

Analisis *In Vivo* Aktivitas Antihipertensi dari Protein Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) Terhidrolisis (*In Vivo* Analysis of Antihypertensive Activity of Melinjo Seed (*Gnetum gnemon*) Hydrolyzed-Protein)

Yeni Tri Puspitaningrum¹, Erfan Efendi¹, Tri Agus Siswoyo²

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Jember

²CDAST (Center for Development of Advanced Sciences and Technology), Universitas Jember
e-mail: triagus.faperta@unej.ac.id

Abstract

Hypertension is a serious health problem and requires a good handling. An alternative treatment for hypertension is required due to the treatment of hypertension took a long period of time causing unwanted side effects. Melinjo seed hydrolyzed-proteins have an ACE-inhibitor activity, an antihypertensive effect. This study aimed to determine the antihypertensive effects of melinjo seed hydrolyzed-proteins in hypertensive rats. Wistar rats induced with prednisone 1,5 mg/kg body weight and 2% NaCl for 7 days and then treated. There were 7 groups: a normal group K, a group K(-) which is a hypertensive rats without treatment, a group K(+) which is hypertensive rats with captopril 2,5 mg/kg body weight on day 8th, and four treatment groups P1, P2, P3, and P4 which are hypertensive rats with melinjo seed hydrolyzed-proteins with a dose of 5, 10, 20, and 30 mg/kg body weight on day 8th, respectively. Blood pressure was measured before and after treatment every 1 hour for 5 hours. The results showed that melinjo seed (*Gnetum gnemon*) hydrolyzed-proteins can decrease blood pressure in hypertensive rats.

Keywords: Antihypertensive, *Gnetum gnemon*, Hydrolyzed-Protein, Blood Pressure

Abstrak

Hipertensi merupakan masalah kesehatan yang serius dan memerlukan penanganan yang baik. Diperlukan suatu alternatif pengobatan untuk hipertensi karena pengobatan penyakit hipertensi pada umumnya membutuhkan jangka waktu yang panjang sehingga timbul efek samping yang tidak diinginkan. Protein biji melinjo terhidrolisis mempunyai aktivitas ACE-inhibitor yang merupakan suatu antihipertensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihipertensi dari protein biji melinjo terhidrolisis pada tikus hipertensi. Tikus Wistar diinduksi dengan prednison 1,5 mg/kgBB dan NaCl 2% selama 7 hari kemudian diberi perlakuan. Terdapat 7 kelompok: kelompok K merupakan tikus normal, kelompok K(-) adalah tikus hipertensi tanpa pengobatan, kelompok K(+) adalah tikus hipertensi dan diberi kaptopril 2,5 mg/kgBB pada hari ke-8, dan empat kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 merupakan tikus hipertensi dan masing-masing diberikan protein biji melinjo terhidrolisis dengan dosis 5, 10, 20, dan 30 mg/kgBB pada hari ke-8. Tekanan darah diukur sebelum dan setelah diberi perlakuan tiap 1 jam selama 5 jam. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa protein biji melinjo terhidrolisis mampu menurunkan tekanan darah tikus hipertensi.

Kata kunci: Antihipertensi, *Gnetum gnemon*, Protein Terhidrolisis, Tekanan Darah

Pendahuluan

Hipertensi merupakan masalah kesehatan yang serius dan memerlukan penanganan yang baik, mengingat prevalensinya cukup tinggi dan komplikasinya

dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas serta mengurangi harapan hidup [1]. Sekitar 1 dari 5 orang (20%) penduduk Indonesia menderita hipertensi. Pengobatan penyakit hipertensi pada umumnya membutuhkan jangka waktu yang panjang. Faktor keamanan

penggunaan obat jangka panjang menjadi perhatian utama untuk pemilihan obat [2]. Oleh karena itu, diperlukan alternatif dalam menangani hipertensi. Salah satunya yaitu dengan memberi asupan nutrisi yang baik untuk tubuh. Memperbaiki asupan nutrisi tersebut bisa dengan menggunakan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis yang merupakan suatu bahan nutrasetikal yang mempunyai aktivitas ACE-inhibitor. Hipotesis dari penelitian ini adalah protein biji melinjo (*Gnetum gnemoni*) terhidrolisis mempunyai efek antihipertensi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antihipertensi dari protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis pada tikus yang dibuat hipertensi.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental laboratories*. Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan *pretest-posttest control group design*. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling* dan sampel yang digunakan adalah tikus Wistar jantan, umur 2-3 bulan, dengan berat badan ± 200 gram, dan kondisi fisik sehat. Terdapat 7 kelompok perlakuan, yaitu kelompok K yang merupakan tikus normal tidak dibuat hipertensi; kelompok K(-) dibuat hipertensi tapi tidak diturunkan; kelompok K(+) dibuat hipertensi dan diberikan kaptopril dosis 2,5 mg/kgBB pada hari ke-8; kelompok P1, P2, P3, dan P4 dibuat hipertensi dan masing-masing diberikan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dengan dosis 5, 10, 20, dan 30 mg/kgBB pada hari ke-8. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus dengan total sampel 28 tikus. Pengukuran tekanan darah dilakukan pada hari ke-8 sebelum dan sesudah diberikan perlakuan tiap 1 jam selama 5 jam. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Analisis Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember sebagai tempat pembuatan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai tempat pemeliharaan dan pengukuran tekanan darah tikus. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2013. Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan metode *non-invasive* cara *tail cuff* menggunakan alat *Ugo Basile 58500 Blood Pressure Recorded*. Bahan yang digunakan yaitu protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis, kaptopril, prednison, dan NaCl 2%. Data dianalisis dengan menggunakan uji

Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil Penelitian

Sampel penelitian yaitu 28 ekor tikus Wistar jantan yang dibuat hipertensi dengan pemberian prednison dosis 1,5 mg/KgBB dan NaCl 2% selama 7 hari. Pada hari ke-8 masing-masing kelompok perlakuan diukur tekanan darahnya dan kemudian diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing, kemudian diukur tekanan darah tiap 1 jam selama 5 jam. Pada penelitian ini yang akan lebih dibahas adalah tekanan darah sistolik karena pada tekanan darah diastolik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok dan pada jam ke-0 sampai jam ke-5, selain itu tekanan darah diastolik rentang 76-80 masih merupakan dalam rentang normal. Data hasil pengukuran tekanan darah tikus yang dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 1. Tekanan darah kelompok kontrol

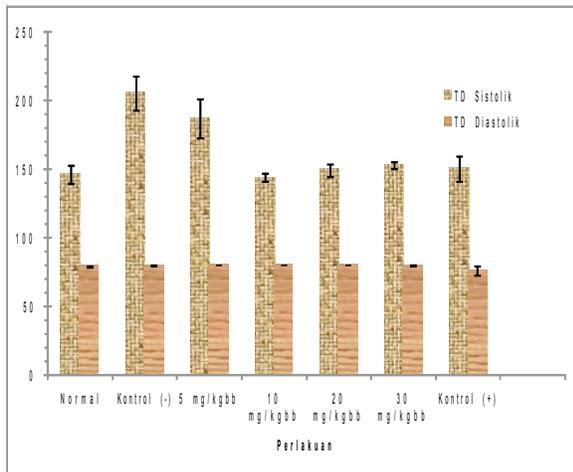
Waktu (Jam)	Kontrol normal		Kontrol (-)		Kontrol (+)	
	TDS (mmHg)	TDD (mmHg)	TDS (mmHg)	TDD (mmHg)	TDS (mmHg)	TDD (mmHg)
0	148	80	199	80	197	80
1	149	78	196	80	152	79
2	147	79	206	80	151	76
3	141	76	210	80	153	79
4	133	81	214	80	138	80
5	148	80	201	80	134	76

Tabel 2. Tekanan darah kelompok perlakuan

Waktu (jam)	P1		P2		P3		P4	
	TDS	TDD	TDS	TDD	TDS	TDD	TDS	TDD
0	212	80	215	80	204	80	206	80
1	202	79	142	80	142	78	150	79
2	187	80	144	80	150	80	153	80
3	202	80	142	78	144	78	151	79
4	215	80	144	80	144	80	142	80
5	206	80	142	80	151	79	149	80

Keterangan: tekanan darah dalam mmHg

Gambar 1 di bawah ini merupakan grafik yang menunjukkan data tekanan darah pada jam ke-2 setelah perlakuan.



Gambar 1. Grafik tekanan darah pada jam ke-2 setelah perlakuan

Pembahasan

Pada protein biji melinjo terhidrolisis terdapat aktivitas ACE-inhibitor [3]. ACE-inhibitor dapat menghambat kerja dari *Angiotensin Converting Enzyme* yang mempunyai peran dalam patofisiologi terjadinya hipertensi. Hewan coba atau hewan laboratorium pada penelitian ini menggunakan tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*). Tikus Wistar termasuk hewan mamalia, oleh karena itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya [4]. Selain itu, tikus Wistar lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak, sangat mudah ditangani, berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan serta memiliki ukuran ekor yang sesuai dengan ukuran manset alat pengukur tekanan darah [4]. Tikus yang digunakan berumur 2-3 bulan dengan berat ± 200 gram. Tikus yang dipilih adalah tikus dengan jenis kelamin jantan karena memiliki sistem hormonal yang lebih stabil dibanding tikus betina sehingga dapat meminimalkan variasi biologi yang berkaitan dengan pengaruh hormonal yang berubah-ubah yang dapat mempengaruhi hasil penelitian [5]. Pengendalian terhadap variabel penelitian dan kriteria tikus ditujukan untuk memperkecil variasi biologi. Pengendalian yang dilakukan meliputi jenis tikus, jenis kelamin jantan, berat badan

berkisar ± 200 gram, usia 2-3 bulan (dewasa), dan diperlakukan sama yaitu ditempatkan dalam kandang dan diberi makanan yang sama. Tekanan darah diukur dengan metode *non-invasive* dengan cara *tail cuff* menggunakan alat *Ugo Basile 58500 Blood Pressure Recorder*.

Tekanan darah tikus dikatakan hipertensi bila tekanan darah sistolik melebihi 120 mmHg [6]. Sumber lain menyebutkan bahwa hipertensi dicapai setelah tikus mengalami peningkatan tekanan darah >10 mmHg dari tekanan darah pada kelompok normal [7].

Menurut Thompson [8], suatu zat uji dikatakan mempunyai efek antihipertensi jika mampu menurunkan tekanan darah sistolik ≥ 20 mmHg. Jadi, dalam penelitian ini apabila terjadi penurunan tekanan darah sistolik ≥ 20 mmHg, maka sudah dapat dikatakan mempunyai efek antihipertensi.

Rentang nilai tekanan darah sistolik kelompok normal adalah 133-149 mmHg, hal tersebut menunjukkan bahwa dengan alat pengukur tekanan darah, tikus normal mempunyai tekanan darah sistolik dalam rentang 133-149 mmHg yang digunakan sebagai standar tekanan darah pada tikus normal, meskipun tekanan fisiologis tikus normal adalah 100/80 mmHg. Jadi, kelompok normal ini digunakan sebagai acuan tekanan darah pada tikus normal. Pada kelompok kontrol (-) yang dibuat hipertensi tapi tidak diberikan perlakuan, tekanan darah setelah perlakuan tetap masih berada dalam rentang hipertensi, sehingga dapat dikatakan bahwa tekanan darah tidak terdapat perubahan yang menunjukkan bahwa tidak terjadi kompensasi pada tubuh tikus yang dibuat hipertensi. Rentang nilai tekanan darah sistolik kelompok kontrol (-) adalah 196-214 mmHg. Berdasarkan data tersebut diketahui terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal. Dari hasil uraian di atas pemberian prednison 1,5 mg/KgBB dan NaCl 2% dapat meningkatkan tekanan darah pada tikus normal melalui mekanisme sistem renin-angiotensin-aldosteron dan retensi cairan.

Setelah dianalisis, tekanan darah pada kelompok kontrol (+) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol (-). Kelompok kontrol (+) berhasil menurunkan tekanan darah sistolik. Pada kelompok kontrol (+) diberikan kaptopril yang sudah diketahui merupakan golongan ACE-inhibitor yang sesuai dengan aktivitas yang dimiliki protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis. Sehingga dapat digunakan sebagai pembandingan dalam aktivitas ACE-inhibitor yang

terdapat pada protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis. Kaptopril yang digunakan sebagai pembanding merupakan obat hipertensi yang bekerja menghambat enzim pengubah angiotensin I menjadi angiotensin II (ACE-I) dan menginaktivkan bradikinin, suatu vasodilator kuat [9]. Kerja kaptopril ini sesuai digunakan untuk menurunkan tekanan darah tikus hipertensi yang diinduksi dengan prednison 1,5 mg/KgBB dan NaCl 2% yang aktivitas renin-angiotensinya meningkat [10]. Dosis kaptopril 2,5 mg/KgBB yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis hasil konversi dari dosis efektif pada manusia ke tikus [11].

Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tekanan darah sistolik kelompok kontrol (+) dengan kelompok perlakuan yang diberikan dosis 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB, dan 30 mg/KgBB, namun terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan yang diberikan dosis 5 mg/KgBB. Tekanan darah sistolik kelompok perlakuan dosis 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB, dan 30 mg/KgBB tidak berbeda signifikan dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dosis 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB, dan 30 mg/KgBB mampu menurunkan tekanan darah sistolik sehingga tekanan darah pada kelompok tersebut dapat turun mendekati tekanan darah pada kelompok normal.

Setelah perlakuan, tikus yang diberikan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dengan dosis 5 mg/KgBB memiliki tekanan darah sistolik sebesar 187-215 mmHg. Tikus yang diberikan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dengan dosis 10 mg/KgBB memiliki tekanan darah sistolik sebesar 142-144 mmHg. Tikus yang diberikan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dengan dosis 20 mg/KgBB memiliki tekanan darah sistolik sebesar 142-151 mmHg. Tikus yang diberikan protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dengan dosis 30 mg/KgBB memiliki tekanan darah sistolik sebesar 142-153 mmHg. Data tersebut menunjukkan bahwa protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dosis 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB, dan 30 mg/KgBB mampu menurunkan tekanan darah sistolik secara signifikan. Sementara pada protein dosis 5 mg/KgBB meskipun berbeda secara signifikan dengan kelompok normal dan kontrol (+), pada jam ke-2 setelah pemberian mampu menurunkan tekanan darah sistolik dari 212

mmHg menjadi 187 mmHg yang berarti terjadi penurunan ≥ 20 mmHg.

Penurunan tekanan darah sebanyak 5-6 mmHg dapat mengurangi risiko terkena serangan stroke sampai 40%, penyakit jantung koroner 15-20% dan mengurangi kegagalan jantung. Efek samping dari hipertensi adalah meningkatkan serangan jantung, kegagalan jantung, stroke dan kerusakan ginjal [12]. Hasil penelitian Bovet *et al.* [13] terhadap volunteer menunjukkan bahwa penurunan tekanan darah 7 mmHg terjadi setelah meminum obat antihipertensi 0-3 hari perminggu, dengan tekanan darah awal 158 mmHg. Bila mengkonsumsi obat 6-7 hari perminggu maka tekanan darah akan turun sampai 16 mmHg. Dari penggunaan obat antihipertensi terhadap pasien dapat mengurangi risiko terkena stroke sampai 18%, penyakit jantung koroner 16% dan kematian pecah pembuluh darah 21%. Penurunan tekanan darah rata-rata 5-6 mmHg untuk diastolik dan 10-12 mmHg untuk sistolik [14]. Penurunan tekanan darah sebaiknya tidak terlalu cepat tetapi secara perlahan. Dalam pengobatan hipertensi kronik, penurunan tekanan darah harus bertahap dan memerlukan pendekatan individual. Durasi penurunan tekanan darah untuk obat antihipertensi yang terbaik adalah yang tidak terlalu cepat dalam menurunkan tekanan darah setelah pemberiannya [15]. Dalam penelitian ini, protein dosis 10 mg/KgBB, 20 mg/KgBB, dan 30 mg/KgBB menurunkan tekanan darah langsung menuju tekanan darah normal, sama halnya dengan kontrol (+) yaitu kaptopril juga menurunkan tekanan darah sistolik langsung menuju tekanan darah normal.

Dari data-data di atas, diketahui bahwa protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis mampu menurunkan tekanan darah pada tikus Wistar jantan yang dibuat hipertensi. Hal ini disebabkan karena aktivitas ACE-inhibitor yang terkandung dalam protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis. ACE-inhibitor akan mencegah *Angiotensin Converting Enzyme* mengubah Angiotensin I menjadi Angiotensin II sehingga tidak ada yang menyebabkan peningkatan tekanan darah. Seperti yang diketahui bahwa Angiotensin II berperan dalam meningkatkan tekanan darah melalui efek retensi cairan, stimulasi saraf simpatis, dan peningkatan sekresi ADH dan Aldosteron.

Simpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dapat menurunkan tekanan darah pada tikus Wistar yang dibuat hipertensi. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai susunan rantai protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis yang mempunyai aktivitas ACE-inhibitor ini dan penelitian lebih lanjut untuk mengembangkan produksi bahan nutrasetikal dari protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dalam skala besar.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Program Insentif Riset Sinergis Nasional (SINas) Kemenristek RI atas nama Bapak Tri Agus Siswoyo, SP., M.Agr., Ph.D yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Darmojo B. Mengamati Perjalanan Epidemiologi Hipertensi di Indonesia. *Jurnal Medika*. 2001; 24(7): 442-448.
2. Sukamdar EY. *Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan*. Jakarta: Balai Pustaka. 2006.
3. Siswoyo TA, Sugiharto B. Produksi Pengembangan Protein Antihipertensi Generasi Baru dari *Gnetum Gnemon* Protein sebagai Bahan Nutraceutical Komersial. *Jurnal Prosiding Insinas*. 2012.
4. Smith JB, Mangkoewidjojo S. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis, Tikus Laboratorium (Rattus norvegicus)*. Jakarta: Universitas Indonesia. 1988.
5. Felig P, Lawrence CAS. *Endocrinology and Metabolism*. 4th ed. New York: Mc. Graw Hill. 2001.
6. Guyton AC, Hall JE. *Buku Ajar Fisiologi*. Edisi ke-11. Jakarta: EGC. 2006.
7. Ciptaningsih E. *Uji Aktivitas Antioksidan dan Karakteristik Fitokimia pada Kopi Luwak Arabika dan Pengaruhnya terhadap Tekanan Darah Tikus Normal dan Tikus Hipertensi*. Program Studi Magister Ilmu Kefarmasian. Fakultas MIPA. Universitas Indonesia. 2012.
8. Fidrianny I, Padmawinata K, Soetarno S, Yulinah E. Efek Antihipertensi dan Hipotensi Beberapa Fraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Lapis Kucai (*Allium schoenoprasum* L., Liliaceae). *J Mat Si*. 2003; 8: 147-150.
9. Katzung, Bertam G. *Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 2*. Edisi Ke-8. Jakarta: Salemba Medika Glance. 2001.
10. Badyal DK, Dadhich AP. Animal Models of Hypertension and Effect of Drugs. *Indian J Pharmacology*. 2003; 35: 349-362.
11. Laurence DR, Bennet PN. *Clinical Pharmacology*. Edisi ke-7. New York: Churcill Livingstone. 2000.
12. Alleyne T, Roche S, Thomas C, Shirley A. The Control of Hypertension by Use of Coconut Water and Mauby, Two Tropical Food Drink. *West Indian Med J*. 2005; 54(1): 3-8.
13. Bovet P, Burnier M, Madeleine G, Waeber B, Pascaud F. Monitoring One Year Compliance to Antihypertension Medication in The Seychelles. *J Bull World Health Org*. 2002; 8(1).
14. Lindhlom LH. The Problem of Uncontrolled Hypertension. *J Hum Hypertension*. 2003; 16: S3-S8.
15. Pikir BS. Penatalaksanaan Komplikasi Kardiovaskular pada Hipertensi. *Cermin Dunia Kedokteran*. 1997; 116: 16-21.