

Uji Aktivitas Protein Isolat Biji Melinjo (*Gnetum gnemon*) sebagai Antihipertensi secara *In Vivo*

(*In Vivo* Activity Test of Melinjo Seed (*Gnetum gnemon*) Isolate Protein as an Antihypertensive Agent)

Kartika Tari Azhar¹, Tri Agus Siswoyo², Ali Santosa³

^{1,3}Fakultas Kedokteran Universitas Jember

²CDAST (Center for Development of Advanced Sciences Technology), Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

e-mail: triagus.faperta@unej.ac.id

Abstract

*Hypertension is a state of a person when there is an increase in systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg. A long term treatment of hypertension caused some side effects, therefore an alternative treatment for hypertension such as melinjo seed isolate proteins is needed. The study aimed to determine the antihypertensive effects of melinjo seed isolate proteins in hypertensive rats. Wistar rats were induced with prednisone 1,5 mg/kg body weight and 2% NaCl for 7 days and then treated. There were 7 treatment groups, group K was normal rat, group K(-) was a hypertensive rats without treatment, group K(+) was hypertensive rats and treated with captopril 2,5 mg/kg body weight on day 8, group P1, P2, P3, and P4 were hypertensive rats and each treated with melinjo seed isolate proteins with a dose of 5, 10, 20, and 30 mg/kg body weight respectively on day 8. Blood pressure was measured before and after treatment every 1 hour for 5 hours. Data was analyzed using Kruskal Wallis and Mann-Whitney test. The results showed that melinjo seed (*Gnetum gnemon*) isolate proteins incapable in lowering blood pressure in hypertensive rats.*

Keywords: Antihypertensive, *Gnetum gnemon*, Isolate Protein, Blood Pressure

Abstrak

Hipertensi merupakan suatu keadaan seseorang ketika terjadi peningkatan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan/atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg. Pengobatan jangka panjang hipertensi menimbulkan beberapa efek samping sehingga diperlukan suatu alternatif pengobatan untuk hipertensi, misalnya dengan protein isolat biji melinjo. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihipertensi dari protein isolat biji melinjo pada tikus hipertensi. Tikus wistar diinduksi dengan prednison 1,5 mg/kgBB dan NaCl 2% selama 7 hari kemudian diberi perlakuan. Terdapat 7 kelompok perlakuan, kelompok K merupakan tikus normal, kelompok K(-) adalah tikus hipertensi tapi tidak diberi perlakuan, kelompok K(+) adalah tikus hipertensi dan diberi kaptopril 2,5 mg/kgBB pada hari ke-8, kelompok P1, P2, P3, dan P4 merupakan tikus hipertensi dan masing-masing diberikan protein isolat biji melinjo dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 20 mg/kgBB, dan 30 mg/kgBB pada hari ke-8. Tekanan darah diukur sebelum dan setelah diberi perlakuan tiap 1 jam selama 5 jam. Data dianalisis secara statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis dan Mann*. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa protein isolat biji melinjo tidak dapat menurunkan tekanan darah tikus model hipertensi.

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

Pendahuluan

Hipertensi merupakan suatu keadaan seseorang ketika terjadi peningkatan tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg. Lebih dari 90% penyebab hipertensi merupakan hipertensi esensial yaitu penyebab pastinya tidak diketahui dan kurang dari 10% penyebab hipertensi merupakan hipertensi non esensial yaitu penyebabnya dapat diketahui antara lain penyakit gagal ginjal, kelainan endokrin, asupan garam terlalu tinggi, stres atau salah pemakaian obat [1].

Pengobatan hipertensi yang berlangsung seumur hidup justru dapat menimbulkan beberapa efek samping yang bisa merugikan, seperti hipotensi, pusing, sakit kepala, letih, mual, diare, kram otot, nyeri perut, batuk kering, gangguan ginjal [2]. Pemilihan obat-obatan antihipertensi saat ini telah banyak mengalami perubahan, karena perlu mempertimbangkan keefektifan, efek samping yang ditimbulkan, dampak pemakaian jangka panjang, dan nilai ekonomisnya. Berdasarkan hal-hal tersebut maka diperlukan suatu penelitian sebagai alternatif yang memanfaatkan sumber lokal alami yang dimiliki, salah satunya adalah tanaman melinjo (*Gnetum gnemon*).

Hipotesis dari penelitian ini adalah protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) memiliki aktivitas antihipertensi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antihipertensi dari protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) pada tikus yang dibuat hipertensi.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experimental design* 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 diterapi; 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 isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 20 mg/kgBB, 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 isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dan di Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember sebagai tempat pemeliharaan dan pengukuran tekanan darah tikus. Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2014. Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan metode *non-invasive* cara *tail cuff* menggunakan alat *Ugo Basile 58500 Blood Pressure Recorded*. Data dianalisis dengan menggunakan uji *One Way Anova* ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significantly Different*) dan 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 baik antar kelompok maupun pada jam ke-0 sampai jam ke-5, selain itu, tekanan darah diastolik dalam rentang 76-80 mmHg masih merupakan 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

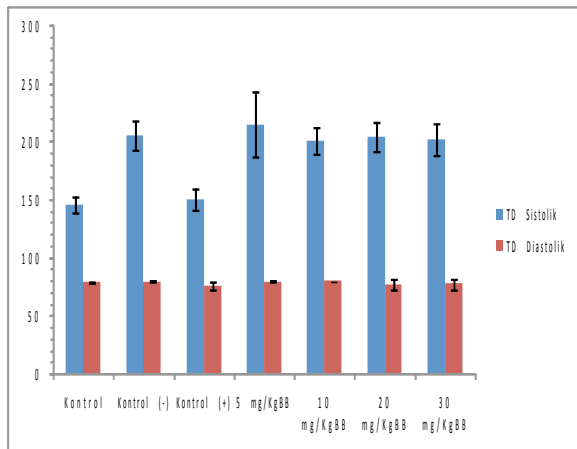
| Waktu (Jam) | Kontrol normal | | Kontrol (-) | | Kontrol (+) | |
|-------------|----------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | TDS (mmHg) | TDD (mmHg) | TDS (mmHg) | TDD (mmHg) | TDS (mmHg) | TDD (mmHg) |
| 0 | 148 | 80 | 199 | 80 | 197 | 80 |
| 1 | 149 | 78 | 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 | 230 | 80 | 215 | 80 | 213 | 80 | 219 | 80 |
| 1 | 194 | 80 | 194 | 81 | 188 | 77 | 206 | 80 |
| 2 | 216 | 80 | 201 | 80 | 205 | 77 | 202 | 78 |
| 3 | 199 | 80 | 213 | 80 | 201 | 80 | 199 | 80 |
| 4 | 203 | 80 | 197 | 78 | 197 | 80 | 189 | 80 |
| 5 | 216 | 80 | 192 | 80 | 201 | 79 | 203 | 80 |

Keterangan: tekanan darah dalam mmHg

Efek kerja dari kaptopril yang merupakan suatu ACE-inhibitor maksimal terjadi pada 2 jam setelah pemberian maka yang akan dianalisis lebih lanjut yaitu data pada jam ke-2 setelah perlakuan. Data hasil pengukuran tekanan darah tikus pada jam ke-2 setelah perlakuan dapat dilihat pada gambar 1 dibawah ini.



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

Dari hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan signifikansi 0,003 (<0,05) untuk tekanan darah sistolik pada jam ke-0, signifikansi 0,002 (<0,05) pada jam ke-1, signifikansi 0,010 (<0,05) pada jam ke-2, signifikansi 0,002 (<0,05) pada jam ke-3, dan signifikansi 0,005 (<0,05) pada jam ke-4 setelah perlakuan menunjukkan bahwa antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan. Kemudian analisis dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan antar dua kelompok perlakuan.

Sedangkan untuk tekanan darah sistolik pada jam ke-5 setelah perlakuan, analisis data menggunakan uji *One Way Anova* ($p > 0,05$), didapatkan signifikansi 0,000 (<0,05) yang menunjukkan bahwa antar kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan maka analisis dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Significantly Different)* untuk mengetahui adanya perbedaan antar dua kelompok perlakuan.

Pembahasan

Menurut Siswoyo (2012), aktivitas ACE-inhibitor dari protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) sangat lemah. ACE-inhibitor dapat menghambat kerja dari *Angiotensin Converting Enzyme* yang mempunyai peran dalam patofisiologi terjadinya hipertensi [3].

Hewan coba 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. 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 Recorded*.

Rata-rata nilai tekanan darah sistolik kelompok normal adalah $144 \text{ mmHg} \pm 6,25$, hal tersebut menunjukkan bahwa dengan alat pengukur tekanan darah, tikus normal mempunyai rata-rata tekanan darah sistolik $144 \text{ mmHg} \pm 6,25$ yang digunakan sebagai standar tekanan darah pada tikus normal, meskipun tekanan fisiologis tikus normal adalah $100/80 \text{ mm/Hg}$. 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. Rata-rata nilai tekanan darah sistolik kelompok kontrol (-) adalah $204 \text{ mmHg} \pm 6,89$. Berdasarkan data tersebut diketahui terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal. Dari hasil uraian di atas pemberian prednison $1,5 \text{ mg/KgBB}$ dan $\text{NaCl } 2\%$ 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* sehingga dapat digunakan sebagai pembanding dalam aktivitas *ACE-inhibitor* yang terdapat pada protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*). 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 [6]. Kerja kaptopril ini sesuai digunakan untuk menurunkan tekanan darah tikus hipertensi yang diinduksi dengan prednison $1,5 \text{ mg/KgBB}$ dan $\text{NaCl } 2\%$ yang aktivitas renin-angiotensinnya meningkat [7]. Dosis kaptopril $2,5 \text{ mg/KgBB}$ yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis hasil konversi dari dosis efektif pada manusia ke tikus [8].

Pada jam ke-1, 2, 3, 4, dan 5 setelah perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan antara tekanan darah sistolik kelompok kontrol (+) dengan kelompok perlakuan dosis 5, 10, 20 dan 30 mg/KgBB , sedangkan pada jam ke-0 tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara tekanan darah sistolik kelompok kontrol (+)

dengan kelompok-kelompok perlakuan. Pada jam ke-0, 1, 2, 3, 4, dan 5 tekanan darah sistolik kelompok perlakuan dosis 5, 10, 20, dan 30 mg/KgBB berbeda signifikan dengan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dosis 5, 10, 20, dan 30 mg/KgBB belum mampu menurunkan tekanan darah sistolik sehingga tekanan darah pada kelompok tersebut tidak dapat turun mendekati tekanan darah pada kelompok normal.

Setelah perlakuan, tikus yang diberikan protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dengan dosis 5 mg/KgBB memiliki rata-rata tekanan darah sistolik sebesar $210 \text{ mmHg} \pm 13,40$, pada dosis 10 mg/KgBB sebesar $202 \text{ mmHg} \pm 9,80$, dosis 20 mg/KgBB sebesar $201 \text{ mmHg} \pm 8,30$ dan dosis 30 mg/KgBB sebesar $203 \text{ mmHg} \pm 9,78$. Data tersebut menunjukkan bahwa protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dosis 5, 10, 20, dan 30 mg/KgBB belum mampu menurunkan tekanan darah sistolik secara signifikan.

Dari data-data di atas, diketahui bahwa protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) belum mampu menurunkan tekanan darah pada tikus wistar jantan yang dibuat hipertensi. Hal ini disebabkan karena aktivitas *ACE-inhibitor* yang terkandung dalam protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) sangat lemah. Selain itu, protein merupakan kelompok dari makromolekul sehingga tidak dapat menempel pada *catalytic site* yang umumnya berbentuk celah. Seperti yang diketahui, *catalytic site* merupakan tempat pengikatan substrat atau proses katalisis berlangsung. Faktor-faktor tersebut menyebabkan perubahan *Angiotensin I* menjadi *Angiotensin II* belum mampu dicegah sehingga tekanan darah tidak dapat turun mendekati nilai tekanan darah normal. 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 isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) tidak mempunyai aktivitas antihipertensi secara *in-vivo* karena tidak dapat menurunkan tekanan darah secara signifikan pada tikus wistar yang dibuat hipertensi.

Perlu dilakukan inovasi dalam meningkatkan kemampuan antihipertensi dari protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) dengan melakukan modifikasi protein secara

enzimatik misalnya protein biji melinjo (*Gnetum gnemon*) terhidrolisis dan perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan protein isolat biji melinjo (*Gnetum gnemon*) selain sebagai antihipertensi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Program Insentif Riset Sinergis Nasional (SINas) Kemenristek RI yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Ismail D. Penyakit Jantung Hipertensi: Patogenesis dan Paofisiologi Terkini, dalam: Simposium Pendekatan Holistik Penyakit kardiovaskular. Jakarta: Pusat Informasi dan Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam; 2003.
- [2] Crawford. Approach to Cardiac Disease Diagnosis. 3rd ed. 2006. Lange 1: hal 1-13.
- [3] Siswoyo TA, Sugiharto B. Produksi Pengembangan Protein Antihipertensi

Generasi Baru dari *Gnetum Gnemon* Protein sebagai Bahan Nutraceutical Komersial. J 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 Edition. New York: Mc. Graw Hill; 2001.
- [6] Katzung. Farmakologi Dasar dan Klinik Buku 2. Edisi Ke-8. Jakarta: Salemba Medika Glance; 2001.
- [7] Badyal DK, Dadhich AP. Animal Models of Hypertension and Effect of Drugs. Indian J of Pharmacology. 2003: Volume (35): 349-362.
- [8] Laurence RR, Baqarach AL. Evaluation of Drug Activities. Pharmacometrics. London: Academic Press. 2000: Vol. I.