



## Asupan Lemak dan Ekspresi Gen eNOS3 Alel Glu298Asp pada Penderita Hipertensi Etnik Minangkabau

Delmi Sulastri \*, Lipoeto NI \*, Nasrul Zubir \*\*, Jamsari \*\*\*

### ABSTRACT

*Intake of fat and Gen eNOS3 Alel Glu298Asp expression in hypertensive Minangkabau persons*

**Background:** eNOS 3 gene is one of the important genes which is related to the high prevalence of hypertension essential. This gene expresses the nitric oxide synthase (NOS) enzyme which regulates the synthesis of nitric oxide (NO) in human body.

**Methods:** A research has been done on hypertensive and normotensive patients aged 30-65 years old. The main purpose of this research was to evaluate the association of fat intake on eNOS3 gene Glu298Asp allele expression in hypertension subjects in Minangkabau ethnicity. One hundred thirty subjects had been interview about their eating habits, and measured their omega-3, eNOS3 gene and NO plasma level. The data were analysed with t-tes and chi-square.

**Results:** The hypertensive's plasma NO concentration was  $26.91 \pm 15.40 \mu\text{M/L}$  and normotensive's was  $25.79 \pm 15.04 \mu\text{M/L}$ . 52.5% of the hypertensive subjects and 47.5% of the normotensive has eNOS3 gene heterozygotes GT allele. Mean rates for total fat, SFA, MUFA and PUFA consumption of hypertensive subjects are  $28.05 \pm 6.57\%$ ,  $12.31 \pm 4.21\%$ ,  $4.21 \pm 1.79\%$ ,  $3.77 \pm 1.97\%$  and normotensive are  $30.14 \pm 13.98\%$ ,  $12.58 \pm 4.22\%$ ,  $4.40 \pm 2.22\%$ ,  $4.00 \pm 1.96\%$ . Mean rate for plasma omega-3 concentration of hypertensive subjects is  $14.45 \pm 0.10 \mu\text{g/dL}$  and normotensive is  $14.49 \pm 1.00 \mu\text{g/dL}$ . There is significant relationship between omega-3 with NO plasma level on hypertension with GT heterozygote alleles.

**Conclusion:** In hypertensive patients with GT heterozygote alleles, only omega-3 plasma is associated with  $\text{NO}_2$  plasma.

**Keywords:** Essential hipertension, eNOS3 gene, NO plasma level

### ABSTRAK

**Latar belakang:** Gen eNOS3 alel Glu298Asp merupakan salah satu gen yang berhubungan dengan kejadian hipertensi esensial. Kemampuan Gen eNOS3 alel ini untuk mensintesis enzim nitric oxide synthase (NOS) berkurang sehingga sintesis nitric oxide (NO) menurun.

**Metode:** Penelitian pada subyek hipertensi dan normotensi berusia 30-65 tahun bertujuan untuk melihat hubungan asupan lemak dengan ekspresi gen eNOS3 alel Glu298Asp. Seratus tiga puluh subyek, diwawancara pola makannya lalu dilakukan pemeriksaan kadar omega-3 dan omega-6 plasma, gen eNOS3, serta kadar NO plasma. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji T dan chi-square.

**Hasil:** Kadar NO plasma subyek hipertensi adalah  $26,91 \pm 15,40 \mu\text{M/L}$  dan normotensi  $25,79 \pm 15,04 \mu\text{M/L}$ . 52,5% subyek hipertensi dan 47,5% normotensi mempunyai polimorfisme gen eNOS3 alel heterozigot GT. Rerata persentase asupan lemak total, ALJ, ALTJT, ALTJG pada subyek hipertensi adalah  $28,05 \pm 6,57\%$ ,  $12,31 \pm 4,21\%$ ,  $4,21 \pm 1,79\%$ ,  $3,77 \pm 1,97\%$  dan pada subyek normotensi adalah  $30,14 \pm 13,98\%$ ,  $12,58 \pm 4,22\%$ ,  $4,40 \pm 2,22\%$ ,  $4,00 \pm 1,96\%$ . Rerata kadar omega-3 plasma subyek hipertensi adalah  $14,45 \pm 0,10 \mu\text{g/dL}$  dan normotensi  $14,49 \pm 1,00 \mu\text{g/dL}$ . Terdapat hubungan kadar omega-3 dengan NO plasma pada penderita hipertensi dengan alel heterozigot GT.

**Simpulan:** Pada penderita hipertensi dengan alel heterozigot GT, hanya omega-3 plasma yang berhubungan dengan kadar  $\text{NO}_2$  plasma.

---

\* Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Jl. Perintis Kemerdekaan, PO Box 49, Padang Sumatera Barat

\*\* Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas, Jl. Perintis Kemerdekaan, PO Box 49, Padang Sumatera Barat

\*\*\* Bagian Bioteknologi Fakultas Pertanian Universitas Andalas, Jl. Perintis Kemerdekaan, PO Box 49, Padang Sumatera Barat

## PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah di atas nilai normal, dengan nilai sistolik  $\geq 140$  mmHg dan atau diastolik  $\geq 90$  mmHg (kriteria *join national commitee/JNC VII*, 2003).<sup>1</sup> Saat ini hipertensi sudah menjadi masalah utama kesehatan masyarakat di Indonesia maupun di beberapa negara di dunia.<sup>2</sup> Prevalensi hipertensi di seluruh dunia sekitar 15-20% sedangkan di Asia sudah mencapai 8-18%. Pada tahun 2025 diperkirakan terjadi kenaikan kasus hipertensi sekitar 80%, yaitu dari 639 juta kasus di tahun 2000, menjadi 1.15 milyar kasus pada tahun 2025.<sup>3</sup> Prevalensi hipertensi di Indonesia berkisar antara 17% sampai 21%, sedangkan menurut laporan Depkes RI (2007) prevalensi hipertensi di Indonesia sudah mencapai 29,8%.<sup>2</sup> Prevalensi hipertensi di Sumatera Barat cenderung meningkat. Pada tahun 1977 prevalensi hipertensi hanya 7,3%,<sup>2,4</sup> sedangkan dari hasil riset kesehatan dasar yang dilakukan departemen kesehatan RI tahun 2007, prevalensi hipertensi di Sumatera Barat sudah mencapai 31,2%.<sup>5</sup> Sembilan puluh lima persen (95%) penderita hipertensi tidak diketahui penyebabnya dan dikenal sebagai hipertensi primer atau esensial. Faktor utama yang berperan dalam patofisiologi hipertensi adalah interaksi faktor genetik dan faktor lingkungan. Saat ini paradigma biologi molekuler telah bergeser dari tekanan darah yang diregulasi oleh otak dan ginjal ke endotel. Endotel pembuluh darah dapat memproduksi *relaxing factor* yang mempunyai karakteristik sebagai gas vasoaktif yaitu *nitric oxide* (NO).<sup>6</sup>

Gen eNOS3 adalah gen yang mengendalikan produksi NO. Salah satu polimorfisme gen eNOS3 yang sudah teridentifikasi berhubungan dengan kejadian hipertensi yaitu Glu298Asp. Beberapa penelitian melaporkan bahwa polimorfisme gen eNOS3 memberikan faktor risiko yang berbeda antara etnik Asia dengan nonAsia terhadap hipertensi. Etnik Asia dengan polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp mempunyai faktor risiko lebih rendah menderita hipertensi dibandingkan dengan etnik non Asia.<sup>7</sup> Polimorfisme Glu298Asp (G894T) adalah varian yang mengalami substitusi guanin menjadi timin pada exon 7 posisi 894, sehingga terjadi perubahan ekspresi protein matur dari glutamat menjadi aspartat pada posisi 298. Pada varian ini terjadi penurunan ketersediaan biologi dari senyawa NO.<sup>7</sup>

*Nitric oxide* adalah senyawa yang dapat menyebabkan relaksasi vaskuler dan berperan sebagai regulator tonus otot polos melalui aktivasi *soluble guanylate cyclase* dan memperbaiki perfusi jaringan dengan menghambat *adhesi* dan agregasi trombosit serta menghambat *adhesi* leukosit pada permukaan endotel. NO secara tidak langsung juga dapat menyebabkan vasodilatasi

pembuluh darah dengan cara menghambat pelepasan renin dan norepinefrin. Pada penderita hipertensi esensial, sintesis NO di bawah nilai basal (normal 25  $\mu\text{M/L}$ -45  $\mu\text{M/L}$ ).<sup>7</sup> Hal ini akan menyebabkan efek vasodilatasi terhadap pembuluh darah menurun sehingga terjadi peningkatan tahanan perifer. Penurunan kemampuan vasodilatasi pembuluh darah juga terjadi pada pembuluh darah di ginjal, sehingga mengakibatkan penurunan *glomerulus filtration rate* (GFR), sistem renin angiotensin teraktivasi, dan akhirnya terjadi peningkatan tekanan darah. *Nitric oxide* yang berasal dari endotel dianggap sebagai suatu senyawa yang bersifat ateroprotektif sehingga gangguan pada sintesis NO dihubungkan dengan meningkatnya risiko penyakit kardiovaskuler.<sup>7,9,10</sup> Senyawa NO dalam darah akan berikatan dengan homosistein membentuk senyawa S-NO-Hcy, mengakibatkan homosistein darah menurun, sehingga risiko hiperhomosistein terhadap hipertensi akan berkurang.<sup>8</sup> Pada penderita hipertensi, selain rendahnya kemampuan gen eNOS3 dalam mensintesis NO, asupan lemak yang tidak seimbang dapat memperburuk produksi NO. Diet tinggi lemak akan menekan sintesis NO sedangkan diet tinggi asam lemak tak jenuh omega-3 dapat memperbaiki sintesis NO.<sup>11,12</sup>

Etnik Minangkabau adalah masyarakat yang sebagian besar bertempat tinggal di Sumatera Barat. Beberapa penelitian melaporkan bahwa etnik Minangkabau mempunyai pola makan tinggi lemak jenuh dan rendah sayur-sayuran serta buah-buahan sebagai sumber antioksidan dan serat. Delmi *et al* (2004) dan Lipoeto *et al* (2006) melaporkan bahwa asupan lemak total masih dalam batas normal tetapi asupan lemak jenuh lebih tinggi dari angka kecukupan yang dianjurkan. Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka dilakukan penelitian dengan tujuan melihat pengaruh asupan lemak terhadap ekspresi gen eNOS3 alel Glu298Asp pada penderita hipertensi etnik Minangkabau di Kota Padang Provinsi Sumatera Barat.<sup>13,14</sup>

## METODE

Penelitian ini merupakan studi komperatif dengan desain *cross sectional study*, dilakukan di empat kecamatan dengan delapan kelurahan di Kota Padang Provinsi Sumatera Barat pada tahun 2009. Subyek studi adalah semua penderita hipertensi dan normotensi yang berusia antara 30-65 tahun, etnik Minang (berdomisili di Sumatera Barat, kedua orang tua dan kakek nenek berasal dari Sumatera Barat) dan telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Subyek terdiri dari 65 orang penderita hipertensi dan 65 orang normotensi diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$n1=n2=(z\alpha\sqrt{2PQ} + z\beta\sqrt{P1Q1 + P2Q2})^2/(P1-P2)$$

Data terdiri dari pola makan, dikumpulkan melalui wawancara dengan menggunakan semikuantitatif *food frequency questioner* (FFQ) serta diolah memakai metode *nutrisurvey*, sedangkan pemeriksaan polimorfisme gen eNOS3 dengan cara ekstraksi DNA dilanjutkan dengan amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR), *restriction fragment polymorphism* (RFLP) dan sekuensing (metoda Sanger). Kadar NO plasma diperoleh dari hasil pemeriksaan 3 cc serum menggunakan teknik ELISA serta kadar omega-3/omega-6 diukur dengan teknik kromatografi lapis tipis. Setelah data dikumpulkan kemudian diolah menggunakan komputer dan dianalisis dengan uji T untuk melihat perbedaan rerata kadar NO plasma, asupan lemak dan omega-3/mega-6 plasma pada kedua kelompok studi dan uji *chi-square* untuk melihat hubungan asupan lemak dan kadar omega-3/omega-6 plasma terhadap ekspresi gen eNOS3 alel Glu298Asp, dengan tingkat kemaknaan  $p < 0.05$ .

**HASIL**

**Gambaran umum daerah penelitian**

Penelitian dilakukan di 4 kecamatan yaitu Kecamatan Padang Utara, Padang Barat, Pauh dan Lubuk Kilangan. Pada setiap kecamatan dipilih 2 kelurahan dan dilakukan penjarangan calon subyek sebanyak 800 orang populasi yang dipilih secara *systematic random sampling*. Hasil penjarangan didapatkan 130 subyek dengan karakteristik sebagai berikut, subyek dengan jenis kelamin wanita lebih banyak dibandingkan laki-laki yaitu 51 orang (78,5%) dan sebagian besar subyek berusia  $\geq 40$  tahun yaitu 62 org (95,4%) pada kelompok hipertensi dan 57 orang (87,7%) kelompok normotensi. Subyek studi dengan tingkat pendidikan rendah lebih banyak pada kedua kelompok masing-masing 64,6% dan 56,9%. Lebih dari separuh subyek studi tidak bekerja (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik subyek studi

Karakteristik subyek	Hipertensi		Normotensi	
	n	%	n	%
Jenis Kelamin				
- Pria	14	21,5	14	21,5
- Wanita	51	78,5	51	78,5
Umur				
- <40 tahun	3	4,6	8	12,3
- $\geq 40$ tahun	62	95,4	57	87,7
Tingkat pendidikan				
- Rendah	42	64,6	37	56,9
- Tinggi	23	35,4	28	43,1
Status pekerjaan				
- Tidak bekerja	36	55,4	34	52,3
- Swasta	20	30,8	24	36,9
- PNS/ABRI	9	13,8	7	10,8

**Ekspresi gen eNOS3 alel Glu298Asp**

Ekspresi gen eNOS3 alel Glu298Asp dinilai dari kemampuan gen tersebut untuk menghasilkan NO. Pada Tabel 2 dapat kita lihat kadar NO plasma subyek studi.

Tabel 2. Perbedaan rerata kadar NO plasma pada subyek studi

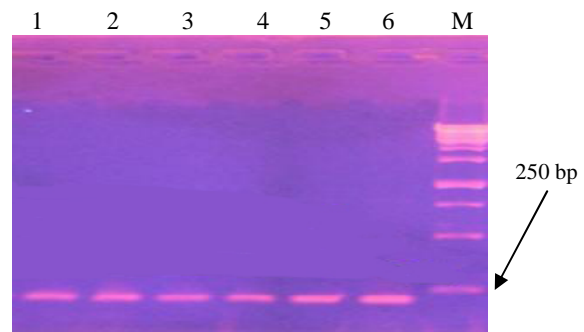
Variabel	Kelompok	n	Rerata	SB	Min	Mak	Nilai p
Kadar NO $\mu\text{M/L}$	Hipertensi	65	26,91	15,40	6,00	66,00	0,68
	Normotensi	65	25,79	15,04	9,00	67,50	

\* Uji T

Tabel 2 menunjukkan rerata kadar NO plasma pada kedua kelompok hampir sama yaitu pada kadar normal rendah (kadar normal 25  $\mu\text{M/L}$ -45  $\mu\text{M/L}$ ). Tidak terdapat perbedaan bermakna rerata kadar NO plasma antara kedua kelompok studi.

**Polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp**

Polimorfisme gen eNOS3 diperoleh melalui ekstraksi DNA dari 300  $\mu\text{L}$  darah subyek studi. Setelah DNA diperoleh, dilakukan proses amplifikasi dengan menggunakan PCR, kemudian dilanjutkan dengan RFLP dan sekuensing. Gambar di bawah ini adalah hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan primer Glu298Asp (Gambar 1).

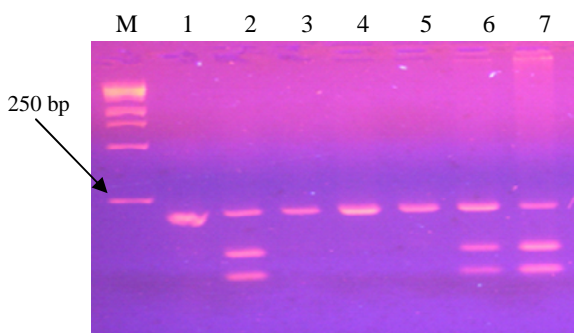


Gambar 1. Hasil PCR subyek studi dengan primer Glu298Asp (M=marker 1kb Leader, sampel No. 1-6=nomor sampel)

Gambar 1 menunjukkan hasil amplifikasi PCR dari 6 subyek studi. Pada gambar tersebut dapat kita lihat bahwa DNA hasil amplifikasi adalah DNA dari alel Glu298Asp dengan panjang fragmen 206 bp.

Setelah produk PCR didapatkan, maka untuk memperoleh polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp, maka dilakukan RFLP. Pada Gambar 2 dapat dilihat hasil RFLP gen eNOS3 polimorfisme Glu298Asp menggunakan enzim MboI pada suhu 37°C selama 16 jam. Pada gambar tersebut DNA subyek No. 1, 3, 4, dan 5 tidak dapat diretriaksi oleh enzim MboI, ini berarti alelnya

adalah homozigot GG (Guanin Guanin) dan sampel yang lain sebagian DNANYa dapat dipotong menjadi 2 fragmen dengan panjang 219 bp dan 87 bp, artinya sampel tersebut memiliki alel heterozigot GT (Guanin Timin), untuk mengkonfirmasi polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp, maka dilakukan sekuensing terhadap DNA subyek studi. Polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini.



Gambar 2. Hasil RFLP gen eNOS3 polimorfisme Glu298Asp (M=Marker 1 kb Leader, No. 1-7 adalah nomor sampel)

Tabel 3. Distribusi polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp pada subyek studi

Allel	Kelompok				Nilai p
	Hipertensi		Normotensi		
	n	%	n	%	
Homozigot GG	33	47,83	36	52,17	0,73
Heterozigot GT	32	52,46	29	47,54	

Ket: GG=Guanin Guanin GT=Guanin Timin \* Uji T

Tabel 3 menunjukkan hampir separuh subyek hipertensi dan normotensi mempunyai alel heterozigot GT. Tidak ditemukan polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp pada subyek dan tidak terdapat hubungan yang ber-

makna antara polimorfisme gen eNOS3 dengan kejadian hipertensi.

### Hubungan asupan lemak dengan kadar NO plasma pada subyek studi

Perbedaan rerata persentase asupan lemak total, ALJ, ALTJT, ALTJG dan kadar omega-3/omega-6 plasma dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan, tidak terdapat perbedaan persentase asupan lemak total, ALJ, ALTJ dan ALTJG antara subyek hipertensi dengan normotensi. Rerata persentase asupan lemak total subyek penelitian sudah sesuai dengan yang dianjurkan, sedangkan asupan ALJ lebih tinggi dari yang dianjurkan (<10%) dan asupan ALTJT dan ALTJG lebih rendah dari yang dianjurkan (10%-15%). Rerata kadar omega-3 dan omega-6 plasma subyek hipertensi lebih rendah daripada normotensi. Tidak terdapat perbedaan rerata kadar omega-3 dan omega-6 plasma antara kedua kelompok studi ( $p>0,05$ ). Selanjutnya hubungan asupan lemak dengan kadar NO plasma pada kelompok hipertensi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5 menunjukkan bahwa tidak terdapat hubungan antara asupan lemak dengan kadar NO plasma pada kelompok hipertensi dengan alel Glu298Asp. Pada tabel tersebut dapat dilihat, kadar NO plasma rendah lebih banyak ditemukan pada asupan lemak total, ALTJT dan ALTJG yang cukup dengan alel homozigot GG dan GT. Kadar NO plasma yang rendah lebih banyak ditemukan pada asupan ALJ rendah dibandingkan asupan ALJ cukup pada kedua alel. Omega-3 dan omega-6 adalah asam lemak tidak jenuh yang dapat mempengaruhi kadar NO plasma. Pada penelitian ini, kadar NO plasma tinggi lebih banyak ditemukan pada kadar omega-3 tinggi dan kadar omega-6 rendah dengan alel homozigot GG.

Tabel 4. Perbedaan rerata persentase asupan lemak dan kadar omega-3 dan omega-6 pada subyek penelitian

Jenis lemak	Kelompok	Rerata (%)	SB	Min	Mak	Nilai p
Lemak total (%)	Hipertensi	28,05	6,57	16,81	44,45	0,22
	Normotensi	30,14	13,98	13,36	43,43	
ALJ (%)	Hipertensi	12,31	4,21	5,11	28,74	0,96
	Normotensi	12,58	4,22	4,65	23,54	
ALTJT (%)	Hipertensi	4,21	1,79	1,45	10,26	0,85
	Normotensi	4,40	2,22	1,58	16,43	
ALTJG (%)	Hipertensi	3,77	1,97	0,99	11,29	0,87
	Normotensi	4,00	1,96	1,26	10,59	
Omega-3 (µg/Dl)	Hipertensi	14,45	0,10	12,77	17,16	0,82
	Normotensi	14,49	1,00	12,35	17,80	
Omega-6 (µg/dL)	Hipertensi	42,55	1,27	40,21	46,83	0,09
	Normotensi	43,96	6,54	40,12	94,33	

Tabel 5. Hubungan asupan lemak dan kadar omega 3/omega 6 plasma dengan NO plasma berdasarkan alel Glu298Asp pada subyek hipertensi

Jenis lemak	Alel	Kategori	Kadar NO plasma (µM/L)				Total		Nilai p
			Rendah		Tinggi		n	%	
			n	%	n	%			
Lemak total	GG	Cukup	9	75	3	25	12	100	0,11
		Kurang	15	71,4	6	28,6	21	100	
	GT	Cukup	10	83,3	2	16,7	12	100	1,00
		Kurang	12	60	8	40	20	100	
ALJ	GG	Kurang	10	90,9	1	9,1	11	100	0,21
		Cukup	14	63,6	8	36,4	22	100	
	GT	Kurang	24	72,7	9	27,3	33	100	0,40
		Cukup	5	55,6	4	44,4	9	100	
ALTJT	GG	Kurang	23	71,9	9	28,1	32	100	
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	GT	Kurang	21	67,7	10	32,3	31	100	
		Cukup	1	100	0	100	1	100	
ALTJG	GG	Kurang	24	72,7	9	27,3	33	100	1,00
		Cukup	24	72,7	9	27,3	33	100	
	GT	Kurang	21	67,7	10	32,3	31	100	
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
Kadar omega-3 plasma	GG	Rendah	22	68,8	10	31,3	18	100	0,69
		Tinggi	23	62,2	14	37,8	32	100	
	GT	Rendah	29	60,4	19	39,6	48	100	
		Tinggi	12	92,3	1	7,7	13	100	
Kadar omega-6 plasma	GG	Rendah	17	73,9	6	26,1	23	100	1,00
		Tinggi	7	70	3	30	10	100	
	GT	Rendah	18	69,2	8	30,8	26	100	
		Tinggi	4	66,7	2	33,3	6	100	

Keterangan: GG=Guanin Guanin; GT=Guanin Timin \* Uji Chi-square

Tabel 6. Hubungan asupan lemak dan kadar omega-3/omega 6 plasma dengan NO plasma berdasarkan alel Glu298Asp pada subyek normotensi

Jenis Lemak	Alel	Kategori	Kadar NO plasma (µM/L)				Total		Nilai p
			Rendah		Tinggi		n	%	
			n	%	n	%			
Lemak jenuh	GG	Cukup	8	47,1	9	52,9	17	100	0,28
		Kurang	13	68,4	6	31,6	19	100	
	GT	Cukup	16	84,2	3	15,8	19	100	0,11
		Kurang	3	30	7	70	10	100	
ALJ	GG	Kurang	9	81,8	2	18,2	11	100	0,07
		Cukup	12	48	13	52	25	100	
	GT	Kurang	0	0	4	100	4	100	0,009*
		Cukup	19	76	6	24	25	100	
ALTJT	GG	Kurang	21	61,8	13	38,2	34	100	
		Cukup	0	0	2	100	2	100	
	GT	Kurang	19	65,5	10	34,5	29	100	
		Cukup	0	0	0	0	0	100	
ALTJG	GG	Kurang	21	63,6	12	36,4	33	100	
		Cukup	0	0	3	100	3	100	
	GT	Kurang	19	65,5	10	34,5	29	100	0,06
		Cukup	19	65,5	10	34,5	29	100	
Kadar omega-3 plasma	GG	Rendah	9	60	6	40	15	100	1,00
		Tinggi	12	57,1	9	42,9	21	100	
	GT	Rendah	15	62,5	9	37,5	24	100	
		Tinggi	4	80	1	20	5	100	
Kadar omega-6 plasma	GG	Rendah	13	61,9	8	38,1	21	100	0,86
		Tinggi	8	53,3	7	46,7	15	100	
	GT	Rendah	11	68,8	5	31,3	16	100	
		Tinggi	8	61,5	5	38,5	13	100	

Keterangan: GG=Guanin Guanin; GT=Guanin Timin \* Uji Chi-square

Terdapat hubungan antara kadar omega-3 plasma dengan kadar NO plasma pada kelompok hipertensi dengan alel heterozigot GT ( $p < 0,05$ ).

Pada kelompok normotensi, subyek dengan alel homozigot GG yang memiliki kadar NO plasma rendah lebih banyak ditemukan dengan asupan asam lemak total kurang, ALJ cukup, ALTJT kurang, ALTJG kurang, omega-3 dan omega-6 rendah, sedangkan pada alel GT, kadar NO plasma rendah lebih banyak ditemukan pada asupan asam lemak total yang cukup, ALJ cukup, ALTJT kurang, omega-3 tinggi dan omega-6 rendah. Terdapat hubungan antara asupan ALJ dengan kadar NO plasma pada kelompok normotensi dengan alel heterozigot GT ( $p < 0,05$ ) (Tabel 6).

## PEMBAHASAN

### Kadar NO plasma

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar NO plasma pada kelompok hipertensi adalah  $26,91 \pm 15,40 \mu\text{M/L}$  dan kelompok normotensi  $25,79 \pm 15,04 \mu\text{M/L}$ . Hasil ini sesuai dengan kadar NO plasma normal yaitu  $25-45 \mu\text{M/L}$  tetapi berada pada kadar normal paling rendah. Tidak terdapat perbedaan kadar NO plasma antara kelompok hipertensi dengan normotensi ( $p > 0,05$ ). Kadar NO plasma normal rendah ini kemungkinan disebabkan karena hampir 50% subyek hipertensi maupun normotensi mempunyai alel heterozigot GT. Ini artinya bahwa sebagian kromosom sudah mengalami substitusi Guanin menjadi Timin yang menyebabkan kemampuan gen tersebut mensintesis enzim NOS sudah terganggu sehingga produksi NO menurun.

Gen eNOS3 merupakan gen yang terlibat dalam proses sintesis NO. Gen ini mensintesis enzim NOS, dimana enzim ini bekerja sebagai katalisator pembentukan NO pada reaksi pembentukan sitrulin dari asam amino arginin. Pada polimorfisme tertentu kemampuan sintesis NO berkurang. Sampai saat ini sudah ditemukan tiga polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan sintesis NO. Setiap polimorfisme gen eNOS3 menunjukkan mekanisme yang berbeda terhadap sintesis NO dan fungsi endotel. Varian Glu298Asp adalah salah satu polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan kejadian hipertensi. Pada alel Glu298Asp terjadi penurunan sintesis enzim NOS dan bioavailabilitas NO.<sup>15</sup>

Penelitian yang sama juga dilaporkan oleh Moriel *et al*, pada 11 penderita hipertensi berusia  $57,8 \pm 9,7$  tahun dan 11 pasien normotensi berusia  $48,4 \pm 7$  tahun. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa kadar NO penderita hipertensi adalah  $18,3 \pm 10,7 \mu\text{M/L}$  dan penderita normotensi  $20,7 \pm 16 \mu\text{M/L}$ . Tidak terdapat perbedaan kadar NO plasma antara penderita hipertensi dengan

normotensi.<sup>16</sup> Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kitanovska *et al*. Penelitian dilakukan pada 26 wanita hipertensi berusia  $37,6 \pm 4,6$  tahun dan 11 wanita normotensi berusia  $35 \pm 6,7$  tahun. Hasil penelitian ini adalah kadar NO plasma pada wanita hipertensi secara bermakna lebih rendah dibandingkan dengan wanita normotensi dengan nilai median NO adalah  $22 (11-35 \mu\text{M/L})$  pada hipertensi dan  $37,5 (11-66 \mu\text{M/L})$  pada wanita normotensi. Perbedaan hasil penelitian ini disebabkan karena adanya perbedaan karakteristik sampel penelitian. Kitanovska *et al* melakukan penelitian pada wanita premenopause berusia di bawah 40 tahun sedangkan pada penelitian ini dilakukan pada kedua jenis kelamin dan lebih dari separuh subyek studi sudah berusia di atas 40 tahun.<sup>17</sup> Usia dapat mempengaruhi kemampuan endotel untuk mensintesis NO. Pada usia lanjut kemampuan endotel pembuluh darah untuk menghasilkan NO sudah mulai berkurang. Pada studi ini kedua kelompok penelitian, sebagian besar adalah wanita yang sudah menopause (96,1% dan 84,3%). Hormon estrogen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar NO plasma.<sup>17</sup>

### Polimorfisme gen eNOS3

Pada penelitian ini tidak ditemukan alel Glu298Asp, artinya pada posisi 894 tidak terjadi mutasi DNA dari G menjadi T tetapi pada posisi tersebut pada kelompok hipertensi 47,83% tetap G sehingga disebut alel homozigot GG dan 52,46% pada salah satu kromosom terjadi substitusi G menjadi T sehingga disebut alel heterozigot GT. Pada kelompok normotensi ditemukan homozigot GG (52,17%) dan heterozigot GT (47,54%).

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kato *et al*, pada subyek Jepang yang terdiri dari 549 pasien hipertensi dan 513 normotensi. Alel Glu298Asp ditemukan sebanyak 8,4% pada kelompok hipertensi dan 8,2% pada kelompok normotensi. Tidak terdapat hubungan antara kejadian hipertensi dengan gen eNOS3 alel Glu298Asp. Hasil yang sama juga dilaporkan oleh dua peneliti lainnya. Penelitian Qi *et al* melaporkan bahwa polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan kejadian hipertensi adalah  $-786\text{T}>\text{C}$  dan intron 4a4b tetapi glu298Asp tidak berhubungan dengan kejadian hipertensi pada subyek Cina sedangkan penelitian Li *et al* juga melaporkan bahwa polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan kejadian hipertensi pada subyek Afrika Selatan adalah alel  $-786\text{T}>\text{C}$ .<sup>15,18,19</sup> Hasil berbeda dilaporkan oleh Colombo *et al* pada subyek Italia yang bertujuan untuk melihat hubungan gen eNOS3 dengan kejadian *cardiovascular diseases* (CVD) pada 268 subyek hipertensi dan 147 subyek normotensi, didapatkan hasil bahwa gen eNOS3 alel Glu298Asp dan  $-786\text{T}>\text{C}$

berhubungan bermakna dengan kejadian CVD.<sup>10</sup> Perbedaan hasil studi disebabkan karena adanya perbedaan etnik, masing-masing etnik mempunyai polimorfisme spesifik yang berhubungan dengan kejadian hipertensi. Selain perbedaan etnik, keadaan geografis dan jumlah subyek juga diduga sebagai faktor yang menyebabkan perbedaan hasil penelitian tersebut.<sup>17</sup>

### Asupan lemak dengan kadar NO plasma

Pada penelitian ini didapatkan hubungan antara asupan ALJ dengan kadar NO plasma hanya pada kelompok normotensi dengan alel heterozigot GT. Hasil yang sama juga telah dilaporkan Cook *et al* pada hewan percobaan dengan delesi gen eNOS3. Hewan percobaan dibagi menjadi dua kelompok, satu kelompok diberi diet tinggi lemak dan kelompok yang lain diberi diet biasa. Hasil penelitian ini adalah kelompok yang diberi diet tinggi lemak memproduksi NO 60% lebih rendah dibandingkan kelompok diet biasa dan tekanan darah secara bermakna lebih tinggi.<sup>12</sup>

Penelitian Roberts *et al* melihat pengaruh diet tinggi lemak terhadap kadar NO plasma pada binatang percobaan. Hewan percobaan dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok yang diberi diet tinggi lemak, karbohidrat sederhana (HFS) dan kelompok kedua diberi diet rendah lemak, karbohidrat kompleks (LFCC) selama 1 minggu. Penelitian ini melaporkan bahwa hewan percobaan dengan HFS mempunyai kadar NO plasma lebih rendah dengan peningkatan kadar NO yang inaktif dalam urin serta ekskresi NO menurun. Keadaan ini disebabkan karena diet HFS dapat meningkatkan ROS, suatu radikal bebas yang dapat mengoksidasi NO plasma, terbukti dari meningkatnya kadar NO teroksidasi yang diukur dari kadar nitrotirosin urin.<sup>20</sup>

Diet tinggi lemak akan menyebabkan peningkatan asam lemak dalam darah (*lipotoxicity*). Paparan kronis asam lemak kadar tinggi, khususnya dalam suasana hiperglikemia dapat menyebabkan hambatan terhadap ekspresi gen insulin (*insulin gen expression*).<sup>21</sup> Peningkatan asam lemak jenuh dalam serum berdampak sama dengan hiperglikemia yakni memicu disfungsi sel beta dan apoptosis, sebaliknya asam lemak tak jenuh tunggal (ALTJT) tidak akan memberikan efek yang sama bahkan lebih bersifat preventif.<sup>22</sup> Peningkatan asam lemak darah juga akan menyebabkan ambilan glukosa oleh sel otot menurun, sehingga akan menimbulkan keadaan hiperglikemia.<sup>23</sup>

Pada lapisan otot pembuluh darah, keadaan hiperglikemia akan menghilangkan daya apoptosis jaringan terhadap proliferasi tunika muskularis, sehingga memicu proses aterogenesis, di samping itu juga akan menyebabkan pembentukan superoksida yang berlebihan

an pada mitokondria. Hal ini memberi dampak buruk pada endotel melalui jalur sinyal molekuler yang diaktivasi oleh hiperglikemia. Bersamaan dengan itu, produksi superoksida dari mitokondria akan mengaktivasi faktor inflamasi COX-2 dari monosit yang akan memicu aterogenesis. Kelebihan superoksida hasil produksi mitokondria secara langsung memberi efek inhibisi terhadap enzim NOS. Inhibisi pada enzim ini menyebabkan sintesis NO menurun.<sup>23</sup>

Pada penelitian ini asupan lemak total masih sesuai dengan angka kecukupan gizi (AKG), ALTJT dan ALTJG di bawah AKG sehingga belum cukup untuk menghambat sintesis NO melalui radikal bebas yang dihasilkannya, di samping itu asupan lemak diukur dengan FFQ sehingga membuka peluang bias yang cukup besar karena FFQ memerlukan daya ingat subyek studi untuk mengingat kembali riwayat makanan yang mereka konsumsi selama 6 bulan terakhir. Penelitian Roberts *et al* dan Cook *et al* menggunakan desain eksperimental pada hewan percobaan sehingga kontrol bias terhadap faktor yang mempengaruhi hasil dapat dikendalikan.<sup>12,20</sup>

Asam lemak omega-3 merupakan golongan asam lemak rantai panjang yang rantai karbonnya mempunyai ikatan ganda. Pada penelitian ini didapatkan bahwa rerata kadar omega-3 plasma kelompok hipertensi adalah  $14,45 \pm 0,10$  ( $\mu\text{g/dL}$ ) dan kelompok normotensi  $14,49 \pm 1,00$  ( $\mu\text{g/dL}$ ). Hasil penelitian ini lebih tinggi dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Lipoeto *et al*, kadar omega-3 plasma adalah  $7,25$  ( $\mu\text{g/dL}$ ) dan kadar omega-6  $32,13$  ( $\mu\text{g/dL}$ ). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan sampel, penelitian Lipoeto dilakukan pada etnik Minangkabau di beberapa lokasi di Sumatera Barat sedangkan pada penelitian ini sampel diambil hanya di Kota Padang.<sup>14</sup>

Tidak terdapat perbedaan rerata kadar omega-3 dan omega-6 plasma pada kedua kelompok penelitian tetapi terdapat hubungan antara kadar omega-3 plasma dengan kadar NO plasma pada kelompok hipertensi dengan alel heterozigot GT. Efek omega-3 dan omega-6 terhadap kadar NO plasma telah dilaporkan oleh Lopez *et al*. Penelitian ini melaporkan bahwa pada kelompok yang mengkonsumsi minyak kaya omega-3 terjadi peningkatan secara bermakna kadar enzim NOS (sampai 70%), aktivitas NOS (sampai 102%), produksi NO (90%) dan cGMP (100%), sebaliknya L-arginin menurun 30% dan tidak terdapat perubahan produksi radikal hidroksil dibandingkan kelompok dengan diet kaya omega-6.<sup>11</sup> Hasil yang sama juga dilaporkan oleh Cicero *et al*<sup>24</sup> yang menyatakan bahwa omega-3 dapat menurunkan tekanan darah karena omega-3 dapat menghambat kerja senyawa vasokonstriktor dan menurunkan aktivitas sistem renin angiotensin.

Penelitian Simon *et al* (2009) pada 174 subyek berusia 45-74 tahun melaporkan bahwa kadar omega-3 yang lebih tinggi dan omega-6 yang rendah secara bermakna dapat menurunkan tekanan darah. Omega-3 dapat merubah fluiditas membran sel endotel sehingga mempermudah pelepasan *relaxing factor*, meningkatkan kadar kalsium intraseluler dan translokasi enzim NOS dari caveolar ke sitosol, meningkatkan aktivitas protein kinase dan transkripsi gen eNOS3.<sup>25</sup>

## SIMPULAN

Polimorfisme gen eNOS3 alel Glu298Asp tidak berhubungan dengan kejadian hipertensi pada etnik Minangkabau. Kadar NO plasma pada penderita hipertensi dan normotensi adalah normal tetapi berada pada kadar normal paling rendah. Omega-3 plasma berhubungan dengan kadar NO plasma hanya pada penderita hipertensi yang mempunyai alel heterozigot GT sedangkan asupan ALJ berhubungan dengan kadar NO plasma pada kelompok normotensi dengan alel heterozigot GT. Hasil studi ini menyokong anjuran konsumsi omega-3 pada penderita hipertensi dengan alel heterozigot GT untuk meningkatkan kadar NO plasma, sedangkan untuk penderita normotensi diharapkan mengurangi asupan asam lemak jenuh karena dapat menekan kadar NO plasma.

## DAFTAR PUSTAKA

- Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure (JNC7), 2003.
- Armilawaty, Amalia H, Amiruddin. Hipertensi dan faktor risikonya dalam Kajian epidemiologi. Bagian Epidemiologi, FKM UNHAS. 2007.
- Hadi H. Beban ganda masalah gizi dan implikasinya terhadap kebijakan pembangunan kesehatan nasional. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar pada Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta. 2005.
- Boedi-Darmojo. Mengamati perjalanan epidemiologi hipertensi di Indonesia. Medika, No. 7, Tahun XXVII 2001:442-48.
- Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. Profil kesehatan Provinsi Sumatera Barat. 2007
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. Nature. 1987; 323:22-7.
- Casas JP, Gianpiero L, Cavalleri GL, Bautista LE, Smeeth L, Humphries S. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and cardiovascular disease. 2000;A Huge Review.
- Kim JJ, Bae J, Lim SW, Cha DH, Cho HG, Kim S. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (-786T>C, 4a4b, 894G>T) in Korean patients with coronary artery disease. Thrombo Res. 2007;119 (15):579-85.
- Rankinen T, Rice T, Perusse L. NOS3 Glu298Asp genotype and blood pressure response to endurance training. Hypertension. 2000;32:885-97.
- Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG, Botto N, Manfredi S, Masetti S, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of coronary artery disease. Clinical chemistry. 2003;49:389-95.
- Lopez D, Orta X, Kelly C. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase in rat aorta after ingestion of fish oil-rich diet. Circulatory Physiology. 2004.
- Cook S, Hugli O, Egli M, Menard B, Thalmann S, Sartori C, et al. Partial gene deletion of endothelial nitric oxide synthase predisposes to exaggerated high fat diet-induced insulin resistance and arterial hypertension. Diabetes. 2004;53:2067-72.
- Delmi S, Rahayu S, Astuty P. Pengaruh pola makan terhadap profil lipid dan MDA plasma laki-laki etnik Minangkabau. Majalah Kedokteran Indonesia. 2004; 32:1-5.
- Lipoeto NI. Kadar asam lemak omega tiga dan konsumsi produk kelapa pada etnik Minangkabau di Sumatera Barat, Proceeding Kongres Nasional PDGMI, Bandung. 2006.
- Kato N, Sugiyama T, Morita H, Nabika T, Kurihara H, Yamori Y, et al. Lack of evidence for association between the endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension. Hypertension. 1999;33:933-36.
- Moriel P, Sevanian A, Ajzen S, Zanella MT, Plavnik FL, Rubbo H, et al. Nitric oxide, cholesterol oxides and endothelium-dependent vasodilation in plasma of patients with essential hypertension. Braz J Med Biol Res.2002;35(11):1301-09.
- Kitanovska BG, Zahrovska K, Bogdanovska S, Lozance L, Andreevska GS. Decreased nitric oxide in women with essential hypertension in pre hypertension phase. Croat Med J.2005;46(6):889-95.
- Qi Z, Shao-yong S, Shu-feng C, Biao L, Dong-feng G. Association study of the endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with essential hypertension in northern Han Chinese. Chinese Medical Journal. 2006;13:1065-71.
- Li R, Lyn D, Lapu-Bula R, Oduwole A, Igho-Pemu P, Lankford B, et al. Relation of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African American. Am J Hypertens. 2004;17:560-67.
- Roberts CK, Varizi ND, Sindhu RK, Barnard RJ. A high-fat, refined-carbohydrate diet affects renal NO synthase protein expression and salt sensitivity. J.Appl Physiol. 2003;94:941-46.
- Poitout V. Secondary  $\beta$ -cell failure in type 2 diabetes a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. Endocrinology. Minireview. 2002;143:339-42.
- Maedler K, Oberholzer J, Bucher P, Spinas GA, Donath MC. Monounsaturated fatty acid prevent the deleterious effect of palmitate and high glucose on human pancreatic  $\beta$ -cell turnover and function. Diabetes. 2003;52:726-55.



23. Brownlee MA. A Radical explanation for glucose-induced  $\beta$ -cell dysfunction. *J. Clin. Invest.* 2003; 112: 1788-90.
24. Cicero AF, Ertek S, Borghi C. Omega tiga polyunsaturated fatty acids: their potencial role in blood pressure prevention and management hypertension. Research Unit, Internal Medicine, Aging and Kidney Disease, Bologna Italy. 2009.
25. Simon G Anderson. Plasma fatty acid consumption as a predictor of arterial stiffnes and mortality hypertension. American Heart Association. 2009.

#### **Ucapan Terima Kasih kepada Mitra Bestari pada Volume 45 No. 1 Tahun 2011**

1. Dr. dr. Yohana Titus, MS, SpGK, Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jl. Salemba Raya Jakarta
2. Prof. Dr. dr. Darmono, SpPD, Bagian Ilmu Penyakit Dalam, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi, Jl. Dr. Sutomo 16-18 Semarang
3. Dr. dr. Rina K Kusumaratna, MKes, Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Jl. Kyai Topo 260, Grogol Jakarta
4. dr. Niken Puruhita, M.Med.Sc, SpGK, Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Jl. Dr. Sutomo 14 Semarang
5. Prof. dr. Lisyani Suromo, SpPK, Bagian Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi, Jl. Dr. Sutomo 16-18 Semarang
6. Prof. Dr. dr. Tjahjono, SpPA(K), FIAC, Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi, Jl. Dr. Sutomo 16-18 Semarang
7. Prof. Dr. dr. Arsiniati Muriabrata, MSc, SpGK, Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jl. Mayjen. Prof. Dr. Mustopo 47 Surabaya
8. Prof. Dr. Bambang Suprpto, M.Med.Sc, SpGK, Bagian Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Jl. Ir. Sutami 36A Surakarta
9. dr. Riani Indriati, SpS, Bagian Neurologi, Fakultas Kedokteran Universitas Trisakti, Jl. Kyai Topo 260, Grogol Jakarta