

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hipertensi

2.1.1 Etiologi dan Klasifikasi Hipertensi

Hipertensi secara umum merupakan kenaikan tekanan pada pembuluh darah lebih dari 140 / 90 mmHg (McPhee and Ganong, 2003). Kenaikan tekanan darah terjadi karena adanya peningkatan curah jantung, bertambahnya resistensi vaskular perifer, dan atau karena keduanya. Hipertensi merupakan penyebab utama dari stroke, hipertrofi ventrikular, arteriosclerosis, gagal jantung, *renal disease*, dan *peripheral vascular disease*. Hipertensi terbagi atas dua macam yaitu hipertensi primer (hipertensi esensial) dan hipertensi sekunder (Gray *et al.*,2002).

Hipertensi esensial atau hipertensi primer merupakan hipertensi yang 95% sering terjadi. Hipertensi esensial adalah hipertensi yang tidak atau belum diketahui penyebabnya (Tista,2011). Faktor yang dapat memicu terjadinya hipertensi esensial antara lain faktor genetik, geografi dan lingkungan, janin, jenis kelamin, natrium, sistem renin-angiotensin, hiperaktivitas simpatis, resistensi insulin, dan disfungsi endotel (Gray *et al.*,2002).

Hipertensi sekunder merupakan hipertensi yang diakibatkan oleh adanya penyakit lain. Hipertensi sekunder merupakan kasus hipertensi yang angka kejadiannya hanya 5%. Faktor yang menjadi penyebab terjadinya hipertensi sekunder antara lain penyakit parenkim ginjal, penyakit renovaskular,

endokrin, sindrom cushing, hiperplasia adrenal kongenital, feokromositoma, koarktasio aorta, obat (pil kontrasepsi oral), dan hipertensi yang terjadi pada masa kehamilan trisemester akhir atau awal akibat aliran uteroplasental yang kurang baik (Gray *et al.*,2002).

Tekanan darah diklasifikasikan berdasarkan gabungan antara sistolik dan diastolik. Tekanan darah sistolik adalah tekanan pada pembuluh arteri selama masa kontraksi jantung. Tekanan darah diastolik adalah tekanan pada pembuluh arteri selama masa dilatasi jantung (Dufton,2011).

Tikus *Rattus norvegicus* memiliki tekanan darah normal 116 / 90 mmHg (Sharp and Villano,2013). Tista (2011) menyatakan bahwa, pada kondisi hipertensi, tekanan darah sistolik tikus *Rattus norvegicus* berada pada 170 - 200 mmHg. Pengukuran tekanan darah dilakukan dengan menggunakan sphygmomanometer. Apabila peningkatan tekanan darah terjadi secara cepat yaitu $\geq 180 / 110$ mmHg atau ≥ 130 mmHg tekanan diastolik, maka sebaiknya segera dilakukan pengobatan (Dufton, 2011). Organ – organ yang mengalami kerusakan akibat hipertensi antara lain jantung, otak, ginjal, pembuluh darah, dan retina (Tista,2011).

2.1.2 Terapi Hipertensi

Hipertensi merupakan salah satu penyebab dari morbiditas dan mortalitas dalam penyakit kardiovaskular. Terapi hipertensi dilakukan untuk menurunkan tekanan darah menjadi $< 140 / 90$ mmHg dan mendekati tekanan

darah 120 / 80 mmHg. Hipertensi dapat diterapi dengan menggunakan beberapa golongan obat antara lain thiazide diuretics, *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitors*, β -*blockers*, *calcium channel blockers* (CCBs), *angiotensin-II receptor blockers* (ARBs), *mineralocorticoid receptor antagonists*, dan α -*blockers*. Golongan obat *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitors* merupakan jenis obat yang sering digunakan untuk menurunkan hipertensi (Dufton, 2011).

Agen antihipertensi seperti *calcium channel blockers*, *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitors*, *angiotensin-II reseptor blockers* (ARBs), *mineralocorticoid reseptor antagonists* memiliki kemampuan untuk mengurangi penebalan pada pembuluh darah. Agen antihipertensi seperti β – *blockers* tidak efektif dalam mengurangi penebalan pada pembuluh darah serta menurunkan denyut jantung jika dibandingkan dengan agen inhibitor sistem renin angiotensin, sehingga dapat disimpulkan bahwa *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitors* lebih efektif dalam penggunaannya sebagai agen antihipertensi (Schiffrin, 2012).

Angiotensin converting enzyme (ACE) *inhibitor* telah lama dikenal sebagai golongan obat yang dapat menurunkan tekanan darah (Carrasco *et al.*,2010). *Angiotensin converting enzyme inhibitor* (ACEi) merupakan obat yang memiliki keterkaitan khusus dalam terapi penyakit kardiovaskular atau ginjal. ACEi bekerja dengan cara menghambat aktivitas dari *angiotensin converting*

enzyme yang dapat merubah angiotensin-I menjadi angiotensin-II (Dufton,2011). Terapi dengan menggunakan obat golongan ACEi juga dapat menghambat produksi superoksida yang merupakan produk utama dari reaktif oksigen spesies, menghambat peroksida lipid, serta meningkatkan antioksidan pada suatu jaringan ((Carrasco *et al*,2010) ; (Noori *et al.*, 2010)). *Angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitor* memiliki kemampuan dalam mengurangi retensi natrium dan air, dilatasi pembuluh darah arteri, serta meningkatkan kapasitas vena dan *cardiac output* (Dufton,2011).

Pada model hipertensi DOCA-*salt*, Kubo (2000) menyatakan bahwa tikus hipertensi DOCA-*salt* menunjukkan respon hipotensi ketika diberikan terapi captopril. Captopril merupakan salah satu obat sintetik *angiotensin converting enzyme* (ACE) *inhibitors* yang berperan sebagai vasodilator dan mampu menurunkan tekanan darah pada penderita hipertensi primer, serta termasuk dalam kelompok *sulphydryl* yang memiliki kemampuan antioksidan kuat dibandingkan dengan agen ACE *inhibitor* yang lain ((Kojšová *et al.*,2006) ; (Noori *et al.*,2010)). Noori *et al.* (2010) membuktikan dalam penelitiannya menggunakan plasma tikus jantan strain wistar dengan terapi captopril bahwa captopril sebagai antioksidan bekerja dengan cara menangkap radikal bebas dengan meningkatkan enzim antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase, glutathion proksidase sehingga dapat menghambat peroksida lipid.

Sediaan captopril berupa tablet dengan varian dosis yaitu 12,5 mg, 25 mg, dan 50 mg. Pemberian captopril pada tikus hipertensi dengan dosis 100 mg/kg/hari maupun 10 mg/kg/hari sudah mampu untuk mencegah hipertensi (Kojšová *et al.*,2006). Hal tersebut didukung dengan penelitian Contreras *et al.* (2009) bahwa captopril dengan dosis 5 mg/kgBB dapat menunjukkan peranannya sebagai antihipertensi. Captopril sebagai ACE *inhibitor* dalam penggunaannya memiliki efek samping yaitu batuk kering, angioedema, gangguan pada indera perasa, pusing, dan gagal ginjal yang dapat menginduksi terjadinya hiperkalemia (Schiffrin,2010). Rocha *et al* (2010) menyatakan bahwa penggunaan captopril dalam jangka panjang yaitu selama 10 minggu dapat menyebabkan tekanan darah menjadi normal, mencegah perkembangan hipertropi pada jantung dan perubahan jaringan pada pembuluh darah. Efek terapi captopril seperti mengurangi hipertropi pada jantung dan tekanan pada pembuluh darah akan tampak 8 minggu setelah terapi dihentikan (Rocha *et al.*, 2010).

2.1.3 Hewan Coba Tikus Hipertensi

Hewan coba merupakan hewan yang digunakan dalam penelitian biologis dan biomedis yang dipilih berdasarkan kriteria yang diperlukan dalam suatu penelitian yang dikembangkan dan dipelihara secara khusus dalam lingkungan dengan pengawasan yang ketat untuk mendapatkan hasil penelitian yang *reproducible*, yaitu mendapatkan hasil yang sama apabila diulangi pada

waktu lain maupun oleh peneliti lain. Hewan coba diperlukan dalam penelitian karena variabel penelitian mudah untuk dikontrol, dapat meminimalisasi keragaman subjek penelitian, biaya relatif murah, dapat digunakan untuk penelitian yang beresiko tinggi, mendapatkan informasi yang sangat jelas karena dapat menggunakan sediaan biologi dari organ hewan yang digunakan, mendapatkan data yang diinginkan untuk penelitian, dan dapat digunakan untuk uji keamanan, diagnostik, dan toksisitas (Ridwan, 2013).

Tikus putih jenis *Rattus norvegicus* merupakan salah satu hewan kecil spesies rodentia yang sering digunakan untuk penelitian kardiovaskular, dalam upaya memahami suatu penyakit seperti hipertensi dan diabetes mellitus diantara jenis hewan laboratorium yang ada (Hilsdorf *et al.*, 1999). Penggunaan tikus *Rattus norvegicus* sebagai hewan model untuk penelitian hipertensi dipilih karena memenuhi kriteria hewan model hipertensi. Sharma *et al.*, 2010 menjelaskan bahwa, pada penelitian hipertensi, terdapat beberapa kriteria hewan yang dapat dijadikan sebagai hewan model, antara lain :

- termasuk kelompok hewan kecil,
- mudah diperlakukan dan dapat digunakan untuk memperkirakan potensi obat - obat antihipertensi,
- dapat bertahan dengan mengkonsumsi makanan yang dibatasi,
- dapat dibandingkan dengan beberapa tipe hipertensi pada manusia

Pada penelitian hipertensi, pemilihan jenis kelamin untuk hewan model hipertensi perlu diperhatikan karena jenis kelamin memiliki pengaruh penting dalam tekanan darah. Hewan model tikus *Rattus norvegicus* jantan merupakan hewan model yang dipilih dalam penelitian hipertensi, hal tersebut dikarenakan hewan model tikus *Rattus norvegicus* betina memiliki masa estrus yang dapat mempengaruhi kenaikan dan penurunan tekanan darah. Pada masa proestrus tekanan darah menjadi lebih rendah, sedangkan pada masa diestrus tekanan darah akan meningkat (Dubey *et al.*, 2002).

Salah satu jenis model untuk mempelajari hipertensi adalah model hipertensi endokrin. Model ini dilakukan dengan cara pemberian mineralkortikoid sintetik *deoxycorticosterone asetat* (DOCA), yaitu hormon steroid selain aldosteron yang dihasilkan oleh kelenjar adrenal yang bertindak sebagai prekursor aldosteron. Hormon steroid berfungsi dalam mengatur keseimbangan elektrolit dengan meningkatkan retensi natrium dan ekskresi kalium (Ciptaningsih, 2012).

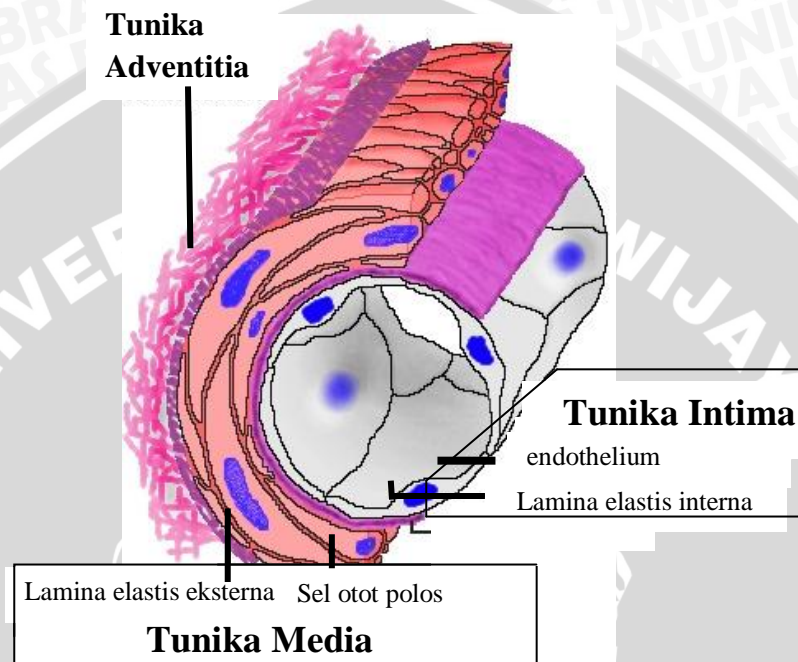
Model hipertensi endokrin dengan DOCA adalah model yang disukai dalam penelitian hipertensi karena menunjukkan peningkatan tekanan darah secara cepat setelah 43 hari induksi, namun penerapan model hipertensi endokrin memiliki beberapa kelemahan yaitu besarnya konsumsi NaCl dan dosis obat yang diperlukan ((Badyal *et al.*,2003) ; (Dornas and Silva, 2011)).

Penambahan diet garam (NaCl) dalam model hipertensi endokrin dapat membantu dalam memperparah terjadinya hipertensi. Doggrel and Brown (1998) menyatakan bahwa pemberian *deoxycorticosterone acetate* (DOCA) atau NaCl saja tidak dapat menunjukkan perubahan besar dalam peningkatan tekanan darah, namun apabila diberikan keduanya maka akan menunjukkan perubahan besar dalam peningkatan tekanan darah. Penerapan model hipertensi endokrin dengan pemberian *deoxycorticosterone asetat* (DOCA) disertai diet garam menyebabkan retensi sodium dan air di dalam tubuh akibat adanya tekanan pada ginjal sehingga memicu terjadinya peningkatan volume darah (Badyal *et al.*,2003).

2.2 Anatomi dan Histologi Organ Aorta

Aorta merupakan arteri terbesar di dalam tubuh manusia maupun hewan dan berfungsi membawa darah beroksigen dari jantung ke seluruh tubuh dibawah tekanan tinggi. Dinding aorta terdiri atas 3 lapisan yang berbeda yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventitia (**Gambar 2.1**). Tunika intima merupakan lapisan terdalam dari dinding aorta, tersusun atas *simple squamos epithelium* disebut sebagai endothelium. Endothelium berperan dalam mencegah pembekuan darah, membantu regulasi aliran darah, dan melepaskan nitrit oksida untuk relaksasi otot polos pada pembuluh darah. Lapisan terakhir dari tunika intima adalah lamina elastis interna yang memisahkan tunika intima dengan

lapisan kedua dari dinding aorta yaitu tunika media ((Clark, 2005) ; (Hengel, 2008)).



Gambar 2.1 Gambar Anatomi Aorta (Hengel, 2008)

Tunika media merupakan lapisan kedua atau lapisan tengah dari dinding pembuluh darah yang paling tebal, terdiri atas sel otot polos dan lamina elastis, dan berfungsi dalam meredam getaran dari denyut jantung. Sel otot polos merupakan sel yang berbentuk gelendong dan memiliki satu inti di tengah, letaknya berdekatan satu sama lain, dan bekerja secara tak sadar. Lamina elastis yang berada diantara sel-sel otot polos terdiri atas serat elastis dan berfungsi dalam kontraksi dan relaksasi aorta serta mempertahankan aliran yang terus

menerus setiap kali jantung berkontraksi. Serat elastis akan sulit diidentifikasi pada sediaan dengan pewarnaan *hematoxylin eosin* (HE). Lapisan terluar dari tunika media adalah lamina elastis eksterna yang memisahkan tunika media dengan tunika adventitia ((Clark, 2005) ; (Hengel, 2008)).

Tunika adventitia merupakan lapisan terluar dari aorta yang terdiri dari jaringan ikat longgar dengan fiber berbentuk iregular yaitu kolagen dan fibroblas. Fibroblas adalah sel yang umum ditemukan pada jaringan ikat, yang berperan dalam memproduksi kolagen. Tunika adventitia berfungsi dalam menjaga stabilitas struktur pembuluh darah akibat adanya tekanan dari aliran darah ((Clark, 2005) ; (Hengel, 2008)).

2.3 Hipertensi Induksi DOCA-Salt

2.3.1 Patomekanisme Hipertensi Induksi DOCA-Salt

Pemberian derivat sintetik mineralkortikoid yaitu *deoxycorticosterone acetate* (DOCA) akan meningkatkan konsentrasi aldosteron sehingga akan menyebabkan retensi natrium dan air pada tubulus distal ginjal (Dornas and Silva, 2011). Peningkatan reabsorpsi natrium serta ekskresi kalium dan hidrogen di tubulus distal ginjal akan mengurangi hilangnya garam dan air dalam urin dan pada saat yang sama menyebabkan kenaikan volume cairan ekstraseluler, akibatnya volume dan tekanan darah meningkat sehingga terjadi hipertensi (Sjakoer dan Permatasari, 2011).

Hipertensi akibat peningkatan aldosteron menginduksi terjadinya stres oksidatif melalui aktivasi NADPH oksidase di sel otot polos pembuluh darah (Pu *et al*, 2003). *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) oksidase adalah enzim kompleks yang mengkatalisis reduksi molekul oksigen dengan menggunakan NADPH sebagai donor elektron. NADPH oksidase (Nox) merupakan sumber utama ROS yang dapat ditemukan pada sel-sel endotel, sel otot polos pembuluh darah, dan sel epitel tubulus ginjal. Pada patomekanisme hipertensi, dapat ditemukan Nox1 di dalam pembuluh darah yang berfungsi dalam mengatur pertumbuhan dan migrasi sel otot polos pembuluh darah (Vaziri, 2008).

Aktivasi NADPH oksidase menyebabkan peningkatan reaktif oksigen spesies (ROS) berupa anion superoksida (O_2^-) pada pembuluh darah. ROS adalah senyawa pengoksidasi turunan oksigen yang bersifat sangat reaktif dan tidak stabil. ROS terbagi atas dua kelompok yaitu kelompok radikal bebas dan kelompok non-radikal. Kelompok non-radikal bersifat lebih stabil daripada kelompok radikal bebas. Kelompok radikal bebas yaitu superoksida (O_2^-), hidroksil (HO^\cdot), peroksil (ROO^\cdot), sedangkan kelompok non-radikal yaitu single oksigen (1O_2) hidrogen peroksida (H_2O_2), *hypochlorous acid* ($HOCl$) ((Sousa *et al.*, 2012) ; (Vaziri, 2008)). Superoksida (O_2^-) adalah bentuk radikal bebas hasil dari reduksi molekul oksigen, yang memiliki waktu paruh pendek, bersifat sangat reaktif, dapat merusak seluruh membran biologis dengan cara menyerang dengan

lipid, protein, asam nukleat dan glikokonjugat. Radikal bebas merupakan substansi yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan ((Sousa *et al.*, 2012) ; (Vaziri, 2008)).

Pada sel normal, terjadi keseimbangan yang tepat antara oksidan dengan antioksidan. Keseimbangan tersebut dapat menjadi pro-oksidan apabila terjadi reaktif oksigen spesies (ROS) (Pazil, 2009). Peningkatan produksi ROS yang berlebihan seperti radikal bebas (O_2^-) menimbulkan keadaan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif adalah suatu keadaan adanya ketidakseimbangan antara produksi ROS dengan antioksidan (Halliwell, 2001). Stres oksidatif menyebabkan kerusakan sel akibat oksidasi makromolekul akibat peningkatan ROS atau penurunan antioksidan (Zalba, 2001).

Pada pembuluh darah, adanya stres oksidatif menginduksi terjadinya vasokonstriksi, disfungsi endothel, perubahan vaskular, dan hipertropi atau hiperplasia sel otot polos pembuluh darah sehingga menyebabkan hipertensi ((Kohan, 2010) ; (Zalba, 2001) ; (Lasse`gue and Griendling, 2004). Peningkatan stres oksidatif juga menyebabkan menurunnya aktivitas *nitric oxide* (NO) yang merupakan vasodilator sehingga menyebabkan vasokonstriksi pada pembuluh darah (Pu *et al.*,2003).

Radikal bebas juga mempengaruhi terjadinya kerusakan pada senyawa biomolekul pada membran sel salah satunya adalah lipid. Lipid merupakan senyawa yang mengalami kerusakan terbesar akibat adanya radikal bebas yang

mana prosesnya disebut peroksida lipid (Gutiérrez,2014). Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai dari radikal bebas yang berlebihan terhadap asam lemak tak jenuh jamak atau *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) pada membran sel dan bertanggung jawab terhadap kerusakan suatu jaringan (Pazil, 2009). Asam lemak tak jenuh merupakan komponen penting pada membran sel dalam menjalankan fungsi sel, namun rentan terhadap pengaruh oksidatif oleh ROS (Gutiérrez,2014). Proses peroksida lipid menghasilkan produk utama berupa hidroperoksida yang selanjutnya membentuk produk sekunder berupa malondialdehida (MDA). Sousa *et al.* (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa MDA dapat ditemukan pada aorta maupun plasma pada hewan coba *spontaneous hypertension rats* (SHR) diet garam yang kemudian dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui pengaruh stres oksidatif terhadap kondisi hipertensi.

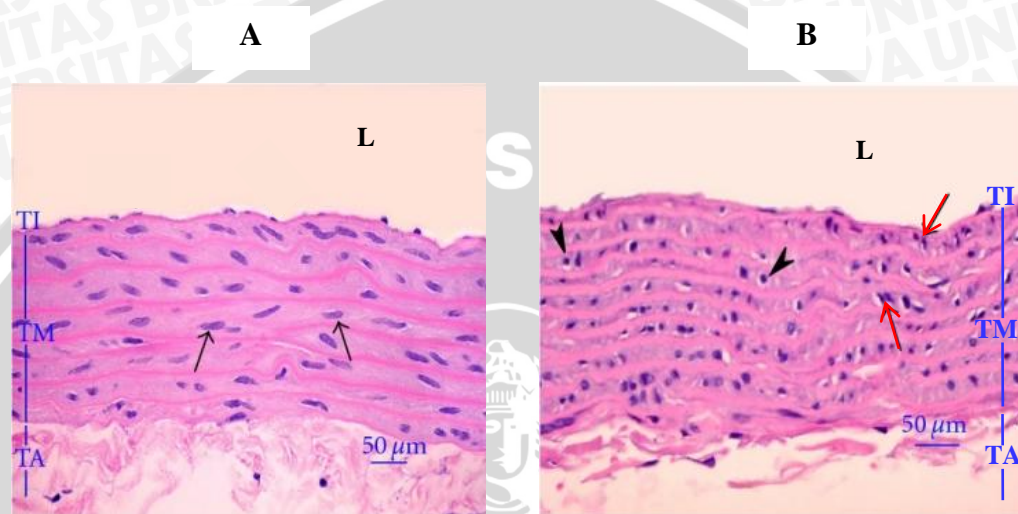
2.3.2 Efek Hipertensi Induksi DOCA-Salt Terhadap Organ Aorta

Hipertensi induksi DOCA-salt menyebabkan kerusakan jaringan pada aorta berupa perubahan struktur pembuluh darah yang perubahannya melibatkan empat proses selular antara lain, kematian sel, proliferasi sel, migrasi sel, dan sintesis atau degradasi matriks ekstraselular (Renna *et al.*,2013). Intengan *et al.* (2001) dalam penelitiannya menyatakan bahwa faktor perubahan struktur aorta seperti proliferasi sel otot polos dan apoptosis berkontribusi dalam kerusakan jaringan pada organ aorta tikus hipertensi DOCA-salt, 1-kidney, 1K1C Goldblatt

rats, dan *Dahl salt sensitive*. Proliferasi sel merupakan proses peningkatan jumlah sel sebagai akibat dari pertumbuhan sel yang terjadi karena adanya pembelahan sel mitosis. Mitosis merupakan proses pembelahan sel yang terjadi pada sel - sel somatis yang menghasilkan dua sel anak yang memiliki genotip sama dan identik dengan sel induk. Mitosis terdiri dari beberapa tahap, antara lain profase, metafase, anafase, dan telofase (Berridge, 2012). Pengamatan proliferasi secara histologi dengan pewarnaan *hematoxylin eosin*, ditunjukkan dengan sedang terjadinya proses pembelahan sel secara mitosis, sel berwarna lebih gelap akibat ada peningkatan kromatin pada sel (hiperkromatik), dan memiliki membran nukleus yang tidak jelas. (Veta *et al.*, 2013). Pada hipertensi akibat induksi DOCA-*salt*, adanya reaktif oksigen spesies (ROS) mempengaruhi terjadinya proliferasi sel otot polos pada aorta. ROS seperti superoksida berfungsi sebagai mediator dalam pertumbuhan sel otot polos aorta sehingga menyebabkan perubahan vaskular selama hipertensi (Lee and Griendling, 2008).

Reaktif oksigen spesies (ROS) juga memicu terjadinya kematian sel pada sel otot polos aorta. Penelitian Intengan (2012) menyatakan bahwa ROS, nitrit oksida, reseptor angiotensin II, dan endothelin sistem dapat menjadi faktor penyebab kematian sel pada dinding aorta dalam patogenesis hipertensi. Champagne *et al.* (1999) dalam penelitiannya menunjukkan tingginya proliferasi

nekrosis sel otot polos pada arteri tikus *spontaneously hypertensive* (SHR) akibat adanya *heat stress protein* (HSPs).



Gambar 2.2 Gambaran Histologi Aorta

Keterangan : (A) Gambaran normal aorta (Suanarunsawat *et al.*, 2011). (B) Nekrosis sel otot polos aorta pada tunica media (TM) (Suanarunsawat *et al.*, 2011). *Hematoxyline Eosin* (H&E) perbesaran 400x ; L= Lumen ; TA=Tunica adventitia ; TM=Tunica media ; TI=Tunica Intima ; Panah hitam = Sel otot polos normal ; panah merah = Nekrosis sel otot polos

Hasil penelitian Elmore (2007) mengungkapkan bahwa gambaran nekrosis dibawah pengamatan mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya berupa penyusutan sel akibat piknosis. Sel yang menyusut menunjukkan ukuran sel yang lebih kecil dengan sitoplasma yang padat dan organel sel lebih rapat. Piknosis adalah proses kerusakan pada inti sel yang ditandai dengan larutnya kromosom dan proses kondensasi pada inti sel. Inti sel yang telah mengalami piknosis akan menjadi padat dan ukurannya mengalami penyusutan.

2.4 *Water Soluble Extract* (WSE) Yoghurt Susu Kambing Terfermentasi Sebagai Antihipertensi Dan Antioksidan

Water soluble extract (WSE) merupakan suatu substansi hasil dari pemisahan dengan substansi lain yang dapat larut dalam air (Sattayasai, 2012).

Water soluble extract (WSE) yoghurt susu kambing dalam hal ini adalah *whey* protein. *Whey* protein susu kambing merupakan komponen protein susu yang larut dalam air, terdiri atas β -lactoglobulin dan α -lactalbumin yang terdapat dalam jumlah besar, serta protein *immunoglobulin*, *transferrin*, *ferritin*, *protease peptone*, *lactoperoxidase*, *lysozyme*, *calmodulin* (*calcium binding protein*), *prolactin*, dan *folate-binding protein* yang terdapat dalam jumlah kecil. *Whey* protein memiliki kandungan bioaktif peptida yang memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antihipertensi (Ledesma *et al.*, 2011).

Water soluble extract (WSE) yoghurt susu kambing berbentuk cairan supernatan yang diperoleh dengan cara sentrifugasi yoghurt susu kambing dengan kecepatan 12.000 rpm pada suhu 5°C selama 10 menit (Park,2009). Metode sentrifugasi dingin pada kecepatan tinggi yang digunakan bertujuan untuk mendapatkan fragmen pecahan protein yang memiliki molekul rendah dan dapat larut dalam air (Sattayasai, 2012).

Protein susu di dalam susu kambing merupakan salah satu sumber bioaktif peptida. Bioaktif peptida merupakan suatu fragmen pecahan protein dengan kandungan 2 - 20 sekuen asam amino yang dapat memberikan pengaruh

positif bagi kesehatan tubuh seperti sebagai antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antitrombotik, dan imunomodulator. Bioaktif peptida akan menunjukkan sifat – sifat spesifik setelah dilepaskan dari molekul protein aslinya oleh cara berikut yaitu hidrolisis enzimatis oleh enzim pencernaan, fermentasi susu dengan menggunakan bakteri asam laktat, dan proteolisis dari mikroorganisme. Kombinasi ketiga cara tersebut dapat mempercepat peranan dari bioaktif peptida di dalam tubuh (Korhonen, 2009). Metabolisme bioaktif peptida di dalam saluran pencernaan dimulai dari ingesti zat makanan yang mengandung protein oleh mulut yang kemudian dicerna oleh lambung dan kemudian masuk ke dalam saluran intestinal, di dalam saluran intestinal terjadi hidrolisis peptida dimana protein diubah menjadi asam amino yang nanti akan diserap oleh mukosa usus halus dan masuk ke dalam sirkulasi darah menuju organ di seluruh tubuh (Korhonen and Pihlanto, 2006).

Produk susu fermentasi merupakan sumber bioaktif peptida yang terbaik. Salah satu produk fermentasi yang sering diproduksi adalah yoghurt (Oner,2011). Yoghurt merupakan hasil fermentasi susu yang mengandung asam laktat (Bintang, 2001). Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang digunakan dalam pembuatan yoghurt dalam pembentukan bioaktif peptida selama proses fermentasi (Oner,2011). Susu kambing merupakan salah satu sumber protein yang dapat digunakan dalam pembuatan yoghurt karena susu kambing memiliki beberapa keunggulan dibanding susu sapi antara lain susu kambing merupakan

hipoalergenik karena memiliki kandungan α_{s1} -casein rendah sehingga dapat dikonsumsi bagi yang memiliki alergi terhadap susu sapi, susu kambing juga mengandung globula lemak kecil dalam jumlah besar sehingga memudahkan untuk dicerna, selain itu susu kambing memiliki kandungan laktosa yang rendah sehingga dapat dikonsumsi bagi yang tidak toleran terhadap laktosa (Silanikove *et al.*, 2010).

Papadimitriou *et al.* (2007) dan Ledesma *et al.* (2005) menyatakan bahwa di dalam WSE yoghurt susu kambing terdapat beberapa bioaktif peptida antara lain β -casein (β -CN), α_{s1} -casein (α_{s1} -CN), dan α_{s2} -casein (α_{s2} -CN). Setiap bioaktif peptida memiliki kemampuan yang berbeda – beda (Tabel 2.4). Menurut Ledesma *et al.* (2005), hasil fermentasi bakteri di dalam protein susu kambing telah terbukti berhasil dalam menghasilkan peptida antioksidan. β -casein (β -CN) WSE yoghurt susu kambing merupakan salah satu bioaktif peptida yang memiliki kemampuan antioksidan dan antihipertensi (**Tabel 2.4**).

Tabel 2.4 Kandungan Bioaktif Peptida *Water Soluble Extract* (WSE) Yoghurt Susu Kambing (Ledesma, 2005).

Sekuen	Protein Fragmen	Aktivitas
VPP	β -casein	ACE-inhibitor
KFALPQ	α_{s2} -casein	ACE-inhibitor
KTTMPLW	α_{s1} -casein	ACE-inhibitor
NIPPLTQTPV	β -casein	ACE-inhibitor
VPPFLQP	β -casein	ACE-inhibitor
KVLPVPQ	β -casein	ACE-inhibitor dan Antioksidan
VAPFPGVFGK	α_{s1} -casein	ACE-inhibitor

WSE yoghurt susu kambing merupakan bioaktif peptida yang baik dalam menurunkan tekanan darah setelah mengkonsumsi 200 – 800 mg/kg/BB selama 4 – 8 minggu ((Contreras,2011) ; (Park, 2009)). Antihipertensi dalam bioaktif peptida WSE yoghurt susu kambing bekerja dengan cara menghambat aktivitas dari *angiotensin converting enzyme (ACE-inhibitor)* yang dapat merubah angiotensin-I menjadi angiotensin-II. Aktivitas antihipertensi di dalam bioaktif peptida memberikan pengaruh penurunan tekanan darah dalam waktu 2 – 4 jam pada hewan coba SHR setelah pemberian secara oral tanpa menimbulkan efek samping sehingga dapat digunakan sebagai alternatif dalam terapi hipertensi (Danquah and Agyei, 2012).

Bioaktif peptida WSE yoghurt susu kambing juga menunjukkan peranannya sebagai antioksidan pada penderita hipertensi. Hal tersebut disebabkan karena WSE yoghurt susu kambing memiliki berat molekul rendah yaitu 1 kDa ((Luiz *et al.*, 2007) ; (Papadimitriou *et al.*, 2007)). Lobo *et al.* (2010) menyatakan bahwa antioksidan dengan berat molekul rendah seperti WSE yoghurt susu kambing dapat dengan mudah berinteraksi dengan radikal bebas sehingga dapat menghentikan peroksida lipid. Antioksidan adalah molekul stabil yang diperlukan tubuh dalam menetralkan radikal bebas sehingga dapat mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas terhadap sel normal. Antioksidan memiliki dua mekanisme dalam peranannya. Mekanisme pertama yaitu mekanisme primer antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dengan

memberi atom hidrogen atau transfer elektron kepada radikal lipid ($R\bullet$, $ROO\bullet$) untuk mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil. Mekanisme kedua yaitu mekanisme sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju proses oksidasi pada tahap inisiasi dengan mengubah radikal lipid ke bentuk yang lebih stabil ((Lobo *et al.*, 2010) ; (Pazil, 2009)).

2.5 Kadar Malondialdehida (MDA)

Malondialdehida ($C_3H_4O_2$) merupakan salah satu produk akhir dari reaksi - reaksi oksidatif yang dapat dideteksi pada beberapa cairan biologis seperti platelet darah dan serum, serta jaringan manusia dan hewan sehingga digunakan sebagai biomarker peroksidasi lipid dan stres oksidatif. Peroksida lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus menerus dan bertanggung jawab terhadap kerusakan jaringan. Peroksida lipid terjadi pada asam lemak tak jenuh berantai panjang atau PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acid*) yang terletak di membran sel. Efek kerusakan jaringan akibat peroksida lipid disebabkan adanya produksi radikal bebas ($ROO\bullet$, $RO\bullet$, $OH\bullet$) pada proses pembentukan peroksida dari asam lemak. ((Cipierre *et al.*, 2013) ; (Macotpet *et al.*, 2013) ; (Pazil, 2009) ; (Puspawati, 2009) ; (Sousa *et al.*, 2012) ; (Yustika, 2013)).

Pengujian terhadap adanya stres oksidatif juga digunakan untuk menguji laju peroksida lipid, salah satunya adalah dengan menguji kadar

malondialdehida (MDA). Proses peroksida lipid meningkat apabila terjadi produksi radikal bebas yang berlebihan, sehingga mempengaruhi peningkatan kadar malondialdehida (MDA). Malondialdehida dapat diukur dengan menggunakan berbagai pengujian, namun pengujian yang paling sederhana dan paling umum adalah uji zat reaktif asam *thiobarbituric* (TBA) yaitu uji untuk mengetahui reaksi MDA dengan asam *2-thiobarbituric* (TBA) ((Sousa *et al.*, 2012) ; (Yustika, 2013)).

Prinsip kerja dari pengukuran MDA adalah adanya reaksi 1 molekul MDA dengan 2 molekul asam *thiobarbituric* (TBA) yang kemudian membentuk warna merah muda dan dapat terbaca dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 - 600 nm. Kadar MDA yang tinggi menunjukkan tingginya peroksida lipid. MDA bereaksi dengan TBA dalam kondisi asam dengan suhu tinggi dan kemudian menghasilkan asam zat reaktif *2-thiobarbituric* yang dapat diukur secara spektrofotometri. Perubahan warna merah muda tersebut disebabkan karena adanya perubahan tetraetoksipropana yang merupakan prekursor MDA dengan *thiobarbutirat acid* (TBA) ((Sousa *et al.*, 2012) ; (Puspawati, 2009)).