

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Hipertensi

2.1.1 Definisi Hipertensi

Hipertensi adalah terjadinya peningkatan tekanan darah secara abnormal dan terus menerus yang disebabkan satu atau beberapa faktor yang tidak berjalan sebagaimana mestinya dalam mempertahankan tekanan darah secara normal (Brian Hayens, 2003). Tekanan darah tersebut erat kaitannya dengan tekanan sistolik dan diastolik. Tekanan sistolik berkaitan dengan tingginya tekanan pada arteri bila jantung berkontraksi, sedangkan tekanan darah diastolik berkaitan dengan tekanan arteri pada saat jantung relaksasi diantara dua denyut jantung. Dari hasil pengukuran tekanan sistolik memiliki nilai yang lebih besar dari tekanan diastolik (Crowin, 2005).

2.1.2 Penyebab Hipertensi

Berdasarkan etiologinya, hipertensi dibagi atas hipertensi primer (essensial) dan hipertensi sekunder (Setiawati dan Bustami, 2005).

- a. Hipertensi primer, juga disebut hipertensi essensial atau idiopatik, adalah hipertensi yang tidak jelas etiologinya. Lebih dari 90% kasus hipertensi termasuk dalam kelompok ini. Kelainan hemodinamik utama pada hipertensi essensial adalah peningkatan resistensi perifer. Penyebab hipertensi essensial adalah multifaktor, terdiri dari faktor genetik dan lingkungan. Faktor keturunan bersifat poligenik dan terlihat dari adanya riwayat penderita kardiovaskuler dari keluarga. Faktor predisposisi genetik

ini dapat berupa sensitivitas pada natrium, kepekaan terhadap stress, peningkatan reaktivitas vascular (terhadap vasokonstriktor), dan resistensi insulin. Paling sedikit ada 3 faktor yang dapat menyebabkan hipertensi yakni, konsumsi garam (natrium), berlebihan, stres psikis, dan obesitas.

b. Hipertensi sekunder. Prevalensinya hanya sekitar 5-8% dari seluruh penderita hipertensi. Hipertensi ini dapat disebabkan oleh penyakit ginjal (hipertensi renal), penyakit endokrin (hipertensi endokrin), obat, dan lain-lain. Hipertensi renal dapat berupa :

1. Hipertensi renovaskular, adalah hipertensi akibat lesi pada arteri ginjal sehingga menyebabkan hipoperfusi ginjal.
2. Hipertensi akibat lesi pada parenkim ginjal yang menimbulkan gangguan fungsi ginjal.

Hipertensi endokrin antara lain terjadi karena adanya kelainan korteks adrenal, tumor di medulla adrenal, akromegali, hipertiroidisme, hipotiroidisme, dan lain-lain.

Penyakit lain yang dapat menyebabkan hipertensi adalah koarktasio aorta, kelainan neurologik, stres akut, polistemia, dan lain-lain.

2.1.3 Klasifikasi Hipertensi

Hipertensi diklasifikasikan berdasarkan tekanan sistolik dan diastolik, yang nilainya dapat bervariasi pada berbagai individu. Ada beberapa klasifikasi penderita hipertensi baik menurut WHO-ISH tahun 1999 (tabel 2.1), JNC VII tahun 2003 (tabel 2.2), dan hasil konsensus Perhimpunan Hipertensi Indonesia tahun 2007 (tabel 2.3). Secara umum disepakati bahwa hasil pengukuran tekanan

darah yang sama atau lebih besar dari 140/90 mmHg adalah khas dijadikan sebagai dasar pengelompokan hipertensi.

Tabel 2.1 : Klasifikasi hipertensi menurut WHO-ISH tahun 1999

Kategori	Tekanan Sistolik (mmHg)	Tekanan Diastolik (mmHg)
Optimal	<120	<80
Normal	<130	<85
Normal Tinggi	130-139	85-89
Grade 1 Hypertension	140-149	90-99
Sub Group : Borderline	140-159	90-94
Grade 3	180	110
Isolated Systolic Hypertension	140	<90
Sub Group: Borderline	140-149	<90

Berikut ini adalah tabel 2.2. klasifikasi hipertensi menurut *The Seventh Report of The Joint National Committee Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC VII)* tahun 2003.

Tabel 2.2 : Klasifikasi hipertensi JNC VII

Kategori	Tekanan Sistolik (mmHg)		Tekanan Diastolik (mmHg)
Normal	<120	dan	<80
Prehypertension	120-130	atau	80-89
Stage 1 Hypertension	140-159	atau	90-99
Stage 2 Hypertension	160	atau	100

Perhimpunan hipertensi Indonesia pada Januari 2007 meluncurkan pedoman penanganan hipertensi di Indonesia, yang diambil dari pedoman negara maju dan negara tetangga. Klasifikasi hipertensi ditentukan berdasarkan ukuran

tekanan darah sistolik dan diastolik dengan merujuk hasil JNC VII dan WHO (table 2.3).

Tabel 2.3 : Klasifikasi Hipertensi Hasil Consensus Perhimpunan Hipertensi Indonesia

Kategori Tekanan Darah	Tekanan Darah Sistol (mmHg)	Tekanan Darah Diastol (mmHg)
Normal	<120	Dan <80
Prehipertensi	120-139	Atau 80-89
Hipertensi stadium I	140-159	Atau 90-99
Hipertensi stadium II	>160	Atau >100
Hipertensi sistol terisolasi	≥140	<90

2.1.4 Gejala Klinis Hipertensi

Pada pemeriksaan fisik, tidak dijumpai kelainan apapun selain tekanan darah yang tinggi, tetapi dapat pula ditemukan perubahan pada retina, seperti perdarahan, eksudat (kumpulan cairan), penyempitan pembuluh darah, dan pada kasus berat, edema pupil (edema pada diskus optikus). Individu yang menderita hipertensi kadang tidak menampilkan gejala sampai bertahun-tahun (Corwin, 2001). Apabila menampilkan gejala, maka dapat diketahui dari adanya kerusakan vaskuler, dengan manifestasi yang khas sesuai sistem organ yang divaskularisasi oleh pembuluh darah bersangkutan.

Perubahan patologis pada ginjal dapat bermanifestasi sebagai nokturia (peningkatan urinasi pada malam hari) dan azetoma (peningkatan nitrogen urea darah dan kreatinin). Keterlibatan pembuluh darah otak dapat menimbulkan stroke atau serangan iskemik transien yang bermanifestasi sebagai paralisis sementara pada satu sisi (hemiplegia) atau gangguan tajam penglihatan (Wijayakusuma, 2000).

Crowin (2001) menyebutkan bahwa sebagian besar gejala klinis timbul setelah mengalami hipertensi bertahun-tahun berupa nyeri kepala saat terjaga, kadang-kadang disertai mual dan muntah, akibat peningkatan tekanan darah intrakranial, penglihatan kabur terjadi kerusakan retina akibat hipertensi, ayunan langkah yang tidak mantap karena kerusakan susunan saraf pusat, nokturia karena peningkatan aliran darah ginjal dan filtrasi glomerulus, edema dependen dan pembengkakan akibat peningkatan tekanan kapiler.

Gejala lain yang umumnya terjadi pada penderita hipertensi yaitu pusing, muka merah, sakit kepala, keluaran darah dari hidung secara tiba-tiba, tengkuk terasa pegal dan lain-lain. Kadang penderita hipertensi berat mengalami penurunan kesadaran dan bahkan koma karena terjadi pembengkakan otak. Keadaan ini disebut *ensefalopati hipertensif*, yang memerlukan penanganan segera (Wiryowidagdo, 2002).

2.2 Mekanisme Regulasi darah

Tekanan darah dalam tubuh dipengaruhi oleh curah jantung (*cardiac output*), tahanan perifer total (*peripheral resistance*), volume darah, viskositas darah, serta elastisitas dinding pembuluh darah (Guyton & Hall, 2008). Mekanisme yang mempengaruhi tekanan darah yaitu mekanisme autoregulasi lokal, saraf, dan hormonal (Martini, 2001).

Aliran darah dalam jaringan diatur oleh mekanisme autotoregulasi lokal. Autoregulasi berarti penyesuaian otomatis dari aliran darah dalam setiap jaringan terhadap kebutuhan berupa nutrisi, oksigen, maupun untuk regulasi pembuangan zat sisa metabolisme dan elektrolit, dimana zat-zat tersebut dalam darah

memainkan peranan penting dalam mengatur aliran darah ginjal. (Guyton, 1994). Jika terjadi gangguan autoregulasi lokal pada kondisi yang normal, maka akan mengaktifkan mekanisme system saraf dan hormonal untuk mencapai homeostasis (Martini, 2001).

Keadaan homeostasis tubuh dapat mengalami gangguan yang disebabkan oleh beberapa faktor seperti : stress fisik (trauma, suhu yang tinggi), perubahan kimia (penurunan O_2 atau pH, peningkatan CO_2 atau prostaglandin), dan peningkatan aktivitas jaringan. Gangguan homeostasis tersebut akan mengakibatkan tekanan darah dan aliran darah berkurang pada jaringan, sehingga akan merangsang autoregulasi lokal menurunkan tahanan dan peningkatan aliran darah. Namun apabila autoregulasi tidak efektif, maka mekanisme saraf akan menstimulasi reseptor-reseptor yang sensitif untuk mengubah komposisi kimia dan tekanan darah sistemik yang selanjutnya mengaktifkan pusat kardiovaskuler. Pada jarak waktu yang pendek terjadi peningkatan vasokonstriksi pada tekanan darah, selanjutnya saraf simpatis pada jantung dan perifer terstimulasi. Sehingga homeostasis tubuh akan mengembalikan volume dan tekanan darah menjadi normal kembali. Mekanisme hormonal dapat merespon apabila autoregulasi tidak efektif yaitu dengan menstimulasi kelenjar endokrin untuk melepaskan hormon yang berperan dalam pengaturan tekanan darah dan volume darah. Dalam jarak waktu yang lama maka homeostasis tubuh akan mengembalikan volume dan tekanan darah kembali normal (Martini, 2001).

Salah satu prinsip paling mendasar dalam sirkulasi adalah kemampuan setiap jaringan untuk mengendalikan aliran darah lokalnya sendiri sesuai dengan

kebutuhan metaboliknya. Sebaliknya, karena kebutuhan aliran darah berubah, maka aliran darah akan mengikuti perubahan tersebut. Setiap jaringan membutuhkan aliran darah untuk kebutuhan-kebutuhan spesifik yaitu untuk penghantaran oksigen ke jaringan, penghantaran zat makanan (glukosa, asam amino, asam lemak dan sebagainya), pembuangan karbondioksida dari jaringan, pembuangan ion hidrogen dari jaringan, mempertahankan ion-ion lain jaringan dengan tepat, pengangkutan berbagai hormon dan bahan spesifik lainnya ke berbagai jaringan (Guyton dan Hall, 1997).

Pada saat keadaan kondisi homeostasis tubuh terganggu akan mengakibatkan terjadi penurunan volume darah dan tekanan darah. Melalui regulasi oleh saraf simpatis dengan jarak waktu yang pendek akan meningkatkan *cardiac output* dan vasokonstriksi peripheral, yang selanjutnya tekanan darah meningkat dan kembali normal. Cara lain dalam merespon gangguan homeostasis akibat penurunan volume darah dan tekanan darah yaitu melalui stimulasi angiotensin II dan eritropoietin dengan tempo waktu yang panjang. Angiotensin II secara langsung akan mempengaruhi peningkatan *cardiac output* dan vasokonstriksi peripheral untuk meningkatkan tekanan darah. Selanjutnya angiotensin II akan merangsang pelepasan *antidiuretic hormone* (ADH), sekresi aldosteron, dan rasa haus untuk meningkatkan tekanan darah dan volume darah. Demikian pula dengan eritropoietin dengan cara meningkatkan pembentukan sel-sel darah merah akan meningkatkan volume darah. Adanya regulasi melalui perangsangan mekanisme saraf dan hormonal, maka homeostasis tekanan darah dan volume darah kembali normal.

2.3 Faktor- Faktor yang Mengontrol Tekanan Darah

Tekanan dalam suatu pembuluh darah merupakan tekanan yang bekerja terhadap dinding pembuluh darah (Guyton, 1994 ; Campbell *et al*, 2004). Tekanan tersebut berusaha melebarkan pembuluh darah karena semua pembuluh darah memang dapat dilebarkan. Pembuluh vena dapat dilebarkan delapan kali lipat pembuluh arteri. Selain itu tekanan menyebabkan darah keluar dari pembuluh melalui setiap lubang, yang berarti tekanan darah normal yang cukup tinggi dalam arteri akan memaksa darah mengalir dalam arteri kecil, kemudian melalui kapiler dan akhirnya masuk ke dalam vena. Oleh karena itu tekanan darah penting untuk mengalirkan darah dalam lingkaran sirkulasi (Guyton, 1994).

Tekanan darah dari suatu tempat peredaran darah ditentukan oleh tiga macam faktor yaitu (1) jumlah darah yang ada di dalam peredaran yang dapat membesarkan pembuluh darah; (2) aktivitas memompa jantung, yaitu mendorong darah sepanjang pembuluh darah; (3) tahanan perifer terhadap aliran darah (Wulangi, 1993). Selanjutnya faktor-faktor yang mempengaruhi tahanan perifer yaitu viskositas darah, tahanan pembuluh darah (jenis pembuluh darah, panjang, dan diameter), serta *turbulence* (kecepatan aliran darah, penyempitan pembuluh darah, dan keutuhan jaringan) (Suprayogi, 2004).

Upaya menjaga agar aliran darah dalam sirkulasi sistemik tidak naik atau turun disebabkan oleh tekanan darah yang berubah-ubah, maka penting untuk mempertahankan tekanan arteri rata-rata dalam batas konstan. Hal tersebut dapat dicapai melalui serangkaian mekanisme yang meliputi (1) susunan saraf, (2)

ginjal, dan (3) beberapa mekanisme hormonal (Guyton 1994). Hal tersebut dapat dijelaskan sebagai berikut :

- (1) Pengaturan melalui saraf. Pengaturan tekanan arteri dalam jangka waktu yang pendek, yaitu selama beberapa detik atau menit, hampir seluruhnya dicapai melalui refleks saraf. Salah satu yang paling penting ialah refleks baroreseptor. Bila tekanan darah menjadi terlalu tinggi, reseptor khusus yang disebut baroreseptor akan ditingkatkan. Reseptor tersebut terletak di dinding aorta dan arteri karotis interna. Baroreseptor kemudian mengirimkan sinyal ke medula oblongata di batang otak. Dari media dikirimkan sinyal melalui susunan saraf otonom yang menyebabkan (a) perlambatan jantung, (b) pengurangan kekuatan kontraksi jantung, (3) dilatasi arteriol, dan (d) dilatasi vena besar. Kesemuanya bekerja bersama untuk menurunkan tekanan arteri ke arah normal. Efek sebaliknya terjadi bila tekanan terlalu rendah baroreseptor menghilangkan rangsangannya.
- (2) Pengaturan melalui ginjal. Tanggung jawab terhadap pengaturan tekanan darah arteri jangka panjang hampir seluruhnya dikendalikan oleh ginjal. Dalam hal ini ginjal berfungsi melalui dua mekanisme penting, yaitu mekanisme hemodinamik dan mekanisme hormonal. Mekanisme hemodinamik sangat sederhana. Bila tekanan arteri naik melewati batas normal, tekanan yang besar dalam arteri renalis akan menyebabkan lebih banyak cairan yang disaring sehingga air dan garam yang dikeluarkan dari tubuh juga meningkat. Hilangnya air dan garam akan mengurangi volume darah, dan sekaligus menurunkan tekanan darah kembali normal. Sebaliknya

bila tekanan turun di bawah normal, ginjal akan menahan air dan garam sampai tekanan naik kembali menjadi normal.

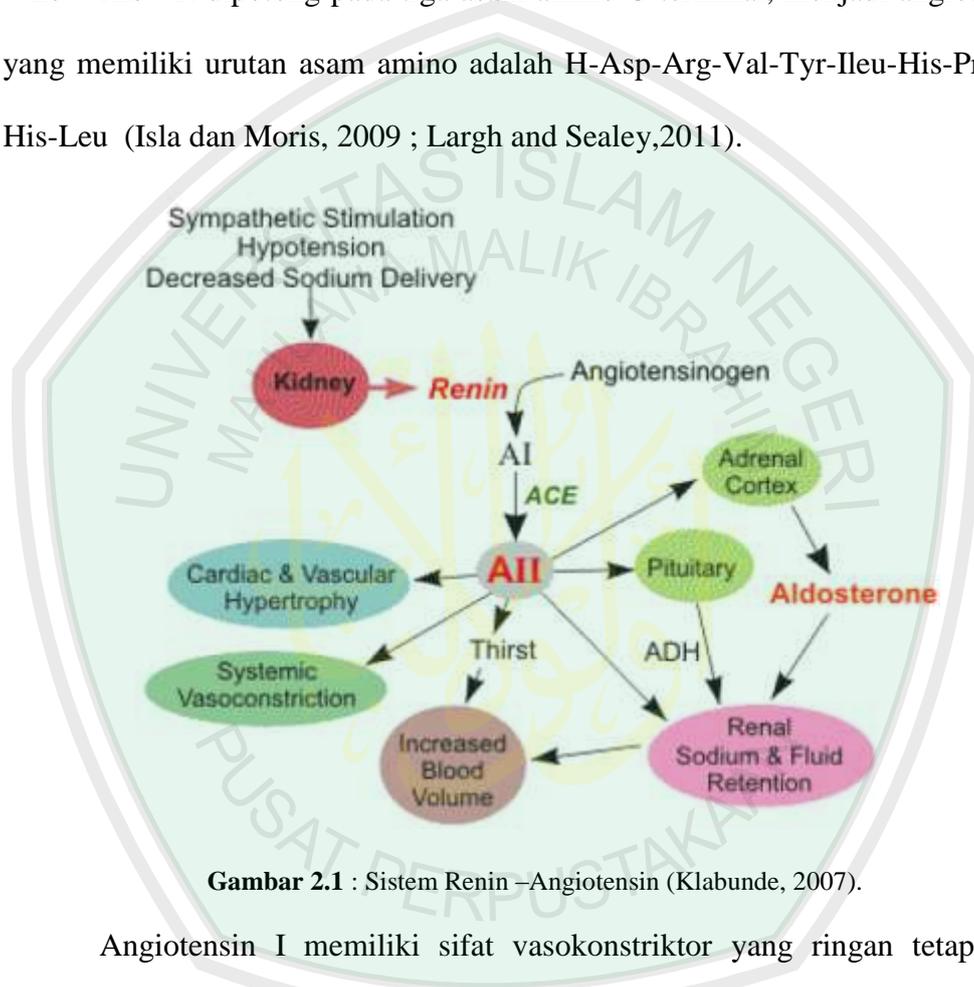
- (3) Pengaturan melalui hormon. Beberapa hormon memainkan peranan penting dalam pengaturan tekanan, tetapi yang terpenting adalah sistem hormon renin-angiotensin dari ginjal. Bila tekanan darah terlalu rendah sehingga aliran darah dalam ginjal tidak dapat dipertahankan normal, ginjal akan mensekresikan renin yang akan membentuk angiotensin. Selanjutnya angiotensin akan menimbulkan konstriksi arteriol diseluruh tubuh, sehingga dapat meningkatkan kembali tekanan darah ke tingkat normal.

2.4 Renin Angiotensin System (RAS)

RAS adalah sistem hormon yang mengatur keseimbangan tekanan darah dan cairan tubuh. Pada gambar 2.1 menjelaskan proses dalam sistem renin angiotensin. Mekanismenya dimulai dengan adanya suatu stimulus, seperti penurunan volume intravaskuler dan penurunan tekanan darah yang mengaktifkan prorenin dan mengeluarkan renin langsung ke dalam sirkulasi darah oleh sel jukstaglomeruler sel ginjal.

Renin adalah enzim dengan protein kecil yang dilepaskan oleh ginjal bila tekanan arteri turun sangat rendah (Guyton & Hall, 2008). Menurut Klabunde (2007) pengeluaran renin dapat disebabkan aktivasi saraf simpatis (pengaktifannya melalui β 1-adrenoceptor), penurunan tekanan arteri ginjal (disebabkan oleh penurunan tekanan sistemik atau stenosis arteri ginjal), dan penurunan asupan garam ke tubulus distal.

Plasma renin mengkonversi angiotensinogen yang dilepaskan oleh hati menjadi Angiotensin I. Pada proses ini angiotensinogen yang memiliki urutan asam amino H – Asp – Arg – Val – Tyr – Ileu – His – Pro – Phe – His – Leu – Val – Ile – His - R dipotong pada tiga asam amino C-terminal, menjadi angiotensin I yang memiliki urutan asam amino adalah H-Asp-Arg-Val-Tyr-Ileu-His-Pro-Phe-His-Leu (Isla dan Moris, 2009 ; Largh and Sealey,2011).



Gambar 2.1 : Sistem Renin –Angiotensin (Klabunde, 2007).

Angiotensin I memiliki sifat vasokonstriktor yang ringan tetapi tidak cukup untuk menyebabkan perubahan fungsional yang bermakna dalam fungsi sirkulasi. Renin menetap dalam darah selama 30 menit sampai 1 jam dan terus menyebabkan pembentukan angiotensin I selama sepanjang waktu tersebut (Guyton & Hall, 2008).

Beberapa detik setelah pembentukan angiotensin I (Guyton & Hall, 2008), terdapat dua asam amino tambahan yang memecah dari angiotensin I untuk

membentuk angiotensin II, yaitu His-Leu (Largh and Sealey, 2011). Sehingga, angiotensin II memiliki urutan asam amino H – Asp – Arg – Val – Tyr – Ileu – His – Pro – Phe. Perubahan ini hampir seluruhnya terjadi selama beberapa detik sementara darah mengalir melalui pembuluh kecil pada paru-paru, yang dikatalisis oleh suatu enzim, yaitu enzim pengubah, yang terdapat di endotelium pembuluh paru yang disebut *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) (Kumar, *et al.*2010). Tingginya aktivitas ACE dalam mengkonversi Angiotensin I (peptida inaktif) menjadi angiotensin II (peptida aktif) memicu banyak efek biologis termasuk meningkatnya tekanan darah (Bawazie dkk., 2010).

Angiotensin II adalah vasokonstriktor yang sangat kuat, dan memiliki efek-efek lain yang juga mempengaruhi sirkulasi. Angiotensin II menetap dalam darah hanya selama 1 atau 2 menit karena angiotensin II secara cepat akan diinaktivasi oleh berbagai enzim darah dan jaringan yang secara bersama-sama disebut angiotensinase (Guyton dan Hall, 1997).

Selama angiotensin II ada dalam darah, maka angiotensin II mempunyai dua pengaruh utama yang dapat meningkatkan tekanan arteri. Pengaruh yang pertama, yaitu vasokonstriksi, timbul dengan cepat. Vasokonstriksi terjadi terutama pada arteriol dan sedikit lebih lemah pada vena. Konstriksi pada arteriol akan meningkatkan tahanan perifer, akibatnya akan meningkatkan tekanan arteri. Konstriksi ringan pada vena-vena juga akan meningkatkan aliran balik darah vena ke jantung, sehingga membantu pompa jantung untuk melawan kenaikan tekanan arteri (Guyton dan Hall, 1997).

Cara utama kedua dimana angiotensin meningkatkan tekanan arteri adalah dengan bekerja pada ginjal untuk menurunkan ekskresi garam dan air. Ketika tekanan darah atau volume darah dalam arteriola eferen turun (kadang-kadang sebagai akibat dari penurunan asupan garam), enzim renin mengawali reaksi kimia yang mengubah protein plasma yang disebut angiotensinogen menjadi peptida yang disebut angiotensin II. Angiotensin II berfungsi sebagai hormon yang meningkatkan tekanan darah dan volume darah dalam beberapa cara. Sebagai contoh, angiotensin II menaikkan tekanan dengan cara menyempitkan arteriola, menurunkan aliran darah ke banyak kapiler, termasuk kapiler ginjal. Angiotensin II merangsang tubula proksimal nefron untuk menyerap kembali NaCl dan air. Hal tersebut akan mengurangi jumlah garam dan air yang diekskresikan dalam urin dan akibatnya adalah peningkatan volume darah dan tekanan darah (Campbell, *et al.* 2004).

Pengaruh lain angiotensin II adalah perangsangan kelenjar adrenal, yaitu organ yang terletak di atas ginjal, yang membebaskan hormon aldosteron. Hormon aldosteron bekerja pada tubula distal nefron, yang membuat tubula tersebut menyerap kembali lebih banyak ion natrium (Na⁺) dan air, serta meningkatkan volume dan tekanan darah (Campbell, *et al.* 2004).

2.5 Angiotensin Converting Enzyme (ACE)

2.5.1 Tinjauan Umum ACE

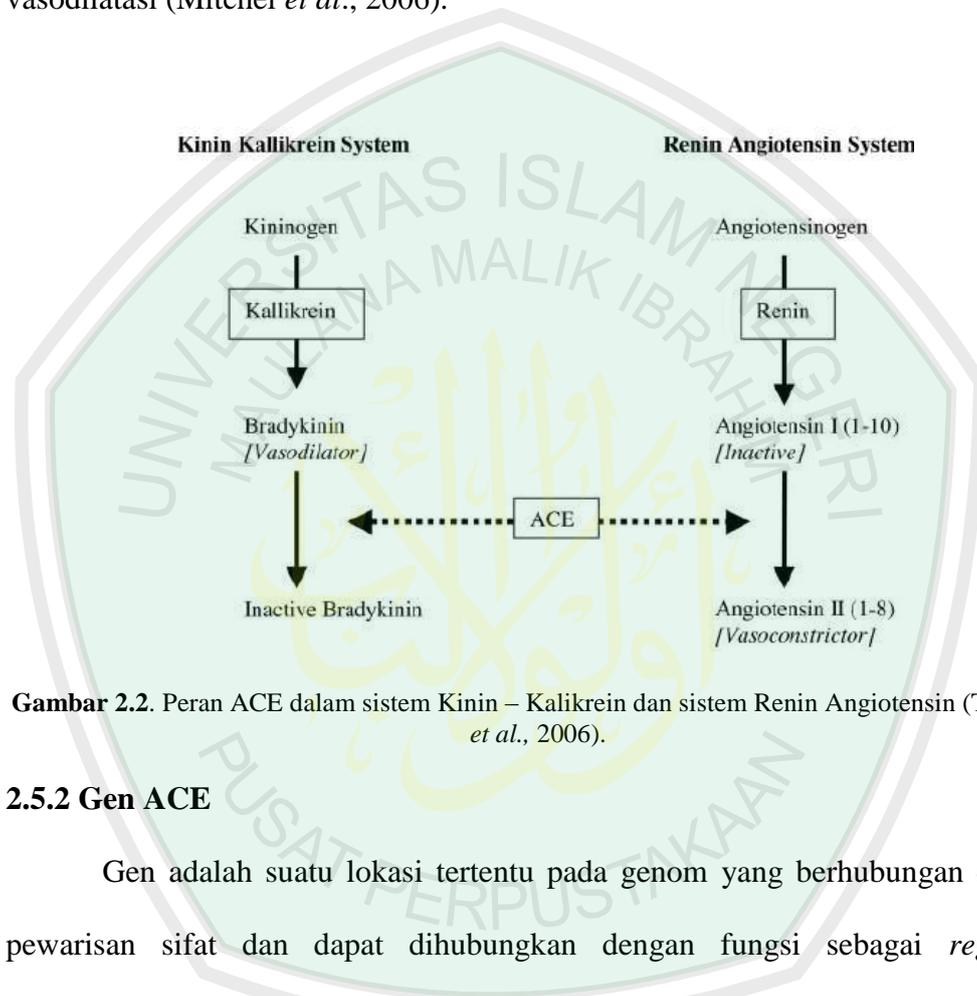
Angiotensin converting enzyme (ACE) adalah *monomeric bivalent dipeptidyl carboxyl zinc metalloproteinase ectoenzyme* dengan berat molekul 170kDa yang memiliki dua sisi katalitik (Koyama *et al.*, 2008). ACE berwujud

membrane-bound pada permukaan sel endotel, sel epitel atau neuroepitel, dan otak (Heffelfinger, 2007). Sedangkan pada darah dan cairan tubuh ACE berwujud *solubel* (Heffelfinger, 2007). ACE juga terdapat pada sel epitel ginjal, limfosit, makrofag, dendritik, dan bersirkulasi dalam plasma (Nesterovitch *et al.*, 2009). ACE berikatan dengan membran plasma melalui *hydrophobic membrane-spanning domain* dekat C-terminus (Niu *et al.*, 2002). ACE serum paling banyak berasal dari kapiler paru-paru melalui *proteolytic cleavage* oleh suatu *membrane-bound ACE secretase*, sehingga kadar ACE paling banyak terdapat di paru-paru. Pada individu sehat, kadar ACE dalam darah sangat stabil (Danilov *et al.*, 2011).

Secara umum peran ACE dalam mengatur tekanan darah yang memicu terjadinya hipertensi, dapat terjadi melalui dua jalur. Sistem yang pertama sebagaimana dijelaskan pada gambar 2.1, dimana ACE membantu proses pengubahan angiotensin I menjadi angiotensin II yang berperan sebagai vasokonstriktor (Niu *et al.*, 2002). Sedangkan jalur kedua sebagaimana tersaji pada gambar 2.2 ACE pada sistem kinin - kalikrein mengkonversi bradykinin yang merupakan vasodilator menjadi *inactive peptide* (Tatabaei *et al.*, 2006), dengan memotong C-terminal *dipeptide phenyl-alanyl-arginine* (Moreau *et al.*, 2005).

Pada sistem kinin – kalikrein, diawali oleh kininogen. Kininogen adalah prekursor kinin dan merupakan substrat bagi kalikrein. Kininogen terdiri dari dua macam yaitu, kininogen dengan berat molekul besar yang terdapat di plasma dan kininogen dengan berat molekul rendah yang terdapat di jaringan (Yousef *and* Diamandis, 2007). Kininogen disintesis di jaringan hati lalu dilepaskan ke plasma.

Protein plasma Kininogen dipecah oleh enzim protease spesifik yang dinamakan kalikrein. Kalikrein memecah kininogen dengan berat molekul besar untuk menghasilkan bradykinin, yaitu nonapeptida vasoaktif yang menyebabkan vasodilatasi (Mitchel *et al.*, 2006).



Gambar 2.2. Peran ACE dalam sistem Kinin – Kalikrein dan sistem Renin Angiotensin (Tatabaei *et al.*, 2006).

2.5.2 Gen ACE

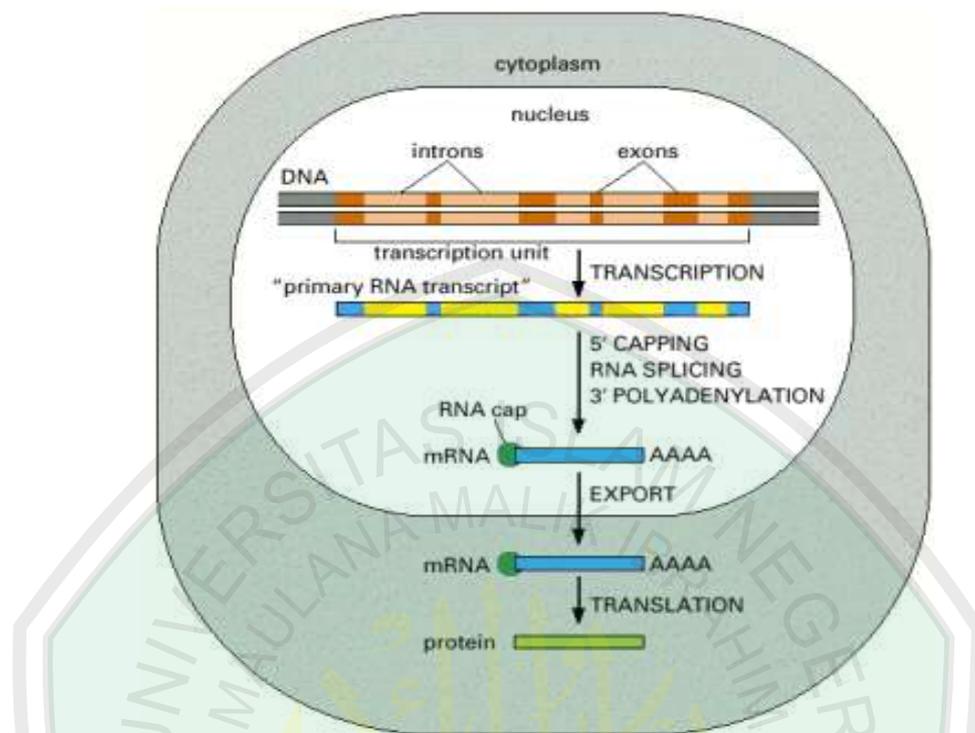
Gen adalah suatu lokasi tertentu pada genom yang berhubungan dengan pewarisan sifat dan dapat dihubungkan dengan fungsi sebagai *regulator* (pengendali), sasaran transkripsi, atau peran-peran fungsional lainnya (Pearson, 2006). Gen pada sel eukariot terdiri dari intron dan ekson yang terletak berselang seling (Wright *et al.*, 2014).

Ekson merupakan area *coding sequence* yang dapat ditranskripsi dan ditranslasi menjadi protein, sedangkan intron merupakan area *non-coding sequence* (Bergman, 2001), sehingga tidak mempunyai fungsi dalam proses

translasi, tapi mempengaruhi peran dalam pengaturan sintesis protein. Intron yang tidak terpotong (*unspliced*) yang ada dalam mRNA mengakibatkan penyimpangan dalam ekspresi gen (Chorev *and* Carmel, 2012).

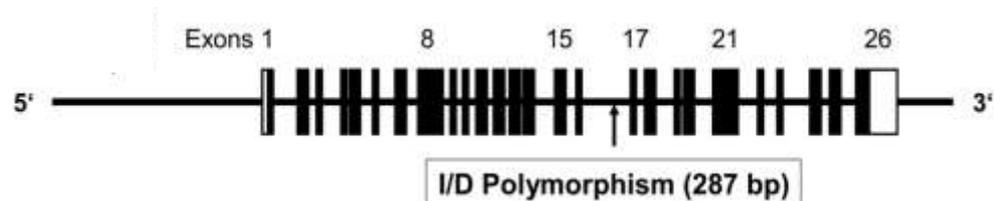
Intron berperan dalam maturasi mRNA, termasuk inisiasi transkripsi, elongasi transkripsi, terminasi transkripsi, poliadenilasi dan stabilitas mRNA (Chorev *and* Carmel, 2012). Kata “int” pada intron mengarah pada intervening karena intron selalu berada diantara ekson (Bergman, 2001). Intron ditemukan pada tahun 1977, sebagai hasil dari pengamatan bahwa mRNA yang mengkode protein memiliki ukuran yang lebih pendek dibandingkan gen dari asal mRNA tersebut ditranskripsi (Standish, 2002).

DNA sebelum disintesis menjadi protein, akan melalui tahap transkripsi, dan translasi. DNA yang terdiri atas ekson dan intron ditranskripsi menghasilkan pre-mRNA (*primary transcript*). Pada tahapan selanjutnya intron akan dipotong dan dihilangkan dari pre-mRNA dan ekson-ekson yang ada selanjutnya disambung menjadi mRNA yang matang (*mature m-RNA*). Proses pemotongan intron dan penyambungan kembali ekson-ekson disebut sebagai proses RNA *splicing*. Transkrip mRNA yang sudah matang inilah yang akan ditranslasi (Yuwono, 2005). Secara skematis tahapan dasar pemrosesan mRNA dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 : Tahapan sintesis protein (Sarmoko, 2011).

Gen ACE terdapat pada kromosom 17q23, terdiri dari 26 exon dan 25 intron (gambar 2.4). Pada intron 16 terdapat polimorfisme insersi/delesi yaitu kehadiran dan ketidakhadiran *alu repeat DNA sequence* sepanjang 287 bp (Li *et al.*, 2012). Polimorfisme ini menghasilkan tiga genotip yaitu insersi-insersi (II), insersi-delesi (ID), dan delesi-delesi (DD) (Borah *et al.*, 2011). II terjadi apabila pada kedua alel tersisipi *alu elements*, ID terjadi apabila salah satu alel tersisipi *alu elements*, dan alel lainnya tidak tersisipi, sedangkan DD terjadi apabila kedua alel tidak tersisipi *alu elements*.

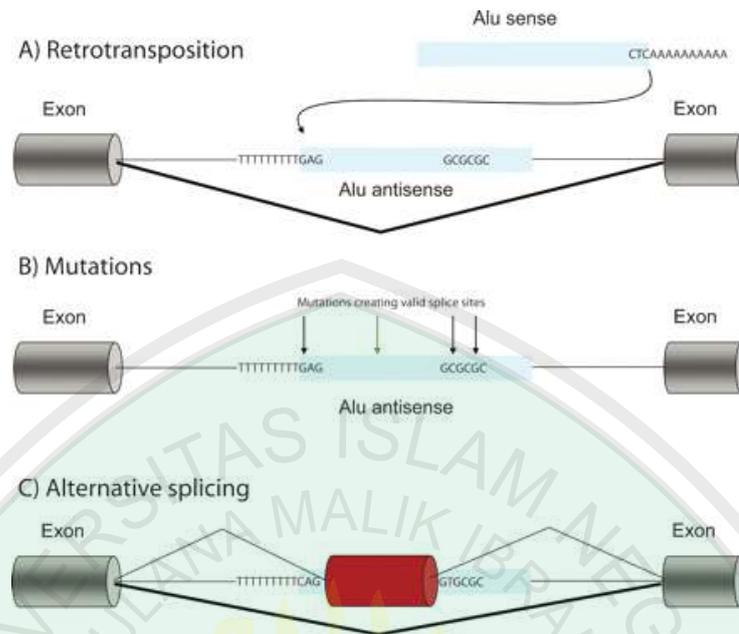


Gambar 2.4 : Posisi gen ACE pada kromosom 17q23 (Tatabaei, 2006).

Alu *elements* adalah *repetitive elements* paling melimpah dalam genom manusia yang diklasifikasikan sebagai SINE (*Short Interspersed Elements*) (Hassler and Strub, 2006). Alu *elements* merupakan gen yang dapat berpindah atau *transposable element* (TE), yang ada pada primata. Seperti pada *transposable elements* lainnya, alu *elements* berpindah dari satu genom ke genom lain, terkadang alu *elements* menyisipkan salinan dirinya langsung pada gen penyandi protein (Pray, 2008).

Alu *elements* membawa sejumlah *cyiptic splice site* yang berpotensi menjadi aktif pada kondisi tertentu (Zarnack *et al.*, 2013), yaitu ketika *cyiptic splice site* pada alu lebih kuat potensi pengenalannya dibandingkan *constitutive splice site*. Tidak jarang *cyiptic splice site* pada alu *elements* teraktivasi sehingga muncul ekson baru. Proses munculnya ekson baru dari *non-protein-coding* terutama dari intron ini disebut eksonisasi (Lin *et al.*, 2008).

Eksonisasi adalah penciptaan ekson baru dari intron yang mengandung alu (atau *transposable elements*). Proses exonization diilustrasikan pada gambar 2.5. Awalnya, Alu TE dimasukkan ke dalam gen intron. Sehingga Alu menyambung ke dalam mRNA sebagai bagian dari intron tersebut. Seiring waktu (selama beberapa juta tahun), terjadi mutasi yang mengarah pada pembentukan situs pemotongan aktif pada kedua ujung alu *elements*, dan Alu TE dan akhirnya berubah menjadi ekson (Pray, 2008).



Gambar 2.5 : Model skematis untuk exonisasi dari Alu *elements* (Pray, 2008).

Alu *elements* yang berada di intron 16 mengalami eksonisasi dan menyebabkan munculnya genotip II, ID, dan DD. Sehingga terjadi polimorfisme insersi/delesi (I/D) pada gen ACE.

Polimorfisme insersi/delesi (I/D) pada gen ACE akan mempengaruhi aktifitas dan kadar ACE (Siddarth *et al.*, 2012). Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Qomar (54) 49:

إِنَّا كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ

Artinya : “*Sesungguhnya kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran.*”

Pada ayat di atas kata بِقَدَرٍ bermakna ukuran, segala sesuatu, baik yang besar, kecil, yang akan terjadi, maupun yang telah terjadi, Allah SWT menciptakan sesuai ukurannya. Ukuran yang menentukan hakikatnya, yang menentukan sifatnya, yang menentukan kadarnya (Quthb, 2004). Seperti pada

polimorfisme gen ACE pada intron 16 berbeda genotipnya, maka berbeda ukuran atau kadar ACEnya. Kadar ACE sesuai dengan genotipnya yaitu II 300µg/L; ID 400 µg/L; dan DD 500 µg/L (Smithies *et al.*, 2000).

2.6 Metode PCR

Polymerase Chain Reaction (PCR), merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk mengamplifikasi nukleotida secara *in vitro*. Metoda PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula, sekitar 10^6 - 10^7 kali. Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya. Pada setiap n siklus PCR akan diperoleh 2^n kali banyaknya DNA target. Kunci utama pengembangan PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan *non-target* (Fatchiyah, 2011).

Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang yang meliputi tahap denaturasi, penempelan primer pada cetakan DNA (*annealing*) dan tahap pemanjangan primer melalui reaksi polimerisasi nukleotida (*extention*) oleh enzim *DNA polimerase* (Muladno, 2002). Sepasang primer oligonukleotida yang spesifik digunakan untuk membuat hibrid dengan ujung-5' menuju ujung-3' untai DNA target dan mengamplifikasi untuk urutan yang diinginkan (Fatchiyah, 2011).

2.6.1 Denaturasi

Denaturasi untai ganda DNA merupakan langkah yang kritis selama proses PCR. Temperatur yang tinggi pada awal proses menyebabkan pemisahan untai ganda DNA. Temperatur pada tahap denaturasi yaitu sekitar 92-95°C, suhu 94°C

merupakan pilihan standar. Temperatur denaturasi yang tinggi membutuhkan kandungan GC yang tinggi dari *DNA template*, tetapi *half-life* dari *Taq DNA Polymerase* menekan secara tajam pada temperatur sekitar 95°C.

2.6.2 Penempelan primer pada cetakan DNA (*Annealing*)

Tahap ini merupakan tahap penempelan primer pada untai DNA cetakan yang telah terdenaturasi menjadi untai tunggal akibat kecocokan pasangan basa. Umumnya penempelan terjadi pada suhu 55-57°C untuk primer 20 mer dan 34-40°C untuk primer 10 mer (Sambrook *et al.*, 2001).

Suhu annealing ditentukan oleh susunan primer. Optimalisasi suhu annealing dimulai dengan menghitung *melting temperature* (T_m) dari ikatan primer dan cetakan DNA, sedangkan suhu annealing yang ideal umumnya adalah 5°C di bawah suhu leleh (T_m) dari tiap primer. Rumus untuk mendapatkan *melting temperature* yang tepat adalah menggunakan rumus sederhana $T_m = \{ (G+C) \times 4 \} + \{ (A+T) \times 2 \}$, adapun rumus standar untuk menentukan T_m yaitu, $T_m = 81,5 + 16,6 \times (\log_{10} [Na^+]) + 0,41 \times 9\% G + C \text{ } 675/n$ (Fatchiyah, 2011).

2.6.3 Ekstensi (Pemanjangan primer DNA)

Pada tahap *extension* ini terjadi proses pemanjangan untai baru DNA, dimulai dari posisi primer yang telah menempel di urutan basa nukleotida DNA target akan bergerak dari ujung 5' menuju ujung 3' dari untai tunggal DNA. Proses pemanjangan atau pembacaan informasi DNA yang diinginkan sesuai dengan panjang urutan basa nukleotida yang ditargetkan. Pada setiap satu kilobase (1000bp) yang akan diamplifikasi memerlukan waktu 1 menit. Sedang bila kurang dari 500bp hanya 30 detik dan pada kisaran 500 tapi kurang dari 1kb perlu waktu

45 detik, namun apabila lebih dari 1kb akan memerlukan waktu 2 menit di setiap siklusnya. Adapun temperatur ekstensi berkisar antara 70-72°C (Fatchiyah, 2011).

Ketiga tahap di atas akan berulang beberapa kali sehingga proses amplifikasi DNA dapat terjadi. Untuk memudahkan proses reaksi berantai ini, maka reaksi dilakukan oleh mesin PCR. Mesin PCR terdiri dari suatu alat pemanas dan pendingin yang dapat diprogram sehingga dapat memanaskan pada suhu dan selang waktu yang dikehendaki untuk setiap siklus pada suatu reaksi. Banyaknya pengulangan sangat tergantung dari kemampuan DNA polimerase untuk mensintesis DNA dan biasanya berkisar antara 25 dan 40 siklus. Reaksi polimerisasi ini berantai atau berulang, maka dibutuhkan primer dalam jumlah relatif banyak. Efisiensi reaksi dapat dilakukan dengan perlakuan pra-PCR pada suhu 95°C selama 5 menit untuk mendenaturasi DNA cetakan yang ukurannya relatif besar. Setelah reaksi selesai, biasanya ditambahkan perlakuan pasca-PCR pada suhu 72°C selama 5 menit. Hasil amplifikasi dapat dilihat dengan melakukan migrasi di dalam gel (elektroforesis).

2.7 Primer

Polimerasi DNA (replikasi DNA) hanya dapat dimulai jika tersedia molekul primer, yaitu suatu molekul yang digunakan untuk mengawali proses polimerasi untai DNA (Yuwono, 2005). Fungsi primer adalah menyediakan ujung 3'-OH yang akan digunakan untuk menempelkan molekul DNA pertama dalam proses polimerasi (Yuwono, 2005). Dalam beberapa kasus replikasi DNA alami, primer untuk mensintesis DNA dan replikasi adalah rantai pendek pada RNA. Banyak teknik pada laboratorium biokimia dan biologi molekuler yang

melibatkan DNA polimerase, seperti *sequencing* DNA dan reaksi rantai polimerase (PCR) yang memerlukan primer DNA. Primer ini biasanya pendek, oligonukleotida disintesis secara kimia, dengan panjang sekitar 20 basa, dimana primer melakukan hibridisasi ke DNA target, yang kemudian disalin oleh polimerase (Stock *et.al.*,2009).

Primer disusun dari sintesis oligonukleotida sepanjang 15-32bp dan primer ini harus mampu mengenali urutan yang akan diamplifikasi. Untuk standar amplifikasi sepasang primer akan mempunyai kisaran pasangan basa sekitar 20 basa panjangnya pada tiap primernya. Kandungan GC harus antara 45-60%. Annealing temperatur antara primer yang digunakan harus berkisar antara 1°C. Ujung 3' dari setiap primer harus G atau C, akan tetapi hindari susunan nukleotida G/C berturut-turut tiga pada ujung ini, misal CCG, GCG, GGC, GGG, CCC, GCC. Pada penentuan atau penyusunan sepasang primer, penting diperhatikan urutan primer tidak saling komplementer sehingga membentuk *dimer-primers*, berikatan satu sama lain, atau membentuk *hairpins*. Hal lainnya hindari menyusun primer pada daerah DNA repetitive (Fatchiyah, 2011).

Dalam PCR, primer digunakan untuk menentukan fragmen DNA yang akan diperkuat oleh proses PCR. Panjang primer biasanya tidak lebih dari 30 (biasanya 18 hingga 24) nukleotida, dan harus mencocokkan awal dan akhir dari fragmen DNA yang akan diamplifikasi (Stock *et.al.*,2009).

Pasangan primer harus memiliki suhu leleh yang sama pada waktu *annealing* dalam PCR. Sebuah primer dengan T_m secara signifikan apabila memiliki suhu reaksi yang lebih tinggi daripada suhu *annealing*, hal ini dapat

menimbulkan adanya kesalahan hibridisasi dan akhirnya dapat memperpanjang di lokasi yang salah sepanjang urutan DNA, sedangkan bila T_m secara signifikan memiliki suhu lebih rendah dari suhu *annealing* maka dapat dimungkinkan adanya kegagalan *annealing* (Stock *et.al.*,2009).

