

## BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Efek Terapi *Water Soluble Extract* Yoghurt Susu Kambing terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Tikus Model Hipertensi DOCA-salt

Hasil pengukuran kadar malondialdehida (MDA) organ aorta pada tikus model hipertensi induksi DOCA-salt menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok perlakuan ( $p < 0,05$ ). Analisa statistik dilakukan dengan menggunakan uji *one way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji *Tukey* atau Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) (**Lampiran 13**) untuk melihat perbedaan antar perlakuan yang dinyatakan dengan notasi huruf. Hasil pengujian kadar MDA organ aorta masing – masing kelompok ditunjukkan pada **Tabel 5.1**

**Tabel 5.1** Perbandingan kadar MDA pada masing-masing kelompok perlakuan

Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA Tikus (mg/ml)	Penurunan Kadar MDA Terhadap Kelompok Hipertensi (%)
Normal (A)	$0,318 \pm 0,087^a$	-
Hipertensi (B)	$0,612 \pm 0,097^c$	-
Terapi captopril 5 mg/kgBB (C)	$0,522 \pm 0,029^{bc}$	14,7
Terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB (D)	$0,493 \pm 0,068^{bc}$	19,4
Terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB (E)	$0,431 \pm 0,083^{ab}$	29,5

Keterangan: Notasi yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar perlakuan terhadap kadar MDA ( $p < 0,05$ ).

Pada **Tabel 5.1** nilai kadar MDA kelompok A atau tikus normal ( $0,318 \pm 0,087$  mg/ml) digunakan sebagai acuan kadar MDA untuk tikus

sehat atau tanpa perlakuan. Adanya kadar MDA pada kelompok normal dikarenakan radikal bebas seperti ROS merupakan hasil dari metabolisme seluler oleh tubuh yang dihasilkan secara normal. Radikal bebas kemudian akan berinteraksi dengan komponen membran sel pada aorta seperti fosfolipid yang selanjutnya akan mengalami proses peroksida lipid dan menghasilkan produk sekunder berupa malondialdehida (MDA) (Valiko *et al.*, 2007).

Induksi DOCA-salt pada kelompok B atau tikus hipertensi menunjukkan peningkatan tekanan darah sistol (**Lampiran 8**), sedangkan hasil analisa statistik menggunakan *one way* ANOVA dan *Tukey test* menunjukkan bahwa induksi DOCA-salt pada kelompok tikus hipertensi memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar MDA organ aorta. Data pada **Tabel 5.1** menunjukkan bahwa nilai kadar MDA kelompok B atau tikus hipertensi ( $0,612 \pm 0,097$  mg/ml) menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kelompok A atau tikus normal ( $0,318 \pm 0,087$  mg/ml). Hal ini menunjukkan bahwa induksi DOCA-salt selain mampu meningkatkan tekanan darah juga mampu meningkatkan kadar MDA secara signifikan.

Peningkatan kadar MDA pada kelompok B terjadi akibat adanya peningkatan produksi ROS pada proses peroksida lipid dalam mekanisme hipertensi oleh DOCA-salt. Induksi DOCA-salt mempengaruhi peningkatan aldosteron sehingga menyebabkan retensi natrium dan air pada tubulus distal ginjal yang kemudian menyebabkan kenaikan volume cairan ekstraseluler, akibatnya volume dan tekanan darah meningkat (Sjakoer dan Permatasari,

2011). Peningkatan tekanan darah tersebut menyebabkan aktivasi NADPH oksidase sehingga menyebabkan peningkatan ROS berupa anion superoksida ( $O_2^-$ ) pada membran sel aorta (Beswick *et al.*, 2008). Peningkatan ROS berupa anion superoksida ( $O_2^-$ ) menimbulkan reaksi dengan asam lemak tak jenuh ganda pada membran sel organ aorta yang selanjutnya mengalami proses peroksidasi lipid. Pada proses peroksidasi lipid menghasilkan produk akhir berupa malondialdehida (MDA yang digunakan sebagai parameter untuk mengetahui adanya stres oksidatif. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan bahwa sel mengalami stres oksidatif.

Pada kelompok C atau tikus terapi hipertensi menggunakan obat golongan ACE *inhibitor* yaitu captopril dengan dosis 5 mg/kgBB ( $0,522 \pm 0,029$  mg/ml) memberikan nilai kadar MDA yang tidak berbeda nyata terhadap kelompok B atau tikus hipertensi ( $0,612 \pm 0,097$  mg/ml) dengan presentase penurunan kadar MDA sebesar 14,7%. Hal ini menunjukkan bahwa sebagai antihipertensi golongan ACE *inhibitor*, captopril mampu menurunkan kadar MDA namun penurunan yang ditunjukkan tidak signifikan.

Captopril sebagai obat antihipertensi golongan ACE *inhibitor* menghambat peroksida lipid dalam menghasilkan MDA dengan cara menghambat aktivitas dari angiotensin converting enzim yang dapat merubah angiotensin-I menjadi angiotensin-II sehingga mampu menurunkan sekresi aldosteron. Penurunan sekresi aldosteron berdampak langsung terhadap penurunan tekanan darah sehingga aktivasi NADPH oksidase dalam

menghasilkan radikal bebas superoksida ( $O_2^-$ ) pada membran sel organ aorta dapat dihambat (Carrasco *et al.*, 2010 ; Dufton *et al.*, 2011). Oleh karena itu, captopril juga dianggap memiliki kemampuan sebagai antioksidan dikarenakan adanya reaksi menghambat terhadap peroksida lipid oleh ACE *inhibitor* yang selanjutnya menyebabkan peningkatan antioksidan enzimatik yaitu superoksida dismutase (SOD) pada organ aorta sehingga mengubah radikal bebas superoksida ( $O_2^-$ ) menjadi molekul yang lebih stabil (Noori *et al.*, 2010).

Pada kelompok D atau tikus hipertensi terapi WSE yoghurt susu kambing dengan dosis 300 mg/kgBB ( $0,493 \pm 0,068$ ) memberikan nilai kadar MDA yang tidak berbeda nyata terhadap kelompok B ( $0,612 \pm 0,097$  mg/ml) dengan penurunan kadar MDA sebesar 19,4%. Pada kelompok E atau tikus terapi hipertensi WSE yoghurt susu kambing dengan dosis 600 mg/kgBB ( $0,431 \pm 0,083$ ) memberikan nilai kadar MDA yang berbeda nyata terhadap kelompok B ( $0,612 \pm 0,097$  mg/ml) dengan presentase penurunan kadar MDA paling tinggi dibanding kelompok C dan D yaitu sebesar 29,5%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terapi menggunakan WSE yoghurt susu kambing memberikan hasil penurunan kadar MDA lebih baik dibanding kelompok terapi captopril, selain itu kelompok E yang memiliki dosis terapi lebih tinggi dibanding kelompok D menjadi dosis yang memberikan efek terapi paling baik dalam menghambat pembentukan MDA akibat proses peroksida lipid.

*Water soluble extract* (WSE) yoghurt susu kambing yang dalam hal ini adalah *whey* protein mengandung bioaktif peptida yang memiliki peranan sebagai ACE *inhibitor* dan antioksidan. WSE yoghurt susu kambing sebagai antihipertensi memiliki cara kerja yang sama seperti terapi dengan captopril dalam menghambat pembentukan MDA yaitu dengan menghambat angiotensin-I menjadi angiotensin-II, sedangkan sebagai antioksidan menurut Lobo *et al.* (2010) dan Pazil (2009) bioaktif peptida di dalam WSE yoghurt susu kambing bekerja dengan cara menangkap radikal bebas superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) pada organ aorta dengan memberi atom hidrogen kepada radikal bebas superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) dan mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil sehingga dapat memutus reaksi berantai peroksida lipid dengan memperlambat laju proses oksidasi pada tahap inisiasi.

Aktivitas WSE yoghurt susu kambing dalam peranannya sebagai antioksidan juga didukung oleh Lobo *et al.* (2010) dalam penelitiannya bahwa WSE yoghurt susu kambing memiliki berat molekul rendah sehingga dapat dengan mudah berinteraksi dengan radikal bebas, selain itu Aluko (2012) juga menyatakan bahwa peptida dengan molekul rendah dapat dengan baik diserap oleh sistem sirkulasi darah sehingga dapat dengan mudah mencapai organ target.

## 5.2 Efek Terapi *Water Soluble Extract* Yoghurt Susu Kambing terhadap Histopatologi Aorta Tikus Model Hipertensi DOCA-salt

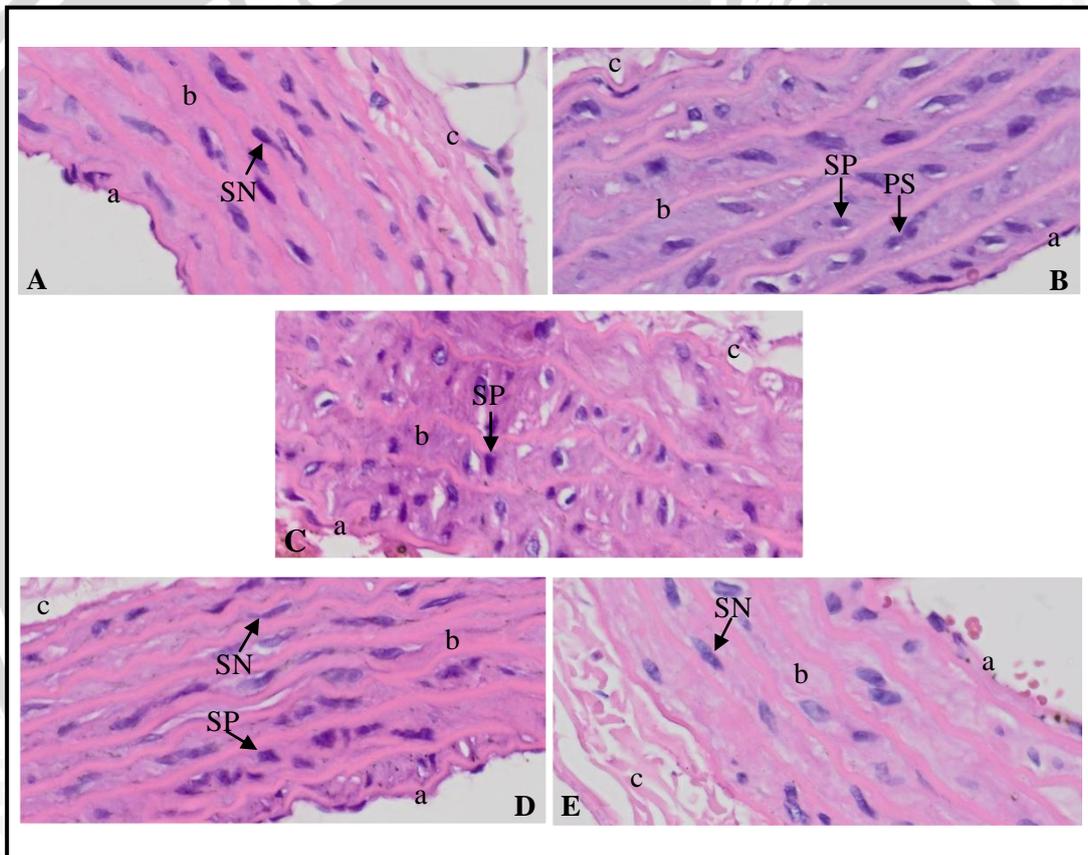
Hasil penelitian pengaruh pemberian terapi *water soluble extract* (WSE) yoghurt susu kambing terhadap gambaran histopatologi organ aorta

tikus (*Rattus norvegicus*) model hipertensi induksi DOCA-salt dengan pewarnaan *hematoxylin eosin* dibandingkan secara deskriptif. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat perubahan histopatologi akibat induksi DOCA-salt dan terapi WSE yoghurt susu kambing. Organ aorta yang diamati menggunakan mikroskop cahaya *Olympus BX51* dengan perbesaran 400X, secara histopatologi akan terlihat kerusakan jaringan aorta berupa perubahan sel yaitu proliferasi dan nekrosis sel otot polos pada tunika media dinding aorta (**Gambar 5.1**).

Gambaran organ aorta kelompok normal (**Gambar 5.1 A**) merupakan bentuk normal sel otot polos dari jaringan organ aorta tikus normal. Gambaran tersebut sesuai dengan pernyataan Clark (2005) bahwa pada organ aorta normal terdapat sel otot polos yang berbentuk gelendong dengan inti sel berada di tengah, letaknya diantara lamina elastis pada tunika media dinding aorta yang berdekatan satu sama lain.

Pada kelompok hipertensi (**Gambar 5.1 B**) terlihat terjadi perubahan sel yaitu adanya proliferasi dan nekrosis sel otot polos pada tunika media dinding aorta. Proliferasi sel otot polos pada dinding tunika media aorta akibat induksi DOCA-salt merupakan respon akibat adanya stres oksidatif di dalam membran sel. Proliferasi sel otot polos ditunjukkan dengan adanya sel otot polos yang sedang mengalami pembelahan mitosis pada tahap telofase yaitu tampak adanya dua sel yang sama dari satu sel. Pada gambar tersebut sel otot polos berwarna lebih gelap dibanding gambaran sel otot polos pada kelompok normal (**Gambar 5.1 A**) dan tidak terlihat batasan inti

sel yang jelas, selain itu sel terlihat mulai membelah menjadi dua sel. Kondisi tersebut sesuai dengan pernyataan Berridge (2012) dan Veta *et al.* (2013) bahwa saat terjadi pertumbuhan sel secara mitosis sel akan menghasilkan dua sel anak dari satu sel dimana sel akan berwarna lebih gelap akibat adanya peningkatan kromatin pada sel (hiperkromatik) dan memiliki membran nukleus yang tidak jelas.



**Gambar 5.1** Histopatologi dinding organ aorta abdominalis potongan melintang dengan pewarnaan *hematoxylin eosin* perbesaran 400X

Keterangan : (A) Normal ; (B) Hipertensi ; (C) Terapi captopril 5 mg/kgBB ; (D) Terapi WSE yoghurt 300 mg/kgBB ; (E) Terapi WSE yoghurt 600 mg/kgBB ; (a) Tunika intima ; (b) Tunika media ; (c) Tunika adventitia ; (SN) Inti sel normal ; (SP) Inti sel piknosis ; (PS) Proliferasi sel

Proliferasi sel otot polos pada dinding tunika media aorta akibat induksi DOCA-*salt* terjadi karena peningkatan radikal bebas superoksida di dalam membran sel sehingga menginduksi sel untuk melakukan mitosis, yang mana pada fisiologis normal radikal bebas berfungsi sebagai sinyal pertumbuhan sel. Induksi DOCA-*salt* pada patogenesis hipertensi, menstimulasi angiotensin II untuk melakukan sekresi aldosteron. Peningkatan sekresi aldosteron menyebabkan peningkatan tekanan darah sehingga mengaktifasi NADPH oksidase yang kemudian menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas superoksida, adanya peningkatan radikal bebas superoksida menyebabkan stres oksidatif akibatnya terjadi peningkatan aktivitas mitogenik di dalam sel yang berfungsi memicu sel untuk melakukan pertumbuhan sel. Proliferasi akibat hipertensi DOCA-*salt* ini dapat menyebabkan jaringan dinding organ aorta mengalami hiperplasia sehingga terjadi penyempitan lumen pada aorta (Renna *et al.*, 2003).

Kematian sel akibat hipertensi induksi DOCA-*salt* dalam hal ini merupakan nekrosis yang ditunjukkan dengan adanya gambaran piknosis sel otot polos ditandai dengan penyusutan inti sel, bentuk sel otot polos yang lebih kecil daripada sel otot polos normal, sitoplasma berwarna biru pekat dan terlihat padat. (**Gambar 5.1 B**). Piknosis merupakan penyusutan inti sel dengan batas antar sel yang tidak teratur, dan berwarna gelap (hiperkromatik). Nekrosis pada sel otot polos disebabkan karena adanya peningkatan radikal bebas superoksida. Menurut Covarrubias *et al.* (2008), radikal bebas pada konsentrasi tinggi akan menyebabkan nekrosis, sebagaimana sifat radikal

bebas yaitu selalu bersifat aktif dan mencari elektron lain agar dapat berpasangan kemudian mengoksidasi membran lipid.

Pada penelitian ini, terbentuknya stres oksidatif menyebabkan asam lemak tak jenuh ganda teroksidasi oleh radikal bebas superoksida dengan menarik atom hidrogen dari asam lemak tak jenuh sehingga membentuk radikal peroksil lipid. Radikal tersebut kemudian berinteraksi dengan asam lemak tak jenuh yang lain membentuk hidroperoksida lipid dan radikal peroksil lipid yang baru. Reaksi ini dapat berlangsung terus menerus membentuk reaksi rantai radikal bebas dan menyebabkan membran sel kehilangan asam lemak tak jenuh sehingga menyebabkan kerusakan struktur membran sel yang akan mempengaruhi permeabilitas dan fungsi membran sel yang pada akhirnya akan menyebabkan membran sel kehilangan integritas sehingga akhirnya pecah atau mengalami nekrosis (Winarsi, 2007).

Perbaikan kerusakan jaringan pada dinding aorta dengan terapi captopril 5 mg/kgBB (**Gambar 5.1 C**) belum menunjukkan hasil yang baik. Pada gambaran tersebut masih terdapat sel otot polos yang mengalami piknosis dengan ciri sel menyusut, sitoplasma berwarna biru pekat dan terlihat padat. Pada kelompok tikus terapi hipertensi WSE yoghurt susu kambing dosis 300 mg/kgBB (**Gambar 5.1 D**) menunjukkan perubahan besar dengan adanya gambaran sel otot polos normal meskipun masih dapat ditemui piknosis pada sel otot polos. Hasil yang berbeda diberikan oleh kelompok tikus terapi hipertensi WSE yoghurt susu kambing dosis 600 mg/kgBB (**Gambar 5.1 E**) yang menunjukkan adanya gambaran sel otot

polos normal dan tidak terdapat gambaran proliferasi dan piknosis sel otot polos seperti pada gambaran kelompok tikus hipertensi.

Captopril dan WSE yoghurt susu kambing memiliki peranan yang sama sebagai antihipertensi, keduanya memiliki sifat ACE *inhibitor* yaitu menghambat pembentukan angiotensin I menjadi angiotensin II oleh *angiotensin converting enzyme*. Hal tersebut menyebabkan penurunan sekresi aldosteron dan tekanan darah sehingga aktivitas NADPH oksidase dapat dihambat dan menurunkan produksi radikal bebas superoksida (Carrasco *et al*, 2010 ; Dufton *et al.*, 2011).

Captopril dengan dosis 5 mg/kgBB pada penelitian ini belum menunjukkan perbaikan kerusakan jaringan dikarenakan jangka waktu pemberian terapi yang kurang yaitu 4 minggu sehingga menyebabkan perbaikan kerusakan jaringan tidak maksimal. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Rocha *et al* (2010) bahwa pemberian captopril secara rutin dalam jangka panjang yaitu 10 minggu dapat mencegah kerusakan jaringan pada aorta. Pemberian captopril dengan dosis rendah juga menjadi penyebab kurang efektifnya captopril dalam perbaikan kerusakan jaringan. Hasil penelitian Cavanagh (2000) dan Bolterman (2005) menyatakan bahwa captopril akan menunjukkan efek antioksidan pada dosis 50 mg/kg/hari dan 100 mg/kgBB sehingga dapat mencegah kerusakan jaringan akibat adanya stres oksidatif.

WSE yoghurt susu kambing dosis 300 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB selain sebagai antihipertensi, juga memiliki aktivitas

antioksidan di dalam bioaktif peptida WSE yoghurt susu kambing. Antioksidan di dalam bioaktif peptida bekerja dengan cara menangkap radikal bebas superoksida dengan memberi satu elektron sehingga dapat menghambat terbentuknya stres oksidatif. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Lobo *et al.* (2010) bahwa mekanisme antioksidan yaitu menangkap radikal bebas dengan melakukan transfer elektron kepada radikal lipid untuk mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil.

Antioksidan dan antihipertensi di dalam WSE yoghurt susu kambing menyebabkan penurunan produksi radikal bebas superoksida sehingga menghambat stres oksidatif, akibatnya terjadi penurunan aktivitas mitogenik di dalam sel dalam melakukan pertumbuhan sel atau mitosis yang berlebihan. Antioksidan juga menginisiasi peningkatan perbaikan atau regenerasi sel untuk mengganti sel yang telah rusak yaitu dengan melakukan proses perbaikan bagian-bagian sel yang rusak melalui sintesa atau pembentukan protein yang dikendalikan oleh gen-gen pada kromosom inti sel sehingga metabolisme sel-sel jaringan tetap berlangsung dengan baik (King and Newmark, 2012).

Pengamatan histopatologi pada masing-masing kelompok terapi dalam penelitian ini memberikan hasil perbaikan kerusakan jaringan yang berbeda-beda, namun kelompok tikus hipertensi dengan terapi WSE yoghurt susu kambing 600 mg/kgBB menunjukkan perbaikan kerusakan jaringan mendekati kelompok tikus normal.