran jumlah *cadence*, (langkah permenit) ditujukan untuk menghitung 1 siklus *gait* pada satu sisi kaki, yang terdiri dari *stance phase* dan *swing phase*. Sampel diminta berjalan dengan sepatu olah raga pada permukaan yang *firm* dan rata pada kecepatan berjalan yang paling nyaman selama 1 menit yang ditentukan dengan *stopwatch*, dan jumlah langkah dihitung dengan *counter*. Dilakukan penghitungan rerata dari 3 kali pengukuran untuk masing-masing sampel. Rerata ini adalah jumlah *cadence* awal.
- f. *Individual metronome* digunakan untuk memandu kecepatan berjalan sampel penelitian, yang diatur sesuai jumlah *cadence* perlakuan individual.

Pelaksanaan penyuluhan dan pemeriksaan klinis dilakukan di Sport Clinic RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Pelaksanaan pengukuran karakteristik *gait* dilakukan di Ruang *Gait Analyzer* Instalasi Rehabilitasi Medik RSUD Dr. Soetomo. Pelaksanaan perlakuan berupa latihan jalan dengan kecepatan sedang dilakukan di departemen Kedokteran Fisik dan Rehabilitasi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Airlangga. Pemeriksaan laboratorium dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik RSUD Dr. Soetomo dan Laboratorium Prodia Surabaya. Keseluruhan rangkaian penelitian ini dilaksanakan dalam 6 bulan.

Penelitian ini dimulai setelah mendapat surat keputusan kelaikan etik dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran RSUD Dr. Soetomo Surabaya. Perempuan pascamenopause alami (1–5 tahun pertama) berusia antara 47–60 tahun, masuk dalam populasi target untuk menjadi calon sampel. Untuk memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi, calon subjek penelitian akan menjalani pemeriksaan dasar yang terdiri dari anamnesis, pemeriksaan fisik dan pemeriksaan skrining *electrocardiography* (ECG).

Calon subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi, diundang untuk diberikan informasi mengenai rencana penelitian (*information for consent*). Setelah subjek penelitian menandatangani *informed consent*, dilakukan pengisian data dasar dan diminta mengisi *3 days nutrition record*, *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ), dilakukan pengukuran tebal lemak subkutan dan pemeriksaan skrining laboratorium. Setelah itu sampel penelitian akan menjalani pemeriksaan kecepatan berjalan awal yang dinyatakan dalam *cadence* (jumlah langkah permenit) dan *ground reaction force*.

Pada subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan tidak memenuhi kriteria eksklusi dari pemeriksaan laboratorium skrining, dilakukan pemeriksaan darah pra latihan, yang meliputi pemeriksaan kadar IL-6, PTH, P1NP dan CTx serum. Diberikan perlakuan latihan berjalan dengan *cadence* ditingkatkan 25% dari *cadence* awalnya. Semua subjek penelitian ini diberikan penjelasan mengenai proses dan cara berjalan yang benar, cara menghitung denyut nadi dan menentukan denyut nadi maksimal menggunakan rumus 220-umur (Franklin, 2000; Suleman, 2001). Diharapkan intensitas latihan berjalan dengan kecepatan sedang berkisar antara 65–75% denyut nadi maksimal. Pada penderita juga dijelaskan tentang pentingnya kontinuitas latihan, serta kemungkinan yang terjadi pada saat dan setelah latihan, dan penanganan praktis yang bisa dilakukan sampel bila mengalami keluhan pascalatihan.

Sampel berlatih dalam supervisi dengan panduan *metronome* yang kecepatannya diatur secara individual tergantung pada *cadence* latihan yang ditetapkan 25% lebih banyak dari *cadence* awal. Latihan diawali oleh pemanasan 5–10 menit kemudian dilakukan latihan inti berjalan 28 menit dan diakhiri pendinginan 5–10 menit, 3 kali seminggu selama 3 minggu (Franklin, 2000; Suleman, 2001). Dilakukan penghitungan nadi istirahat, nadi segera pascalatihan dan nadi 1 menit pascalatihan. Jumlah nadi dicatat. Pemeriksaan darah pascalatihan dilakukan 72 jam setelah latihan terakhir. Semua hasil pengamatan dicatat dalam tabel data komprehensif dan dilakukan analisis statistik.

Analisis Data

Data dikumpulkan dan ditabulasi, kemudian dilakukan analisis deskriptif. Analisis dilakukan menggunakan *software* SPSS 16.0. Dilakukan uji normalitas data. Pada data yang berdistribusi normal, dilakukan uji Statistik Parametrik yaitu uji *Paired T-test* untuk menguji perbedaan variabel penelitian pra dan pascalatihan dan *Pearson correlation* untuk menguji kuat hubungan antarvariabel. Pada kemaknaan $\alpha = 0,05$ (Tabel 1).

HASIL DAN DISKUSI

Umur rerata subjek penelitian $53,14 \pm 3,42$ (47–49) tahun, yang saat ini berada dalam rentang lama menopause 1–5 tahun dengan rerata ($\pm$ Sd) $3,21 \pm 1,42$ tahun, dan rerata usia menopause ($\pm$ Sd) adalah $49,93 \pm 2,95$ tahun. Rerata Indeks Massa Tubuh $24,86 \pm 4,43$, rerata ($\pm$ Sd) persentase *body fat content* $35,27 \pm 4,64\%$, kandungan

energi diet $1668,7 \pm 264,81$ Kcal, kadar karbohidrat diet $205,58 \pm 25,07$ g, kadar protein diet $56,58 \pm 11,02$ g, kadar lemak diet $72,35 \pm 16,37$ g, kadar kalsium diet $343,22 \pm 142,17$ mg, kadar vitamin C diet $61,37 \pm 33,10$ mg dan skor *International Physical Activity Questionnaire* $8721,2 \pm 5002,1$ MET-menit/minggu. Pengujian distribusi data dengan Uji 1 *Sample Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa karakteristik dasar subjek penelitian berdistribusi normal.

Hasil skrining laboratorium pada subjek penelitian menunjukkan bahwa kadar E_2 serum < 10 pg/ml, rerata ($\pm$ Sd) kadar gula darah acak (GDA) $92,57 \pm 11,63$ mg/dl, *serum glutamic oxaloacetic transaminase* (SGOT) $22,86 \pm 6,67$ U/l, *serum glutamic pyruvic transaminase* (SGPT) $23,21 \pm 10,84$ U/l, kreatinin serum $0,75 \pm 0,123$ mg/dl, *high density lipoprotein* (HDL) $67,93 \pm 13,53$ mg/dl, *low density lipoprotein* (LDL) $132,21 \pm 23,89$ mg/dl, rasio HDL/LDL $0,5391 \pm 0,173$, kadar *parathyroid hormone* (PTH) $41,9293 \pm 13,210$ pg/ml, dan ion kalsium $1,213 \pm 0,10$ mmol/l. Hasil pemeriksaan elektrokardiografi pada subjek penelitian menunjukkan hasil normal. Hasil anamnesis, pemeriksaan fisik, pemeriksaan elektrokardiografi dan pemeriksaan laboratorium skrining menunjukkan bahwa subjek penelitian adalah perempuan pascamenopause alami yang sehat.

Cadence awal adalah jumlah langkah permenit subjek penelitian sebelum latihan, yang menggambarkan tingkat kecepatan jalan subjek sehari-hari. Tabel 3 menunjukkan bahwa rerata *cadence* awal $105,71 \pm 7,34$ langkah permenit. *Cadence* latihan adalah hasil peningkatan 25% dari *cadence* awal dengan rerata ($\pm$ Sd) $132,14 \pm 9,17$ langkah permenit. Peningkatan *cadence* menyebabkan peningkatan GRF (dari $607,94 \pm 82,50$ N menjadi $646,95 \pm 95,19$ N) dan OI (dari $25,88 \pm 5,24$ menjadi $27,53 \pm 1,74$). Peningkatan GRF menggambarkan peningkatan gaya *axial loading* pada tungkai bawah saat berjalan lebih cepat, yang menyebabkan peningkatan osteogenesis aktivitas berjalan tersebut. Peningkatan *cadence* menyebabkan penurunan rasio kontraksi tibialis anterior terhadap soleus (dari $0,929 \pm 0,348$ menjadi $0,644 \pm 0,372$) yang menunjukkan perubahan pola rekrutmen otot yang berkontraksi pada saat terjadi peningkatan *cadence* 25% yang berpotensi memicu proses adaptasi tulang terhadap perubahan proporsi intensitas gaya tersebut. Pengujian distribusi data dengan Uji 1 *Sample Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa karakteristik *gait* subjek penelitian berdistribusi normal.

Karakteristik Kadar *Interleukin-6* (IL-6), Hormon Paratiroid dan Marker Biokimiawi Tulang Subjek Penelitian

Interleukin-6 (IL-6) serum merupakan marker inflamasi yang dinamikanya dipengaruhi oleh berbagai rangsangan termasuk latihan fisik, sedangkan hormon paratiroid (*parathyroid hormone*/PTH) merupakan hormon yang aktivitasnya berhubungan dengan proses remodeling tulang dan dipengaruhi oleh berbagai hal termasuk latihan fisik. *N-terminal propeptide type I Collagen* (P1NP) merupakan produk osteoblas dewasa yang aktif melakukan pembentukan tulang, sedangkan *C-telopeptide type I Collagen* (CTx) merupakan produk osteoklas yang aktif melakukan proses resorpsi tulang. Rasio P1NP/CTx menggambarkan proporsi aktivitas osteoblas dibandingkan osteoklas. Pengujian distribusi data variabel penelitian yang berasal dari serum dengan Uji 1 *Sample Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi normal. Pascalatihan jalan kecepatan sedang, subjek penelitian mengalami penurunan bermakna pada kadar *Interleukin-6* (IL-6) serum (dari $2,56 \pm 1,53$ pg/mL menjadi $0,75 \pm 0,49$ pg/mL, $p = 0,003$), sedangkan kadar Hormon Paratiroid (*Parathyroid Hormone*/PTH) serum mengalami peningkatan yang tidak bermakna (dari $41,93 \pm 13,21$ pg/mL menjadi $43,80 \pm 15,18$ pg/mL, $p = 0,480$).

Hasil analisis *Paired T-test* menunjukkan bahwa pascalatihan jalan kecepatan sedang, subjek penelitian mengalami peningkatan yang tidak bermakna pada kadar P1NP (dari $59,79 \pm 12,38$ pg/mL menjadi $65,94 \pm 16,86$ pg/mL, $p = 0,635$), penurunan yang tidak bermakna pada CTx (dari $0,510 \pm 0,125$ pg/mL menjadi $0,496 \pm 0,144$ pg/mL, $p = 0,056$) dan peningkatan yang tidak bermakna pada rasio P1NP/CTx (dari $120,01 \pm 22,84$ menjadi $144,95 \pm 64,40$, $p = 0,121$).

Analisis Korelasi

Analisis korelasi menunjukkan terdapat hubungan antara perubahan OI dengan perubahan rasio P1NP/CTx ($r = 0,546$, $p = 0,043$), perubahan kadar IL-6 dengan

perubahan kadar P1NP ($r = -0,550$, $p = 0,041$), perubahan kadar PTH dengan perubahan kadar CTx ($r = 0,544$, $p = 0,044$) dan perubahan rasio P1NP/CTx ($r = -0,548$, $p = 0,042$) serum pascalatihan. penelitian ini (Tabel 1).

Pengaruh Perubahan Osteogenic Index pada Proses Remodeling Tulang Perempuan Pascamenopause Pasca-Latihan Jalan Kecepatan Sedarang

Latihan jalan dengan peningkatan kecepatan merupakan rangsangan mekanik yang telah terbukti menyebabkan *positive uncoupling bone remodeling* pada perempuan pascamenopause. Kecepatan jalan ditentukan oleh jumlah langkah per menit (*cadence*). Peningkatan *cadence* 25% dari *cadence* awal memberikan dampak yang lebih osteogenik dibandingkan peningkatan *cadence* 50% (Tinduh et al., 2004). Peningkatan *cadence* ini menyebabkan peningkatan puncak *ground reaction force* sehingga menyebabkan peningkatan rerata *osteogenic index* (OI) dari 23 menjadi 25, yang memadai untuk mempertahankan osteogenesis tulang (Santos-Rocha et al., 2006).

Positive uncoupling remodeling tulang dipengaruhi oleh faktor sistemik dan faktor lokal. Faktor sistemik melibatkan dinamika kadar IL-6 dan PTH serum yang akan memberikan rangsangan pada *hypophysis pituitary adrenal axis* (HPA axis) sehingga terjadi efek regulasi melalui jalur neuroendokrin (Febbraio and Pedersen, 2002; Bergenstock and Partridge, 2007). Faktor lokal adalah efek gaya mekanik vertikal dalam bentuk *axial loading*, yang langsung berdampak pada aktivitas remodeling tulang (Lanyon, 1991; Jee, 2000; Tinduh et al, 2004; Bouassida et al., 2006; Forsyth and Davey, 2008).

Dalam penelitian ini digunakan marker biokimiawi untuk pembentukan tulang yaitu *N-terminal propeptide type I Collagen* (P1NP) yang merupakan produk awal dari osteoblas dewasa dan marker penyerapan tulang yaitu *C-telopeptide type I Collagen* (CTx) yang merupakan produk dari osteoklas dewasa. Kedua marker biokimiawi ini berasal dari kolagen tipe I yang spesifik di tulang, dan

Tabel 1. Korelasi antarvariabel penelitian

Perubahan Kadar Variabel Serum Pra dan Pasca-Latihan	Perubahan Osteogenic Index		Perubahan Kadar IL-6 serum		Perubahan Kadar PTH serum	
	Pearson Correlation	p	Pearson Correlation	p	Pearson Correlation	p
IL-6	0,149	0,610	-	-	-0,105	0,720
PTH	-0,105	0,720	0,155	0,597	-	-
P1NP	0,406	0,150	-0,550	0,041*	-0,315	0,272
CTx	-0,427	0,127	-0,028	0,923	0,544	0,044*
P1NP/CTx	0,546	0,043*	-0,388	0,170	-0,548	0,042*

* bermakna pada $p < 0,05$

diproduksi saat tulang mengalami proses remodeling yang aktif serta dilepaskan ke sirkulasi sistemik. Walaupun kadar P1NP, CTx dan rasio P1NP/CTx serum pascalatihan pada penelitian tidak menunjukkan perubahan yang bermakna, namun menunjukkan kecenderungan *positive uncoupling* remodeling tulang. Ketidak-bermakna ini diduga berhubungan dengan faktor waktu optimal aktivitas sel tulang pada proses remodeling. Osteoklas akan mengalami rekrutmen dan beraktivitas lebih awal pada 3 minggu pertama proses remodeling tulang, sedangkan osteoblas baru menunjukkan aktivitas yang bermakna setelah 3 minggu dan akan berlangsung hingga 3 bulan. Pengambilan sampel darah dilakukan pada akhir minggu ke-3 proses latihan jalan kecepatan sedang, yang berarti proses remodeling sedang dalam proses peralihan dominasi aktivitas osteoklas dan osteoblas. Namun kecenderungan dominasi ini sudah menunjukkan hal positif yang mendukung osteogenesis latihan jalan kecepatan sedang pada proses remodeling tulang. Pada penelitian latihan jalan kecepatan sedang pengambilan sampel darah dilakukan pada fase subakut latihan pascalatihan 3 minggu, sehingga proses adaptasi tulang sudah terjadi dan memengaruhi proses remodeling pada masa peralihan dominasi aktivitas osteoklas menjadi dominasi aktivitas osteoblas.

Osteogenic Index menggambarkan besarnya *impact* yang diterima tulang dan persendian yang dilewati *ground reaction force* saat melakukan aktivitas, sehingga peningkatan OI sedikit di atas rerata OI harian diharapkan memberikan efek osteogenik pada tulang namun bersifat protektif pada persendian anggota gerak bawah dan tulang punggung, sehingga menghindarkan perempuan pascamenopause dari percepatan proses degeneratif sendi akibat latihan.

Pengaruh Perubahan Kadar IL-6 serum pada Proses Remodeling Tulang Perempuan Pascamenopause Pasca-Latihan Jalan Kecepatan Sedang

Kadar IL-6 serum pralatihan subjek penelitian menunjukkan rerata yang lebih tinggi dibandingkan kelompok perempuan pramenopause sehat ($2,56 \pm 1,53$ pg/mL vs $1,36 \pm 1,23$ pg/mL, $p = 0,007$) (Tinduh *et al.*, 2012). Hal ini terjadi akibat penurunan kadar estradiol serum pada perempuan pascamenopause (Papanicolaou *et al.*, 1998) dan diduga berkontribusi pada insiden obesitas pascamenopause. Beberapa penelitian mengenai pola kinetika IL-6 pascalatihan *endurance* dengan tipe kontraksi otot konsentrik menunjukkan peningkatan kadar IL-6 secara akut segera setelah latihan yang dipertahankan relatif lebih tinggi dibandingkan kadar pralatihan dalam 24 jam

pascalatihan, kemudian akan menurun secara progresif di bawah nilai *baseline* dan menjadi stabil pada 72 jam pascalatihan (Febbraio and Pedersen, 2002; Fischer, 2006; Pedersen and Febbraio, 2008; Tripette *et al.*, 2010).

Penurunan bermakna kadar IL-6 serum pada darah perifer yang diambil 3 hari pasca-hari terakhir latihan, berperan dalam upaya *maintenance* proses remodeling, yang menyebabkan peningkatan aktivitas OB dan OC dewasa. Peningkatan aktivitas OB dewasa diduga akibat peningkatan sensitivitas dan jumlah estrogen reseptor pada OB (Laswati, 2007) dan penurunan supresi IL-6 pada maturasi dan aktivitas OB. Kombinasi efek penurunan IL-6 dan peningkatan OI akan menyebabkan dominasi aktivitas pembentukan tulang oleh OB dibandingkan aktivitas pembongkaran tulang oleh OC sehingga cenderung terjadi *positive uncoupling* remodeling tulang (Tinduh *et al.*, 2004; Lester *et al.*, 2009).

Pengaruh Perubahan Kadar PTH serum pada Proses Remodeling Tulang Perempuan Pascamenopause Pasca-Latihan Jalan Kecepatan Sedang

Kadar PTH serum subjek penelitian mengalami peningkatan walaupun tidak bermakna dan masih dalam rentang nilai normal PTH serum. Variasi konsentrasi PTH selama dan setelah latihan tergantung pada durasi dan intensitas, dan hal ini menunjukkan kemungkinan adanya nilai ambang rangsang PTH. Penelitian ini dilaksanakan selama 3 minggu, dan diduga peningkatan kadar PTH tersebut menunjukkan bahwa proses awal adaptasi sistemik sedang berlangsung.

Rubin dan kawan-kawan melaporkan pemberian PTH akan merangsang sel osteogenik bersirkulasi pada pasien hipoparatiroid (Rubin *et al.*, 2001). Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa peningkatan PTH secara intermiten bersifat anabolik, sedangkan kadar PTH yang tinggi secara kontinyu bersifat katabolik, dan hal ini juga terjadi pascalatihan (Bouassida *et al.*, 2006). Peningkatan PTH intermiten menyebabkan peningkatan permukaan pembentukan tulang disertai peningkatan volume tulang trabekuler (Bouassida *et al.*, 2006). Thorsen dan kawan-kawan mengamati bahwa pascalatihan *endurance* dengan intensitas sedang menyebabkan peningkatan kadar PTH yang bermakna pada 24 jam pascalatihan dan mulai mengalami penurunan pada 72 jam pascalatihan, namun belum mencapai nilai *baseline*.

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar PTH serum secara bermakna berkorelasi negatif dengan rasio kadar P1NP/CTx serum dan berkorelasi positif dengan kadar CTx

serum. Diduga pada fase akut latihan terjadi peningkatan (*surge*) PTH yang meningkatkan aktivitas osteoklas untuk melakukan proses pembongkaran tulang dan merangsang osteosit dan osteoblas melalui aktivasi PTH1R pada Ocy dan OB yang kemudian mengaktifkan P2 reseptor. Selanjutnya pada hari ke-3 pascalatihan terjadi penurunan relatif PTH yang belum mencapai *baseline*, namun penurunan kadar ini secara teoretis berpengaruh pada peningkatan aktivitas osteosit dan osteoblas pascaaktivasi P2 reseptor, sehingga terjadi pengaktifan BMU dalam proses remodeling tulang (Bouassida *et al.*, 2006). Ekspresi PTH1R pada OB akan mengaktifasi *adenylyl cyclase*, *phospholipase C* dan *D* serta *protein kinase C*, sedangkan ekspresi PTH1R pada Ocy akan menyebabkan peningkatan *intercellular coupling* melalui *gap junction* dan *matrix metalloproteinase* (MMP)-9, mempotensiasi *calcium influx* melalui *stretch-activated cation channels*, dan mengamplifikasi respons osteogenik terhadap pembebanan mekanik *in vivo* dengan menghambat ekspresi gen *Sost* pada Ocy. Diduga PTH merangsang pembentukan tulang secara langsung melalui PTH1R pada Ocy, namun mekanismenya belum dipahami.

Simpulan

Penelitian ini dilakukan untuk menjawab hipotesis penelitian, dan disimpulkan bahwa pada hari ke-3 pasca-session terakhir latihan jalan kecepatan sedang tampak:

- Terjadi kecenderungan peningkatan rasio P1NP/CTx serum perempuan pascamenopause alami pascalatihan jalan kecepatan sedang.
- Perubahan kadar IL-6 serum memengaruhi perubahan kadar P1NP serum perempuan pascamenopause alami pascalatihan jalan kecepatan sedang.
- Perubahan kadar PTH serum memengaruhi perubahan kadar CTx dan rasio P1NP/CTx serum perempuan pascamenopause alami pascalatihan jalan kecepatan sedang.

Simpulan dari penelitian ini adalah latihan jalan kecepatan sedang meningkatkan *osteogenesis* remodeling tulang pada perempuan pascamenopause. Mekanisme ini dipengaruhi oleh perubahan kadar IL-6 dan PTH serum. Perubahan kadar IL-6 serum pada fase subakut latihan berperan secara langsung pada osteoblas. Perubahan kadar PTH serum pada fase subakut latihan berperan pada osteoklas dan proses *positive uncoupling* remodeling tulang secara langsung.

Secara filosofis, disimpulkan bahwa kehidupan dalam alam semesta diciptakan oleh Tuhan secara sempurna untuk

bergerak dalam keselarasan dengan lingkungannya dan secara hirarkis mencapai optimalisasi fungsi dalam tiap tahap kehidupannya yang sempurna pada waktunya.

Saran

Dengan memperhatikan hasil dan keterbatasan penelitian ini, perlu dilakukan:

Melakukan pengamatan pada petanda biokimiawi tulang serum perempuan pascamenopause yang dilakukan pada fase akut pascalatihan jalan kecepatan sedang, serta menganalisis secara khusus pengaruh kadar IL-6 dan PTH serum pada proses RT.

Melakukan pengamatan pada petanda biokimiawi tulang serum perempuan pascamenopause yang dilakukan pada fase kronis pascalatihan jalan kecepatan sedang, serta menganalisis secara khusus pengaruh kadar IL-6 dan PTH serum pada proses RT.

Melakukan pengamatan pada petanda yang diekspresikan dan disekresikan pada jaringan tulang dan lemak yang dilakukan pada kondisi imobilisasi, *sedentary*, fase akut, subakut dan kronis pascalatihan pada hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Ainsworth BE, Haskell WL, Whitt MC, Irwin ML, Swartz AM, Strath SJ, O'Brien WL, Bassett Jr DR, Schmitz KH, Emplaincourt PO, Jacobs Jr DR, and Leon AS, 2000. Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med. Sci. Sports Exerc*; 32(9). Suppl.: S498–S516.
- Albright JA, 1979. Calcium & Phosphorus Metabolism in: Albright JA and Brand RA. *The Scientific Basis of Orthopaedics*. New York: Appleton-Century-Crofts, pp. 279–281.
- Baziad A, 2003. Menopause *Andropause*. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo, pp. 217–221.
- Bergenstock MK and Partridge NC, 2007. Parathyroid Hormone Stimulation of Noncanonical Wnt Signaling in Bone. *Ann NY Acad Sci*; 1116: 354–359.
- Blair HC, Zaidi M and Schlesinger PH, 2002. Mechanisms balancing skeletal matrix synthesis and degradation. *Biochem J*; 364: 329–41.
- Bostrom MPG, Boskey A, Kaufman JK and Einhorn TA, 2000. Form and Function of Bone. In: Buckwalter JA, Einhorn TA, Simon SR (Ed). *Orthopaedic Basic Science Biology and Biomechanics of the*

- Musculoskeletal System*. 2nd ed. American Academy of Orthopaedic Surgeons, pp. 330–368.
- Bouassida A, Latiri I, Bouassida S, Zalleg D, Zaouali M, Feki Y, Gharbi N, Zbidi A and Tabka Z**, 2006. Parathyroid Hormone and Physical Exercise: A Brief Review. *Journal of Sports Science and Medicine*; 5: 367–374.
- Dambacher MA, Kissling R and Qin L, Neff M**, 2000(?). Osteoporosis: Where do we stand – Where are we heading? Diagnostic Possibilities. In: Dischl FH (ed). *Menopause Andropause. Hormone replacement therapy through the ages. New cognition and therapy concepts*. Available from URL: <http://journals.imc.akh-wien.ac.at/menopause>.
- Febbraio MA and Pedersen BK**, 2002. Muscle-derived interleukin-6: mechanism for activation and possible biological roles. *FASEB J*; 16: 1335–1347.
- Fischer CP**, 2006. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exerc Immunol Rev*; 12: 6–33.
- Forsyth JJ and Davey RC**, 2008. Bone Health. In: Redgrave A (Ed). *Exercise Physiology in Special Populations*. Philadelphia: Churchill Livingstone, pp. 234–237.
- Forwood MR, Li L, Kelly WL and Bennet MB**, 2001. Growth hormone is permissive for skeletal adaptation to mechanical loading. *J Bone Miner Res*; 16: 2284–2290.
- Franklin BA**, 2000. *ACSM'S Guideline for Exercise Testing and Prescription*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 57–80.
- Frost HM**, 1999. Joint anatomy, design, and arthroses: insights of the Utah paradigm. *Anat Rec*; 255: 162–174.
- Jee WSS**, 2000. Principles in Bone Physiology. *J Musculoskel Neuron Interact*; 1: 11–13.
- Lane NE and Yao W**, 2009. Developments in the scientific understanding of osteoporosis. *Arthritis Research & Therapy*; 11: 228.
- Lanyon LE**, 1991. Biomechanical properties of bone and response of bone to mechanical stimuli: Functional strain as a controlling influence of bone modeling and remodeling behaviour in: Hall BK (Ed). *Bone vol 3: Bone Matrix and Bone Specific Products*. Florida: CRC Press, pp. 79–105.
- Laswati H**, 2007. Kombinasi Latihan Fisik dan Pemberian Daun Semanggi menghambat peningkatan ketidakseimbangan proses Remodeling Tulang Perempuan Pascamenopause melalui peran reseptor Estrogen α sel osteoblas. Makalah Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.
- Leibson CL, Tosteson AN, Gabriel SE, Ransom JE and Melton LJ**, 2002. Mortality, disability, and nursing home use for persons with and without hip fracture: A population-based study. *J Am Geriatr Soc*; 50(10): 1644–1650.
- Lester ME, Urso ML, Evans RK, Pierce JR, Spiering BA, Maresh CM, Hatfield DL, Kraemer WJ and Nindl BC**, 2009. Influence of exercise mode and osteogenic index on bone biomarker responses during short-term physical training. *Bone*; 45(4): 768–776.
- Manolagas SC**, 2000. Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanism and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Endocrine Reviews*; 21(2): 115–137.
- Mosley JR**, 2000. Osteoporosis and bone functional adaptation: Mechanobiological regulation of bone architecture in growing and adult bone, a review. *Journal of Rehabilitation Research and Development*; 37(2). Available from: <http://www.vard.org/jour/00/37/2/mosle372.htm>.
- Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC and Chrousos GP**, 1998. The Pathophysiologic Roles of Interleukin-6 in Human Disease. *Ann Intern Med*; 128: 127–137.
- Pedersen BK and Febbraio MA**, 2008. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiol Rev*; 88: 1379–1396.
- Roeshadi D**, 1997. Deteksi Dini Osteoporosis pada Perempuan Pra dan Pascamenopause. Disertasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rosen CJ and Tenenhouse A**, 1998. Biochemical markers of bone turnover. A look at laboratory tests that reflect bone status. *Postgraduate Medicine*; 104(4), Oct 1998.
- Rubin C, Xu G and Judex S**, 2001. The Anabolic Activity of Bone Tissue suppressed by Disuse is normalized by Brief Exposure to Extremely Low-Magnitude Mechanical Stimuli. *FASEB J*; 15: 2225–2229.
- Santos-Rocha R, Veloso A, Machado ML, Valamatos MJ and Ferreira C**, 2009. Peak Ground and Joint Force in step-exercise depending on Step Pattern

and Stepping Rate. *The Open Sport Science Journal*; 2: 10–21.

Santos-Rocha RA, Oliveira CS and Veloso AP, 2006. Osteogenic index of step exercise depending on choreographic movements, session duration, and stepping rate. *Br J Sports Med*; 40: 860–866.

Suleman A. Exercise Prescription. eMedicine, October 5, 2001. Available from URL: <http://www.emedicine.com/sports/topic146.htm>

Tinduh D, Mei Wulan SM and Roeshadi D, 2004. The Effect of Increased Number of Step Per Minute to

the Bone Adaptation Process on A Group of Post Menopausal Women at Surabaya. Unpublished.

Tinduh D, Retnowati E, Roeshadi D, Harjanto and Rantam FM, 2012. Perbedaan kadar IL-6 dan *circulated endogenous stem cell* dan *osteoprogenitor cell* pada perempuan pra dan pascamenopause. Unpublished.

Tripette J, Connes P, Hedreville M, Etienne-Julan M4, Marlin L, Hue1 O and Hardy-Dessources M-D, 2010. Patterns of exercise-related inflammatory response in sickle cell trait carriers. *Br J Sports Med*; 44: 232–237.