

KONSUMSI MIKRONUTRIEN DAN EKSPRESI GEN eNOS3 ALEL INTRO 4a4b PADA PENDERITA HIPERTENSI ETNIK MINANGKABAU

Delmi Sulastri

Bagian Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas
E-mail : delmisulastri@yahoo.com

Abstrak

Gen eNOS3 varian intron 4a4b merupakan salah satu gen yang berhubungan dengan kejadian hipertensi esensial. Kemampuan Gen eNOS3 varian ini untuk mensintesis enzim *nitric oxide synthase* (NOS) berkurang sehingga sintesis *Nitric oxide* (NO) menurun. Senyawa NO adalah suatu senyawa vasoaktif yang menyebabkan vasodilatasi pembuluh darah.

Penelitian pada subjek hipertensi dan normotensi berusia 30-65 tahun bertujuan untuk melihat pengaruh mikronutrien terhadap ekspresi gen eNOS3 alel intron 4a4b. 130 subjek, diwawancara pola makannya lalu dilakukan analisis asupan mikronutrien, gen eNOS3, serta kadar NO plasma. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji T dan *chi-square*.

Kadar NO plasma penderita hipertensi adalah 26.91 ± 15.40 $\mu\text{M/L}$ dan normotensi 25.79 ± 15.04 $\mu\text{M/L}$. 55.5% subjek hipertensi memiliki gen eNOS3 varian intron 4b dan 69% subjek normotensi mempunyai varian intron 4a4b. Kadar NO plasma rendah, (66.7%) ditemukan pada subjek hipertensi dengan varian intron 4b. Tidak terdapat hubungan bermakna asupan mikronutrien dengan kadar NO plasma pada subjek hipertensi.

Hasil ini tidak mendukung pengaruh konsumsi mikronutrien terhadap kadar NO plasma pada penderita hipertensi dengan gen eNOS3 varian intron 4a4b.

Kata Kunci : hipertensi esensial, gen eNOS3, kadar NO plasma

Abstract

eNOS 3 gene intron 4a4b allele is one of the important genes which is related to hypertension essential. This gene expresses the *nitric oxide synthase* (NOS) enzyme which regulates the synthesis of Nitric oxide (NO) in human body. NO causes vasodilatation, which decreases peripheral resistant and blood pressure.

A research has been done based on cross sectional study on hypertension patients and those with normal blood pressure in the range of 30-65 years old. The main of this research is to evaluate the influence of micronutrient consumption on eNOS3 gene intron 4a4b allele expression in hypertension subjects in Minangkabau ethnicity. 130 subjects interviewed about micronutrient consumption and the

assessment of eNOS3 gene and NO plasma level were done. The Data was analysed with t-test and chi-square.

The results of this study showed that the hypertensive's plasma NO concentration was $26.91 \pm 15.40 \mu\text{M/L}$ and normotensive's was $25.79 \pm 15.04 \mu\text{M/L}$. 55.5% of the hypertensive group has eNOS3 gene intron 4b alleles and 69% of the normotensive group has eNOS3 gene intron 4a4b alleles . Low NO plasma level can be found at 66.7% subject hypertension with eNOS3 gene allele intron 4b. There was no significant relationship between consumption of micronutrient with NO plasma level in hypertension patients.

This result did not support that consumption micronutrient can influenced NO plasma level in hypertension subject with eNOS3 gene allele 4a4b.

Key word : essential hypertension, eNOS3 gene, NO plasma level.

Pendahuluan

Hipertensi merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting dan telah lama dikenal sebagai penyakit yang dapat memperpendek umur. Pada stadium dini penyakit ini seringkali tanpa keluhan dan gejala, serta tidak disadari oleh penderita tetapi lambat laun dapat menyebabkan komplikasi yang berat pada organ tubuh.⁽¹⁾

Hipertensi merupakan suatu penyakit yang ditandai dengan peningkatan tekanan darah di atas nilai normal, yaitu nilai sistolik ≥ 140 mmHg dan atau diastolik ≥ 90 mmHg (*Kriteria Join National Committee/ JNC VII, 2003*). Penyakit ini dapat memberi gejala berlanjut untuk suatu target organ, seperti otak, pembuluh darah dan otot jantung. Saat ini hipertensi sudah menjadi masalah utama kesehatan masyarakat yang ada di Indonesia maupun di beberapa negara yang ada di dunia.⁽²⁾ Hampir separuh penduduk dewasa Eropa dan seperempat penduduk dunia menderita hipertensi. Data dari *The National Health and Nutrition Examination Survey* (NHNES) menunjukkan dari tahun 1999 – 2000 insiden hipertensi pada orang dewasa adalah 29% – 32%, ini berarti bahwa terdapat 58 – 65 juta orang menderita hipertensi di Amerika dan terjadi peningkatan 15 juta dari data tahun 1988 – 1991.⁽³⁾

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. Peningkatan tersebut terutama terjadi di negara sedang berkembang. Prediksi ini berdasarkan angka penderita hipertensi dan penambahan penduduk saat ini.^(3,4)

Data tentang prevalensi hipertensi di Indonesia telah banyak dilaporkan tetapi karena Indonesia merupakan negara kepulauan dengan banyak suku bangsa, sehingga sulit untuk mendapatkan prevalensi hipertensi secara pasti. Beberapa penelitian melaporkan prevalensi hipertensi di Indonesia berkisar antara 17% sampai 21%, sedangkan menurut laporan Depkes RI (2007)⁽⁵⁾ prevalensi hipertensi di Indonesia adalah 29,8%. Angka-angka ekstrim rendah dapat ditemukan di Ungaran Jawa Tengah yaitu 1,8%, Lembah Baliem Pegunungan Jaya Wijaya Irian Jaya 0,6% dan ekstrim tinggi di Talang Sumatera Barat 17,8%. Wanita mempunyai prevalensi lebih tinggi dari pada pria.^(2,6) Prevalensi hipertensi di Sumatera Barat juga cenderung meningkat. Pada tahun 1977 prevalensi hipertensi hanya 7,3%⁽⁶⁾ kemudian pada tahun 2007, hasil riset kesehatan dasar yang dilakukan Departemen Kesehatan RI melaporkan bahwa prevalensi hipertensi di Sumatera Barat sudah mencapai 31,2%.

Sembilan puluh lima persen penderita hipertensi tidak diketahui penyebabnya dan dikenal sebagai hipertensi primer atau esensial. Beberapa mekanisme yang mungkin berkontribusi untuk terjadinya hipertensi ini telah diidentifikasi, namun belum satupun teori yang tegas menyatakan patogenesis hipertensi tersebut. Interaksi antara faktor genetik dan lingkungan di duga mempunyai kontribusi yang besar terhadap hipertensi.⁽⁷⁾

Gen eNOS3 adalah gen yang berhubungan dengan patogenesis hipertensi. Varian dari gen *eNOS3* belum semuanya teridentifikasi, tetapi intron 4a4b merupakan salah satu varian gen eNOS3 yang berhubungan

dengan kejadian hipertensi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa polimorfisme gen eNOS3 memberikan faktor risiko yang berbeda antara etnik Asia dengan nonAsia terhadap hipertensi. Etnik Asia dan nonAsia dengan gen *eNOS3* varian intron 4a4b mempunyai faktor risiko yang sama menderita hipertensi,^(8,9) sedangkan penelitian yang dilakukan terhadap masyarakat Korea, didapatkan hasil bahwa varian intron 4a4b berhubungan bermakna dengan kejadian hipertensi.⁽¹⁰⁾ Individu yang memiliki varian ini akan mengalami gangguan ekspresi protein gen *eNOS3* sehingga kadar NO plasma menurun.⁽⁸⁾

Gen *eNOS3* adalah gen yang mengekspresikan senyawa *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS). Senyawa ini merupakan suatu enzim yang tersebar pada otot polos. Enzim tersebut mengkatalisis reaksi asam amino L-arginin menjadi sitrulin dan *nitric oxide*. Senyawa NO merupakan suatu *endothelium-derived relaxing factor (EDRF)* yang dalam kondisi fisiologis dilepaskan dari sel endotel sebagai respon terhadap asetilkolin dan peningkatan kalsium intraseluler. Senyawa NO dapat menyebabkan relaksasi vaskular 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. Di samping itu NO secara tidak langsung juga dapat menyebabkan vasorelaksasi pembuluh darah dengan cara menghambat pelepasan renin dan norepinefrin.

Pada penderita hipertensi esensial, sintesis NO di bawah nilai basal.⁽⁹⁾ Hal ini menyebabkan efek

vasodilatasi terhadap pembuluh darah menurun sehingga terjadi peningkatan tahanan perifer. Penurunan kemampuan vasodilatasi pembuluh darah juga terjadi pada kapiler di ginjal, keadaan ini akan mengakibatkan *glomerulus filtration rate (GFR)* menurun, sistem renin angiotensin teraktivasi dan akhirnya terjadi peningkatan tekanan darah. Senyawa NO yang berasal dari endotelium dianggap sebagai suatu senyawa yang bersifat ateroprotektif sehingga gangguan pada sintesis NO dihubungkan dengan meningkatnya risiko penyakit kardiovaskuler (PKV),^(8,11-13) disamping itu senyawa NO di dalam darah akan berikatan dengan homosistein membentuk senyawa S-NO-Hcy, homosistein darah akan turun, akibatnya risiko hiperhomosistein terhadap hipertensi akan berkurang.⁽¹⁰⁾

Pada penderita hipertensi, disamping kemampuan gen *eNOS3* mensintesis NO menurun, pola makan yang tidak seimbang akan memperburuk produksi NO, tetapi pola makan yang mengandung tinggi antioksidan dapat meningkatkan sintesis NO plasma.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Etnik Minangkabau adalah masyarakat yang sebagian besar bertempat tinggal di Sumatera Barat. Daerah ini terdiri dari daerah pantai dan pegunungan dengan pola makan yang khas. Beberapa penelitian yang pernah dilakukan, melaporkan bahwa etnik Minangkabau mempunyai pola makan tinggi lemak jenuh dan rendah sayur-sayuran serta buah-buahan sebagai sumber antioksidan dan serat. Berdasarkan uraian di atas, maka kami ingin melihat hubungan asupan antioksidan dengan ekspresi gen *eNOS3* varian intron 4a4b pada penderita hipertensi etnik Minangkabau.

Metode

Penelitian ini merupakan studi komperatif dengan desain *cross sectional study*, dilakukan di 4 kecamatan di Kota Padang Provinsi Sumatera Barat pada tahun 2009.

Populasi adalah semua penderita hipertensi dan normotensi yang berusia antara 30 – 65 tahun, etnik Minangkabau (berdomisili di Sumatera Barat, kedua orang tua serta kakek nenek berasal dari Sumatera Barat) dan diperoleh melalui penjarangan terhadap 800 orang calon subjek. Subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi (hipertensi sekunder, DM, dislipidemia, merokok, atlet, infeksi, post operasi saluran cerna, menjalani diet) diperoleh sebanyak 130 orang yang terdiri dari 65 subjek hipertensi esensial dan 65 subjek normotensi. Pengambilan subjek studi dengan cara *systematic random sampling*.

Polimorfisme gen eNOS3 alel intron 4a4b diperoleh melalui ekstraksi DNA dari darah subjek, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi *polymerase chain reaction* (PCR) serta dikonfirmasi dengan hasil sekuensing (metoda Sanger), sedangkan kadar NO plasma diperoleh dari hasil pemeriksaan 3 cc serum dengan menggunakan teknik ELISA. Asupan antioksidan dinilai dengan *semiquantitatif Food Frequency Questioner* (FFQ) dan diolah menggunakan metode nutrisurvey. Setelah data dikumpulkan kemudian diolah dengan komputer dan dianalisis menggunakan uji T untuk melihat perbedaan rerata kadar NO plasma dan

asupan antioksidan serta uji *Chi – Square* untuk melihat pengaruh asupan mikronutrien terhadap ekspresi gen eNOS3 intron 4a4b.

Hasil Penelitian

Gambaran Umum Daerah Penelitian

Kota Padang adalah Ibukota Propinsi Sumatera Barat dengan luas wilayah 694,96 km² memiliki penduduk sebanyak 784.740 jiwa dengan kepadatan penduduk sekitar 1.129 jiwa/km². Kota ini terdiri dari 11 Kecamatan dan 104 Kelurahan (Padang Dalam Angka, BPS Provinsi Sumatera Barat, 2004).

Penelitian dilakukan pada 4 kecamatan yaitu Kecamatan Padang Utara, dan Kecamatan Padang Barat, Kecamatan Pauh dan Kecamatan Lubuk Kilangan. Pada setiap kecamatan dipilih 2 kelurahan dan dilakukan penjarangan sampel terhadap 800 orang populasi yang dipilih secara *systematic random sampling*.

Dari hasil penjarangan diperoleh 130 sampel dengan karakteristik sebagai berikut, subjek penelitian dengan jenis kelamin wanita lebih banyak dibandingkan laki-laki yaitu 51 orang (78.5%) dan sebagian besar sampel berusia ≥ 40 tahun yaitu 62 org (95.4%) pada kelompok kasus dan 57 orang (87.7%) kelompok kontrol. Subjek penelitian dengan tingkat pendidikan rendah lebih banyak pada kedua kelompok masing-masing 64.6% dan 56.9%. Lebih dari separoh subjek penelitian tidak bekerja. (Tabel 1)

Tabel 1. Karakteristik Subjek Penelitian

<i>Karakteristik Subjek Penelitian</i>	Hipertensi		Normotensi	
	f	%	f	%
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
≥ 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

Rerata tekanan darah sistolik pada kelompok kasus adalah $152 \pm 17,64$ mmHg dan diastolik $90,27 \pm 6,25$ mmHg, sedangkan pada kelompok kontrol rerata tekanan darah sistolik $114,84 \pm 9,26$ mmHg dan diastolik $74,54 \pm 6,28$ mmHg.

Asupan mikronutrien yang terdiri dari asupan vitamin A, karotenoid, vitamin C, vitamin E dan flavonoid diukur dengan menggunakan semikuantitatif FFQ. Pada tabel 2 dapat dilihat perbedaan rerata asupan mikronutrien pada subjek penelitian.

Tabel 2 Perbedaan Rerata Asupan Mikronutrien pada Subjek Penelitian

Zat Gizi	Kelompok	Mean	SD	Min	Mak	p value
Vit C (mg/hr)	Kasus	159.06	85.45	13.05	409.74	0.94
	Kontrol	140.97	85.25	31.86	409.74	
Vit E (mg/hr)	Kasus	14.65	8.13	5.23	53.8	0.15
	Kontrol	15.38	11.11	2.10	77.30	
Retinol (IU)	Kasus	437.98	242.83	0.00	1539.22	0.25
	Kontrol	536.80	914.97	25.40	7582.01	
Karotenoid (mg)	Kasus	6123.25	4285.72	371.90	1769.99	0.001 *
	Kontrol	3893.63	2697.16	146.00	9653.79	
Flavonoid (mg)	Kasus	117.14	60.23	31.20	328.40	0.18
	Kontrol	101.51	46.08	8.10	203.30	

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna rerata asupan retinol, vitamin C, vitamin E dan flavonoid antara kedua

kelompok tetapi terdapat perbedaan bermakna asupan karotenoid antara kelompok kasus dengan kelompok kontrol (Tabel 2).

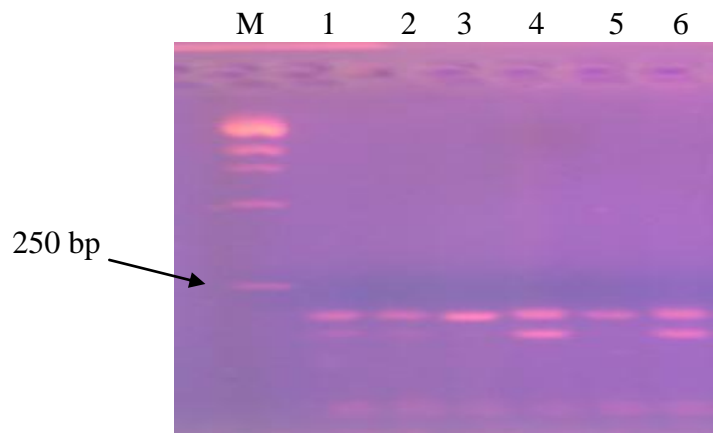
Tabel 3 Perbedaan Rerata Kadar NO Plasma Pada Subjek Penelitian

Variabel	Kelompok	Mean	SD	Min	Mak	p value
Kadar NO μM/L	Kasus	26.91	15.40	6.00	66.00	0.68
	Kontrol	25.79	15.04	9.00	67.50	

Dari Tabel 3 dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna rerata kadar NO plasma antara kelompok kasus dengan kelompok kontrol. Rerata kadar NO plasma pada kelompok kasus lebih tinggi daripada kelompok kontrol, tetapi masih dalam batas normal.

Hubungan Pola Makan dengan Polimorfisme Gen eNOS3 Intron 4a4b

Polimorfisme intron 4a4b didapatkan dengan cara DNA langsung diamplifikasi dengan menggunakan primer intron 4a4b. Hasil Amplifikasi selanjutnya dielektroforesis menggunakan agarose 2.5% dan diperoleh hasil seperti gambar dibawah ini.



Gambar 1 Hasil Amplifikasi PCR dengan Primer 4a4b (M=marker 1 kb Leader, no 1 – 6 adalah no sampel)

Gambar 1 adalah menunjukkan hasil amplifikasi DNA dengan menggunakan primer intron 4a4b. Dari 6 sampel dapat kita simpulkan bahwa sebahagian kecil sampel memiliki alel

intron 4b (sampel nomor 3 dan 5) karena hanya menunjukkan satu pita saja yaitu pada 210 bp dan yang lainnya adalah intron 4a4b dengan dua pita yaitu ukuran 210 bp dan 183 bp.

Tabel 4. Hubungan Polimorfisme Gen eNOS3 Alel Intron 4a4b dengan Kejadian Hipertensi pada Subjek Penelitian

Alel	Kelompok				p Value
	Kasus		Kontrol		
	f	%	f	%	
- Intron 4a	1	50	1	50	0.06
- Intron 4b	55	55.5	44	44.5	

Delmi Sulastrri, KONSUMSI MIKRONUTRIEN DAN EKSPRESI GEN eNOS3 20
 ALEL INTRO 4a4b PADA PENDERITA HIPERTENSI ETNIK
 MINANGKABAU

- Intron 4a4b	9	31	20	69	
---------------	---	----	----	----	--

Setelah dilakukan amplifikasi terhadap seluruh subjek penelitian, maka didapatkan hasil seperti terlihat pada tabel 6. Pada kelompok kasus, sebagian besar subjek penelitian memiliki alel 4b. Tidak terdapat hubungan antara intron 4a4b dengan kejadian hipertensi.

Tabel 5. Hubungan Alel Intron 4a4b dengan Kadar NO Plasma

Alel	Kadar NO plasma ($\mu\text{M/L}$)				p Value
	Rendah		Tinggi		
	f	%	f	%	
Intron 4a	1	50	1	50	
Intron 4b	66	66.7	33	33.3	0.88
Intron 4a4b	19	65.5	10	34.5	

Pada tabel 5 dapat dilihat bahwa kadar NO plasma yang rendah lebih banyak ditemukan pada intron 4b. Tidak terdapat hubungan antara alel intron 4a4b dengan kadar NO plasma ($p > 0.05$).

Tabel 6. Hubungan Asupan Mikronutrien dengan Kadar NO Plasma Berdasarkan Alel Intron 4a4b pada Kelompok Kasus

Zat Gizi	Alel	Kategori	Kadar NO Plasma ($\mu\text{M/L}$)				Total		p value
			Rendah		Tinggi		f	%	
			f	%	f	%			
Vit C	4a	Kurang	0	0	0	0	0	0	0.13
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	4b	Kurang	4	57.1	3	42.0	7	100	
		Cukup	34	70.8	14	29.2	48	100	
	4a4b	Kurang	0	0	0	0	0	0	
		Cukup	7	77.8	2	22.2	9	100	
Vit E	4a	Kurang	0	0	0	0	0	100	0.52
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	4b	Kurang	26	76.5	8	23.5	34	100	
		Cukup	12	57.1	9	42.9	21	100	
	4a4b	Kurang	7	100	0	0	7	100	
		Cukup	0	0	2	100	2	100	
Retinol	4a	Kurang	0	0	0	0	0	0	0.14
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	4b	Kurang	21	61.8	13	38.2	34	100	
		Cukup	17	81	4	19	21	100	
	4a4b	Kurang	4	80	1	20	5	100	
		Cukup	3	75	1	25	4	100	
Karotenoid	4a	Kurang	0	0	0	0	0	0	0.19
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	4b	Kurang	25	75.8	8	24.2	33	100	
		Cukup	13	59.1	9	40.9	22	100	
	4a4b	Kurang	4	100	0	0	4	100	
		Cukup	3	60	2	40	5	100	
Flavonoid	4a	Kurang	0	0	0	0	0	0	0.41
		Cukup	1	100	0	0	1	100	
	4b	Kurang	23	74.2	8	8	25.8	100	
		Cukup	15	62.5	9	37.5	24	100	
	4a4b	Kurang	4	66.7	2	33.3	6	100	
		Cukup	3	100	0	0	3	100	

Tabel 6 menggambarkan hubungan asupan mikronutrien dengan kadar NO plasma pada kelompok hipertensi dengan alel intron 4a4b. Pada alel intron 4b, kadar NO plasma yang tinggi lebih banyak ditemukan pada asupan vitamin C dan retinol kurang tetapi dengan asupan vitamin E, karotenoid dan flavonoid cukup, sedangkan pada intron 4a4b, kadar NO plasma yang tinggi lebih banyak ditemukan pada asupan vitamin C, vitamin E, retinol dan karotenoid cukup tetapi asupan flavonoid kurang. Tidak terdapat hubungan bermakna antara asupan mikronutrien dengan kadar NO plasma pada kelompok kasus dengan alel intron 4a4b ($p > 0.05$).

Diskusi

Kadar NO Plasma

Pada penelitian ini didapatkan rerata kadar NO plasma pada kelompok hipertensi adalah $26.91 \pm 15.40 \mu\text{Mol/L}$ dan kelompok normotensi $25.79 \pm 15.04 \mu\text{Mol/L}$. Hasil ini sesuai dengan kadar NO plasma normal yaitu $25 - 45 \mu\text{mol/L}$ tetapi berada pada kadar normal paling rendah. Tidak terdapat perbedaan bermakna kadar NO plasma antara kelompok hipertensi dengan normotensi ($P > 0.05$).

Penelitian yang sama telah dilaporkan oleh Moriel *et al* (2002), penelitian dilakukan pada 11 penderita hipertensi berusia 57.8 ± 9.7 tahun dan 11 pasien normotensi berusia 48.4 ± 7 tahun. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna kadar NO plasma antara penderita hipertensi dengan normotensi dengan kadar NO penderita hipertensi adalah $18.3 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$ dan penderita normotensi $20.7 \pm 16 \mu\text{mol/L}$.⁽¹⁶⁾

Hasil penelitian ini berbeda dengan penelitian yang dilakukan oleh Kitanovska *et al*, 2005. Penelitian dilakukan pada 26 wanita hipertensi berusia 37.6 ± 4.6 tahun dan 11 wanita normotensi berusia 35 ± 6.7 tahun. Hasil penelitian ini adalah kadar NO plasma pada wanita hipertensi secara bermakna

lebih rendah dibandingkan 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 yang berusia dibawah 40 tahun sedangkan pada penelitian ini dilakukan pada subjek laki-laki dan perempuan dan lebih dari separoh subjek penelitian baik pada kelompok kasus maupun kontrol sudah berusia di atas 40 tahun. Usia dapat mempengaruhi kemampuan endotel untuk mensintesis NO. Pada usia lanjut kemampuan endotel pembuluh darah untuk menghasilkan NO sudah mulai berkurang. Pada kedua kelompok penelitian, umumnya subjek wanita sudah menopause (96.1% dan 84.3%). Hormon estrogen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kadar NO plasma.⁽¹⁷⁾

Polimorfisme gen eNOS3 Alel Intron 4a4b

Gen eNOS3 merupakan salah satu gen yang diduga berhubungan dengan kejadian hipertensi. Sampai saat ini sudah teridentifikasi tiga polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan kejadian hipertensi esensial yaitu Glu298Asp, -786T>C dan intron 4a4b. Pada penelitian ini Alel intron 4a4b ditemukan hanya 1.5% pada kelompok kasus dan kelompok kontrol. Tidak terdapat hubungan yang bermakna antara alel 4a4b dengan kejadian hipertensi pada subjek penelitian.

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Kato *et al* (2004). Penelitian dilakukan terhadap masyarakat 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 yang bermakna antara kejadian hipertensi dengan gen eNOS3

alel Glu298Asp dan intron 4a4b.⁽¹⁸⁾ Penelitian Miyamoto *et al* (1998), pada masyarakat Jepang, alel Glu298Asp berhubungan dengan kejadian hipertensi dan hal yang sama juga dilaporkan oleh Lacolley *et al* (1998) pada masyarakat Caucasian bukan alel intron 4a4b.^(9,19)

Penelitian yang sama juga dilaporkan oleh Colombo *et al* (2003) pada populasi Italia. Penelitian ini bertujuan untuk melihat hubungan gen eNOS3 dengan kejadian cardio vascular diseases (CAD) pada terhadap 268 kasus dan 147 kontrol. Hasilnya adalah gen eNOS3 alel Glu298Asp dan -786T>C berhubungan bermakna dengan kejadian CVD dan intron 4a4b tidak ada hubungan dengan kejadian CAD.⁽¹³⁾

Penelitian Qi *et al* (2006) melaporkan bahwa polimorfisme gen eNOS3 yang berhubungan dengan kejadian hipertensi adalah -786TG>C dan intron 4a4b tetapi glu298Asp tidak berhubungan dengan kejadian hipertensi pada masyarakat Cina. Penelitian Li *et al* (2004) juga melaporkan bahwa alel -T786C berhubungan dengan kejadian hipertensi pada masyarakat Afrika Selatan.^(20,21)

Perbedaan hasil penelitian ini disebabkan bahwa adanya perbedaan etnik, masing-masing etnik mempunyai polimorfisme yang spesifik yang berhubungan dengan kejadian hipertensi. Selain perbedaan etnik, keadaan demografis dan geografis suatu daerah diduga sebagai faktor yang menyebabkan perbedaan hasil penelitian tersebut.⁽¹⁷⁾

Hubungan asupan mikronutrien dengan kadar NO plasma

Vitamin C dan vitamin E merupakan salah satu mikronutrien yang dapat mempengaruhi kadar NO plasma. Vitamin C adalah vitamin larut air dengan angka kecukupan gizi yang dianjurkan adalah 60 mg/hari. Pada penelitian ini didapatkan rerata asupan vitamin C pada kelompok kasus dan

kontrol adalah 150.06 ± 85.45 mg/hr dan 140.97 ± 85.25 mg/hr. Hasil penelitian ini lebih tinggi dari penelitian Purwastyastuti (2000) melaporkan rerata asupan vitamin C pada etnik minangkabau adalah 115 ± 13 mg, Hatma (2001) menemukan median asupan vitamin C pada etnik Minangkabau adalah 48.4 mg, dan Delmi (2003) menemukan median asupan vitamin C adalah 35 mg.⁽²²⁻²⁴⁾

Rerata asupan vitamin E adalah 14.65 ± 8.13 mg pada kelompok kasus dan 15.38 ± 11.11 mg pada kelompok kontrol. Hasil ini lebih tinggi dari penelitian Purwastyastuti (2000), Hatma (2001) dan Delmi (2003) dengan nilai masing-masing 3.6 ± 0.4 mg, 3.1 mg dan 0.5 mg.⁽²²⁻²⁴⁾

Pada penelitian ini tidak terdapat perbedaan bermakna rata-rata asupan vitamin C dan vitamin E pada kedua kelompok penelitian dan tidak terdapat hubungan antara asupan vitamin C dengan kadar NO plasma baik pada kelompok kasus maupun kelompok kontrol. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Livius *et al* pada tahun 2003.⁽¹⁴⁾ Penelitian *in vivo* ini dilakukan pada hewan coba yang dibagi menjadi dua kelompok. Kelompok satu adalah tikus normal sedang kelompok lainnya tikus dengan defisiensi apo E. Masing-masing kelompok diberi diet tinggi lemak dengan vitamin C atau vitamin E, selama 26-28 minggu. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi vitamin C jangka panjang secara bermakna meningkatkan aktivitas eNOS dan tidak mempengaruhi eNOS pada tikus normal tetapi tidak pada tikus defisiensi Apo-E. Efek vitamin C terhadap aktivitas eNOS adalah melalui kemampuan vitamin C dalam menstabilisasi BH4. 7,8-dihydrobiopterin menurun dan fungsi endotel vaskuler membaik. Efek tersebut tidak ditemukan pada pemberian vitamin E jangka panjang.⁽¹⁴⁾

Efek vitamin C dan vitamin E terhadap kadar NO plasma juga dilaporkan oleh Ulker *et al* (2003). Penelitian dilakukan pada tikus jantan berusia 20 – 22 minggu yang menderita hipertensi (Wistar Hypertensive Rats/ WHR) dan normotensi (Wistar Kyoto Rats/ WKY). Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa pemberian NAD(P)H oksidase inhibitor secara bermakna dapat menurunkan produksi radikal superoksida. Inkubasi SHR dan WKY dengan vitamin C dan vitamin E dosis tinggi dapat memperbaiki fungsi endotel, menurunkan produksi superoksida sama baiknya dengan pemberian NAD(P)H, meningkatkan aktivitas eNOS dan regenerasi NO. Efek vitamin C dan vitamin E karena kemampuan kedua vitamin tersebut sebagai antioksidan dan meregulasi superoksida dismutase (SOD).⁽¹⁵⁾

Efek kedua vitamin lebih tinggi secara bermakna pada WKY. Kemampuan vitamin C dan E memodulasi NAD(P)H dan aktivitas eNOS sampai saat ini belum diketahui secara pasti tetapi diduga vitamin terlibat dalam proses transkripsi dan posttranslasi dari NAD(P)H oksidase dan eNOS. Vitamin E merupakan antioksidan lipofilik, dapat memodulasi interaksi antara citokrom b558, bagian membran yang berikatan dengan enzim NAD(P)H oksidase yang dapat mengaktivasi dan stabilisasi enzim. Vitamin E akan diambil oleh LDL sehingga memperbaiki fungsi endotel dengan cara menurunkan sensitivitas LDL terhadap proses oksidasi, dan reaksi ini menjadi lebih kuat bila terdapat antioksidan lain seperti vitamin C.⁽¹⁵⁾

Perbedaan hasil ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan umur, pendidikan, sosioekonomi dan lingkungan dari subjek penelitian. Pola makan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pendidikan, sosioekonomi, kultur, kebiasaan dan lingkungan. Individu dengan sosioekonomi rendah cenderung memilih makanan tidak sehat

seperti tinggi lemak dan rendah sayur serta buah-buahan sebagai sumber antioksidan (Bolton-Smith *et al*, 1991). Penelitian pada penderita penyakit jantung koroner melaporkan bahwa asupan tinggi lemak total dan rendah sayur dan buah lebih banyak ditemukan pada subjek penelitian dengan tingkat pendidikan rendah (Erkkila *et al*, 1999). Buah dan sayur kurang memberi rasa kenyang dan harganya lebih mahal terutama buah-buahan. Hal ini menyebabkan individu dengan tingkat pendidikan dan sosioekonomi rendah cenderung memilih makanan sebagai sumber energi dan dapat memberi rasa kenyang daripada memilih makanan sehat.⁽²⁴⁾

Retinol dan karotenoid adalah antioksidan lipofilik. Pada penelitian ini didapatkan rerata asupan retinol pada kelompok kasus dan kontrol adalah 437.98 ± 242.83 mg/hr dan 536.80 ± 914.97 mg/hr sedangkan rerata asupan karotenoid pada kedua kelompok adalah 6123.25 ± 4285.72 mg/hr dan 3893.63 ± 2697.16 mg/hr. Terdapat perbedaan bermakna asupan karotenoid antara kelompok kasus dengan kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol terdapat hubungan yang bermakna antara asupan retinol dengan kadar NO plasma pada alel intron 4b.

All-trans retinoic acid (atRA) memiliki peranan yang penting dalam perkembangan dan maturitas sistem kardiovaskular. Pengaruh atRA terhadap kadar NO plasma sudah diteliti oleh Achan *et al*, (2002). Penelitian dilakukan pada sel endotel Murine yang telah diinkubasi dengan atau tanpa atRA. Hasilnya menunjukkan bahwa atRA secara bermakna dapat meningkatkan sintesis NO dan DDAH II. Peningkatan kadar NO plasma difasilitasi oleh DDHA II.⁽²⁵⁾

Pada penelitian ini rerata asupan flavonoid adalah 117.14 ± 60.23 mg/hr pada kelompok kasus dan 101.51 ± 46.08 mg/hr pada kelompok kontrol. Flavonoid merupakan derivat polifenol dari

diphenylpyrans, merupakan senyawa yang hanya ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Senyawa ini mempunyai efek ateroprotektif yang meliputi efek antioksidan yang sangat kuat, meningkatkan kemampuan trombosit untuk melepaskan NO dan menghambat pembentukan trombus. Pemberian jus anggur selama 14 hari terhadap laki-laki sehat menyebabkan penurunan agregasi trombosit, sintesis NO meningkat dan produksi radikal superoksida menurun.⁽²⁶⁾

Kesimpulan

1. Polimorfisme gen eNOS3 alel intron 4a4b tidak berhubungan dengan kejadian hipertensi pada etnik inangkabau. Sebagian besar gen eNOS3 alel intron 4 pada kelompok hipertensi adalah intron 4b dan kelompok normotensi alel intron 4a4b.
2. Kadar NO plasma pada penderita hipertensi dan normotensi adalah normal tetap berada pada kadar normal paling rendah. Tidak terdapat perbedaan kadar NO antara penderita hipertensi dan normotensi etnik Minangkabau.
3. Asupan Mikronutrien tidak berhubungan dengan kadar NO plasma pada subjek hipertensi dengan gen eNOS3 alel intron 4a4b

KEPUSTAKAAN

1. Chehab IA, 1993. Survey Hipertensi di Desa Tani Kutosari Sumatera Selatan. *Medika* 1 : 26 – 35.
2. Armilawaty, Amalia H dan Amiruddin, 2007. Hipertensi dan faktor risikonya dalam *Kajian epidemiologi. Bagian Epidemiologi*. FKM UNHAS.

3. Woodwell DA, 2000. Advance data from vital and health statistics, in *National ambulatory Medical Survey. National Center for Health Statistics Hypertension* 44 : 419.
4. Hadi H, 2005. Beban Ganda Masalah Gizi dan Implikasinya Terhadap Kebijakan Pembangunan Kesehatan Nasional. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar* pada Fakultas Kedokteran UGM Yogyakarta.
5. Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. Profil Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. 2007.
6. Darmojo B, 2001. Mengamati Perjalanan Epidemiologi Hipertensi di Indonesia. *Medika* 7 : 442-448.
7. Sargowo D, 2008. New Perspective in Hipertension Research; Potentials of Vascular Molecular Biology. Disampaikan pada pelatihan Nutrigenomik, Analisis Genetika Molekuler dan Nutrien Sebagai Faktor Risiko Hipertensi, Yogyakarta.
8. Casas JP, Cavalleri GL, Bautista LE, *et al*, 2006. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Disease. A Huge Review.
9. Miyamoto Y, Saito Y, kajiyama N, *et al*, 1998. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene is Positively Associated With Essential Hypertension. *Hypertension* 32 : 3 – 8.

10. Kim IJ, Bae J, Lim S.W *et al*, 2006. Influence of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms (-786>C, 4a4b, 894G>T) in Korean patients with coronary artery disease. *Thrombo Res* 119 (15) : 579 – 85.
11. Bonnardeaux A., Sophie N, Anne C *et al*, 1995. Lack of Evidence for Linkage of The Endothelial Cell Nitric Oxide Synthase Gene to Essential Hypertension. *Circulation* 91: 96-102.
12. Rankinen T, Rice T, Perusse L, *et al*, 2000. NOS3 Glu298Asp Genotype and Blood Pressure Response to Endurance Training. *Hypertension* 32: 885-97.
13. Colombo MG, Paradossi U, Andreassi MG *et al*, 2003. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms and Risk of Coronary Artery Disease. *Clinical chemistry* 49 (3) : 389-95.
14. Ulker S, McKeown PP dan Bayraktutan U, 2003. Vitamins Reverse Endothelial Dysfunction Through Regulation of eNOS and NAD (P) H Oxidase Activities. *Hypertension* 41 : 534.
15. Livius VD, Sheldon M, Darcy R, *at al*. 2003. Long Term Vitamin C Treatment Increases Vascular Tetrahydrobiopterin Levels and Nitric Oxide Synthase Activity. *Circulation Research* 192 : 88.
16. Moriel P, Sevanian A, Ajzen S, Zanella MT, Plavnik FL, Rubbo H *et al*, 2002. Nitric oxide, cholesterol oxides and endothelium – dependent vasodilation in plasma of patients with essential hypertension. *Braz J Med Biol Res* 35 (11) : 1301 – 1309.
17. Kitanovska BG, Zahrovska K, Bogdanovska S, Lozance L, Andreevska GS, 2005. Decreased nitric oxide in women with essential hypertension in pre hypertension phase. *Croat Med J* 46 (6) : 889 – 895.
18. 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
19. Lacolley P, Gautier S, Poirier O, Pannier B, Cambien F and Benetos A. Nitric Oxide Synthase Gene Polimorfism, Blood Pressure and Aortic Stiffness in Normotensive and Hypertensive Subjects. *J Hypertensi*. 1998 ; 16 : 31 – 35.
20. 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.
21. 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.
22. Hatma RD, 2002 Nutrien intake and their relation to lipid profile in diverse ethnic population, *Disertation. Post Graduate Program, University of Indonesia, Jakarta.*

23. Purwastyastuti, 2000. Relation of lipid peroxides to food habit, selected coronary heart disease risk factors and vitamin E supplementation in the elderly. *Dissertation*. Post Graduate Program University Seameo-Tropmed of Indonesia.
24. Delmi S, Rahayu S dan Astuty P, 2004. Pengaruh pola makan terhadap profil lipid dan MDA plasma laki-laki etnik Minangkabau, dalam *Majalah Kedokteran Indonesia* 32 : 1 – 5.
25. Achan V, Tran C.T.L, Arr goni F.A, *et al*, 2002.. all-trans-Retinoic Acid Increases Nitric Oxide Synthesis by Endothelial Cells. *Circulation Research* 90 : 764.
26. Freedman JE, Parker C, Li L *et al*, 2001. Select Flavonoids and Whole Juice From Purple Grapes Inhibit Platelet Fuction and Enhanced Nitric Oxide Release. *Circulation* 103 : 2792.