

## BAB II

### KAJIAN PUSTAKA

#### A. Kajian Teori

##### 1. Metabolisme Protein

Protein terdiri atas asam amino yang akan digunakan oleh tubuh untuk membentuk protein tubuh dan molekul yang mengandung nitrogen yang memungkinkan kehidupan. Setiap protein tubuh unik dalam karakteristik dan pola urutan amino asam yang membentuk strukturnya. Secara struktural, semua asam amino memiliki karbon sentral (C), setidaknya satu amino kelompok ( $-NH_2$ ), setidaknya satu kelompok karboksi (asam) ( $-COOH$ ), dan rantai samping (Kelompok R) yang membuat setiap asam amino unik.

Penyerapan asam amino terjadi di sepanjang usus kecil, tetapi sebagian besar asam amino terserap di duodenum dan jejunum bagian atas. Penyerapan asam amino ke dalam enterosit membutuhkan pembawa; namun, absorpsi paraseluler — yaitu, penyerapan melalui bagian yang ketat sambungan enterosit atau dengan endositosis transelular— dapat terjadi dalam situasi sesekali di mana volume besar cairan hipotonik yang mengandung beberapa asam amino. Penyerapan asam amino terjadi melalui beberapa mekanisme. Beberapa transporter, seperti  $y^+$ ,  $t$ ,  $asc$ ,  $bo$ ,  $+$ , dan  $xc^-$ , pasif dan berfungsi sebagai penukar atau uniporter. Operator lainnya aktif dan digerakkan oleh satu atau lebih transmembran gradien ion. Misalnya, dengan  $X^-$  AG transporter (antiporter), glutamat,  $H^+$ , dan

pertukaran tiga  $\text{Na}^+$  dengan satu  $\text{K}^+$ , dan dengan sistem pertukaran  $\text{N}$ , glutamin dan  $\text{Na}$  dengan  $\text{H}^+$ .

Afinitas ( $K_m$ ) pembawa asam amino dipengaruhi baik oleh massa hidrokarbon asam amino rantai samping dan dengan muatan listrik bersih dari asam amino. Asam amino rantai cabang biasanya diserap lebih cepat daripada asam amino yang lebih kecil. Asam amino netral juga cenderung diserap lebih tinggi dari asam amino dasar atau asam. Asam amino esensial diserap lebih cepat terutama metionin, leusin, isoleucine, dan valine menjadi yang paling cepat diserap. Asam amino yang paling lambat diserap adalah dua asam amino asam, glutamat dan aspartat (Gropper & Smith, 2013:179-233).

Asam amino agar dapat digunakan oleh tubuh, asam amino memasuki darah dan asam amino harus diangkut melewati membran basolateral (disebut juga serosal) dari enterosit dan ke dalam cairan interstisial, di mana mereka memasuki darah melalui kapiler vili untuk transportasi ke portal vena menuju hati dan jaringan lain. Pengangkut ditemukan di membran basolateral enterosit umumnya sama seperti yang ditemukan dalam membran sel nonepitel dari tubuh. Hampir semua protein yang dicerna, diserap oleh tubuh hanya 1% yang dibuang melalui feses (Mahan & Raymond, 2017:12-13).

Sebagian besar asam amino akan masuk ke dalam hati dan mengalami proses metabolisme lanjut kecuali BCAA. BCAA sebagian besar akan masuk kedalam otot rangka dan mengalami proses katabolisme. Hal ini

disebabkan karena enzim branched chain amino acid aminotransferase (BCAT) yang digunakan untuk mengkatabolisme BCAA terdapat di dalam otot. BCAT akan mengkatabolisme BCAA menjadi  $\alpha$ -ketoglutarate yang akan membentuk glutamat, leusin menjadi  $\alpha$ -ketoisocaproate (KIC), isoleusin menjadi  $\alpha$  keto -  $\beta$  methylvalerate (KMV) dan valin menjadi  $\alpha$ -ketoisovalerate (KIV). Glutamat akan bertindak sebagai sumber amino untuk pembentukan alanin (ALA) dari piruvat atau sebagai substrat untuk detoksifikasi ammonia an membentuk glutamin. Glutamin, alanin, KIC, KMV, KIV dari otot akan dilepaskan ke dalam aliran darah.

Enzim kedua yang berperan dalam metabolisme BCAA adalah branched chain  $\alpha$ -keto acid dehydrogenase (BCKD). Enzim tersebut terletak pada permukaan dalam membran dalam mitokondria dan berfungsi untuk mengkatalis KIC menjadi asetil CoA dan asetoasetat, KMV menjadi asetil CoA dan suksinil CoA, KIV menjadi suksinil CoA. Asetil CoA dan suksinil CoA akan masuk kedalam siklus Trikarboxylic acid (TCA) (Holeček, 2018; Nie, He, Zhang, Zhang, & Ma, 2018: 2-3).

## **2. Malondialdehyde (MDA) sebagai Biomarker Reactive Oxygen Species (ROS)**

Radikal bebas adalah molekul yang memiliki satu atau lebih elektron bebas pada orbit atom atau molekulnya. Elektron bebas menyebabkan senyawa ini tidak stabil dan reaktif. Radikal bebas terbentuk di dalam sel karena kehilangan atau mendapatkan satu elektron. *Reactive Oxygen Species* (ROS) adalah senyawa radikal yang mengandung oksigen dan

turunan oksigen yang bersifat reaktif. Senyawa radikal yang mengandung nitrogen disebut dengan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Radikal bebas yang paling sering ditemukan dalam sel adalah superoxide ( $O_2^-$ ) dan Nitric Oxide (NO) (Powers, Ji, Kavazis, & Jackson, 2011: 941-969).

Peroksidasi lipid adalah reaksi berantai yang terjadi selama stres oksidatif yang menghasilkan molekul propanedial dan 4-hydroxynonenal (HNE), dimana hasil tersebut terbentuk dari berbagai senyawa aktif yang dapat menghasilkan kerusakan seluler. Reaksi tersebut akan memicu radikal bebas untuk proses yang lebih lanjut. Secara toksisitas produk oksidatif, peroksida (LOOH) ditemukan lebih berbahaya daripada 4-hydroxynonenal (HNE) dan lebih dari itu malondialdehyde (MDA). MDA adalah metabolit utama asam arakidonat dan berfungsi sebagai biomarker andal untuk penekanan oksidatif. MDA bersifat mutagenik, tumorigenik dan tiga-karbondialdehid yang sangat reaktif diproduksi selama peroksidasi polyunsaturated fatty acid dan metabolisme asam arakidonat. MDA juga dihasilkan selama pemecahan prostaglandin endoperoksida (PGH<sub>2</sub>) menjadi 12-hydroxyheptadecatrienoate (HHT). Pada umumnya MDA merupakan molekul yang solid. MDA mengambil bagian dalam berbagai hal reaksi biologis di dalam sel termasuk ikatan kovalen protein, RNA dan DNA.

Pemantauan kadar MDA dapat digunakan sebagai indikator penting peroksidasi lipid baik in-vitro dan invivo untuk berbagai gangguan kesehatan. Pembentukan endogen MDA selama stres oksidatif intraseluler

dan reaksinya dengan DNA membentuk adisi MDADNA yang membuatnya menjadi biomarker penting dari kerusakan DNA endogen. Pengukuran MDA dalam plasma darah merupakan salah satu metode yang digunakan memprediksi tingkat stres oksidatif. MDA termasuk dalam kategori Thiobarbituric Acid Reactive Substansi (TBARS) dan yang selanjutnya adalah indeks peroksidasi lipid. Berbagai teknik digunakan untuk mengukur kadar MDA dalam sampel yang berbeda termasuk serum, plasma atau jaringan (Singh, Karthigesu, Singh, & Kaur, 2014 : 7-8)

ROS dan RNS ditemukan dalam sel tubuh dalam beberapa bentuk yaitu superoxide, hidrogen peroksida, hidroksil, singlet oksigen, nitric oxide, peroxy nitrite dan hyperchlorite. Superoxide bermuatan negatif dan tidak dapat menembus membran sel, akan tetapi bentuk terprotonisasinya yaitu hydroperoxyl dapat menembus membran sel. Sel inflamasi menghasilkan superoxide dalam jumlah besar sebagai usaha untuk melindungi sel. Superoxide bereaksi sangat cepat dengan Nitric oxide (NO) dan kluster iron-sulfur dalam protein. Superoxide dapat mereduksi beberapa material biologi (mis. Sitokrom c) dan mengoksidasi material biologi lain seperti askorbat. Dismutasi superoxide dilakukan oleh superoxide dismutase (SOD) yang menghasilkan hidrogen peroxide. Hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) adalah senyawa ROS non radikal yang dapat menghasilkan radikal bebasa seperti hidroksil. Senyawa ini bersifat strabil dan mampu menembus membran sel. Hidrogen peroksida dihasilkan oleh SOD dan amino acid oxidase. Dalam jumlah besar senyawa ini bersifat

sitotoksik dan mampu menginaktivkan beberapa enzim. Hidroksil bersifat sangat reaktif dan merupakan agen oksidasi yang kuat, sehingga senyawa ini mampu merusak molekul yang dekat dengan tempat produksinya. Singlet oxygen adalah ROS yang mampu berdifusi dan menembus membran sel. Senyawa ini tidak bersifat radikal namun merupakan agen oksidasi yang kuat (Reid, 2016 : 941-944).

Nitric oxide (NO) disintesis dari asam amino L – arginin. Senyawa ini disintesis oleh nitric oxide sintase. NO dapat terikat pada metal transisi. NO dapat terikat pada ion ferro dalam siklus guanil dan menyebabkan pembentukan siklus GMP. Proses ini merupakan mekanisme penting dalam inaktivasi NO dan pengikatan Fe ke hemoglobin. NO bereaksi sangat cepat dengan superoxide untuk membentuk peroxy nitrite. Peroxy nitrite merupakan agen oksidasi kuat yang dapat mendepleksi thiol, menimbulkan kerusakan DNA dan nitrasasi protein ( Powers, Ji, Kavazis, & Jackson., 2011; Valko, Leibfritz, Moncol, 2007: 44-84).

Pada otot rangka ROS dapat dihasilkan dari mitokondria, NADPH oksidase, xanthine oksidase, phospholipase A2. Mitokondria menghasilkan superoxide dalam proses rantai trasnpor elektron terutama kompleks I dan III. Pada komplek I sumber elektron utama adalah kluster iron-sulphur sedangkan pada komplek III adalah Q<sub>10</sub> semiquinone. Komplek III menghasilkan superoxide di dalam membran dan matriks mitokondria. Mitokondria menghasilkan 0,15% superoxide, karena adanya UCP3. NADPH oksidase (NOX) adalah enzim flavoprotein yang diaktivasi

kalsium, asam lemak bebas, dan interaksi protein dan modifikasi posttranslational. NOX menggunakan NADPH sebagai donor elektron. NADPH adalah protein transmembran yang terdapat dalam tranverse tubule dan sarcoplasmic reticulum. NADPH merupakan transport elektron yang melalui membran biologi yang mereduksi oksigen menjadi superoxide dan hidrogen peroksida. NOX menghasilkan superoxide lebih banyak daripada mitokondria. ROS yang dihasilkan NOX mengaktifkan reseptor ryanodine (RyR) yang menyebabkan pelepasan Ca intraselluler. Proses ini dimediasi oleh reseptor inositol triphosphat (IP<sub>3</sub>). Xanthine oksidase (XO) adalah enzim yang mengkatalasi perubahan hypoxanthine menjadi xanthine dan xanthine menjadi asam urat. Pada otot XO terdapat pada sitosol dan sel endotelia. Saat kontraksi aktivitas XO meningkat dan meningkatkan peroksidasi lipid, oksidasi protein, kerusakan otot dan oedema. Selama latihan fisik intense yang menggunakan banyak ATP, kadar hypoxanthine dan xanthine akan meningkat sehingga menyebabkan produksi ROS oleh XO juga meningkat. Enzim phospholipase A2 memecah asam arachidonic dari fosfolipid dalam membran plasma, sarcoplasmic reticulum atau membran mitokondria. Asam arachidonic adalah substrat lipoxygenases dalam produksi ROS (Powers, Nelson, & Hudson, 2011; Steinbacher & Eckl, 2015: 356-377).

Peningkatan aktivitas otot dan temperatur dapat meningkatkan produksi ROS di dalam otot. Beberapa penelitian menunjukkan adanya hubungan antara ROS dan kelelahan otot. Penelitian tersebut

memperlihatkan bahwa peningkatan antioksidan dapat memperlambat proses kelelahan otot. ROS dapat menyebabkan kelelahan melalui 3 mekanisme. Mekanisme pertama ROS dapat menurunkan *maximum Ca<sup>2+</sup> activated force*. Mekanisme kedua ROS menurunkan sensitivitas Ca<sup>2+</sup> dan yang terakhir mempengaruhi pelepasan Ca oleh sarcoplasmic reticulum (Allen, Lamb, & Westerblad, 2008 : 307 ; Knicker, Renshaw, Oldham, & Cairns, 2011 : 321-322 ; Reid, 2016: 288).

### **3. Antioksidan**

Antioksidan adalah substansi yang menunda dan mencegah oksidasi substrat. Antioksidan mencegah kerusakan sel yang disebabkan oleh peningkatan produksi ROS. Sel memiliki 2 jenis antioksidan yaitu antioksidan enzimatik dan non enzimatik. Antioksidan enzimatik berupa superoxide dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPX), Catalase (CAT) dan enzim ancillary antioksidan. antioksidan non enzimatik berupa glutathione, asam urat, bilirubin dan Coenzym Q10 (Powers, Ji, et al., 2011: 950).

*Superoxide dismutase* (SOD) melindungi sel dari superoxide dengan mengubahnya menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Terdapat tiga jenis SOD. SOD 1 terletak di sitosol dan ruangan intramembran mitokondria dan memerlukan copper dan zinc sebagai kofaktor. SOD 2 menggunakan mangan sebagai kofaktor dan terletak pada matrix mitokondria. SOD 3 menggunakan zinc dan copper sebagai kofaktor dan terletak pada ruangan ekstraseluler. *Glutathione peroksidase* (GPX) mengkatalisasi reduksi



hidrogen peroksida dan hydroperoxide organik menjadi air dan alkohol. Enzim ini membutuhkan 2 molekul glutathione dalam proses tersebut. Glutathione akan dioksidasi menjadi *glutathione disulfide* (GSSG). GSSG dapat direduksi kembali menjadi GSH di dalam sel dengan menggunakan enzim glutathione reduktase dan NADPH. Catalase (CAT) adalah enzim yang mengkatalisasi pemecahan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Enzim ini menggunakan besi sebagai kofaktor. CAT memiliki afinitas yang lebih rendah terhadap hidrogen peroksida dibandingkan GPX. Selain enzim tersebut didalam sel terdapat enzim TRX dan GPX . TRX berfungsi menjaga protein dalam bentuk tereduksinya. GRX berfungsi melindungi dan memperbaiki thiol selama stress oksidatif. (Powers, Powers, Ji, Kavazis, & Jackson., 2011 : 943-947; Valko, Leibfritz, Moncol, Cronin, Mazur, & Telser., 2007 : 50-51 ).

Sel tubuh memiliki berbagai jenis antioksidan non enzimatik. Glutathione (GSH) adalah antioksidan non enzimatik yang paling penting di dalam sel. GSH bekerja melalui beberapa mekanisme. Mekanisme pertama adalah GSH dapat bereaksi dengan sejumlah ROS dengan menyumbangkan ion hidrogen. Mekanisme kedua GSH merupakan substrat yang digunakan GPX untuk mengeliminasi hidrogen peroksida dan hidroperoksida. Mekanisme ketiga GSH mereduksi antioksidan lain di dalam sel. Asam urat merupakan hasil metabolisme purin. Pada kondisi normal asam urat akan diubah menjadi urate. Asam urat dapat memecah radikal peroksil, hidroksil dan singlet oksigen. Urate berperan sebagai

donor elektron untuk mencegah kerusakan oksidatif dan mampu mengikat ion zat besi dan tembaga agar tidak menghasilkan radikal hidroksil pada reaksi fenton. Bilirubin adalah produk akhir dari pemecahan protein heme. Bilirubin dapat melindungi tubuh dari radikal peroksil dan hidrogen peroksida. Koenzim Q10 disintesis di sel dan dapat memecahradikal  $RO_2^-$  dan mencegah adanya peroksidasi lipid ( Powers, Ji, Kavazis, & Jackson 2011 : 51).

BCAA memiliki berbagai fungsi kesehatan bagi tubuh salah satunya adalah memperpanjang waktu hidup pada mamalia terutama tikus. Suplementasi BCAA pada tikus dapat meningkatkan ketahanan fisik dan menurunkan produksi ROS melalui peningkatan produksi SOD, CAT dan GPX (D'Antona, Ragni, Cardile, Tedesco, Dossena, Bruttini, & Nisoli 2010 : 364).

#### **4. Blood Urea Nitrogen (BUN)**

Hasil sampingan dari metabolisme protein dan pergantian protein dalam jaringan tubuh adalah urea. Urea bebas diserap oleh tubulus ginjal, dan melalui ginjal urea diekskresikan bersama urin agar tidak mengganggu fungsi tubuh. Urea dapat menjadi toksin bagi tubuh yang terjadi pada beberapa jaringan, seperti halnya pada epitel usus, dinding pembuluh darah, sel-sel pankreas dan adipost. Efek tidak langsung kadar urea yang tinggi di dalam tubuh terjadi melalui reaksi karbamilasi protein. Melalui karbamilasi protein menyebabkan urea memicu terjadinya *posttranslational modifying (PTM)* yang dapat menyebabkan penuaan,

peradangan dan gangguan fungsi ginjal. (Uchino, Bellomo, & Goldsmith, 2012 : 2; Gary, Pichler, Schilcher, Hafner, Hackl, Rief Eller, & Brodmann, 2015 : 1; Lindenfeld, J. & Schrier, 2011 : 383 ; Verbrugge, F. Tang, and Hazen 2015 : 6)

Siklus urea pada dasarnya merupakan cara tubuh mengubah amonia beracun menjadi urea. Amonia hasil dari katabolisme protein baik dalam keadaan normal maupun pada keadaan tubuh mengalami situasi tertentu seperti halnya kelaparan. Produksi amonia juga dapat ditemukan pada mikrobiota usus, yaitu mikroorganisme yang hidup di saluran pencernaan manusia. Pada jaringan otot dan sistem saraf tipe (perifer), asam amino bebas diterima oleh asam amino *glutamat* untuk menghasilkan glutamin dan digunakan oleh hati. Glutaminase memecah glutamin menjadi glutamat dan amonia. Glutamat juga menghasilkan urea tambahan melalui enzim glutamat dehidrogenase. Dari sini, amonia awalnya dimasukkan ke dalam mitokondria hepatosit dan akhirnya menghasilkan pembentukan urea. Urea kemudian meninggalkan sitoplasma hepatosit dan akhirnya diekskresikan dalam urin. ( Barmore W & Stone WL. 2019 : 4)

Siklus urea ditemukan oleh Sir Hans Krebs, berfungsi di hati dan sangat penting untuk menghilangkan ion amonia dan amonium dari tubuh. Lima reaksi dari siklus urea dipecahkan daftar reaksi berikut:

- a. Amonia ( $\text{NH}_3$ ) (atau ion amonium) bergabung dengan  $\text{CO}_2$  (atau  $\text{HCO}_3^-$ ) untuk membentuk karbamoil fosfat dalam reaksi yang

dikatalisasi oleh karbamoil mitokondria fosfat sintetase I (CPSI) dan menggunakan 2 mol ATP dan  $Mg^{2+}$ . N-acetyl-glutamate (NAG), dibuat di hati dan usus, diperlukan sebagai aktivator alosterik untuk memungkinkan pengikatan ATP.

- b. Carbamoyl fosfat bereaksi dengan ornithine di dalam mitokondria, menggunakan enzim transcarbamoylase ornithine (OTC), untuk membentuk citrulline. Citrulline bergantian menghambat aktivitas OTC.
- c. Aspartate bereaksi dengan citrulline setelah diangkut ke dalam sitosol. Langkah ini, dikatalisasi oleh argininosuccinate sintetase, adalah langkah yang membatasi laju dari siklus. ATP (dua obligasi berenergi tinggi) dan  $Mg^{2+}$  diperlukan untuk reaksi, dan argininosuccinat terbentuk. Argininosuccinate, arginine, dan AMP + PPi menghambat enzim.
- d. Argininosuccinate dibelah oleh argininosuccinase di sitosol untuk membentuk fumarat dan arginin. Keduanya fumarat dan arginin menghambat aktivitas argininosuccinase. Argininosuccinase ditemukan dalam berbagai jaringan di seluruh tubuh, terutama hati dan ginjal. Konsentrasi tinggi arginin meningkatkan sintesis N-acetylglutamate (NAG), yang diperlukan dalam reaksi untuk sintesis dari karbamoil fosfat dalam mitokondria.
- e. Urea terbentuk dan ornithine terbentuk kembali dari pembelahan arginin oleh arginase, suatu mangan yang membutuhkan enzim hati.

Aktivitas arginase dihambat oleh keduanya ornithine dan lysine, dan dapat menjadi pembatas laju dalam kondisi yang membatasi ketersediaan mangan atau yang mengubah afinitasnya untuk mangan ( Gropper & Smith, 2013 : 194-202).

Nitrogen berasal dari asupan protein yang diperlukan untuk sintesis protein dan pemeliharaan otot. Nitrogen digunakan juga dalam pembentukan urea dan amonia ( $\text{NH}_3$  &  $\text{NH}_4$ ) akan diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk urin. Metabolisme urea dan amonia pada ginjal memiliki peran penting dalam keseimbangan nitrogen, konsentrasi urin, dan homeostasis asam-basa, serta digunakan untuk mengevaluasi masalah pada pasien dengan gangguan ginjal. (Weiner , Mitch, & Sands 2015: 1444, 1456)

*Nitrogen urea darah (BUN)* merupakan tes yang sering digunakan mengukur tingkat urea dalam darah untuk mengetahui kerja ginjal. Kisaran BUN normalnya adalah 8 sampai 20 mg / dL. Pada pasien dengan disfungsi ginjal atau diet tinggi protein, orang dapat mengharapkan BUN meningkat. Pada pasien dengan penyakit hati atau defisiensi siklus urea, orang dapat mengharapkan BUN berkurang. Penting untuk mencatat gambaran klinis pasien sebelum berasumsi pasien mungkin memiliki disfungsi ginjal atau hati. (Barmore W & Stone WL. 2019 : 4)

Rasio BUN dan kreatinin dapat digunakan sebagai acuan tahapan penyakit ginjal akut. Tahapan penyakit ginjal akut dikelompokkan menjadi 3 tahap, yaitu pra-ginjal, intra-ginjal, dan pasca ginjal. Rasio BUN/kreatinin

digunakan untuk mengetahui tahap awal dengan ambang batas 20. (Uchino, S., Bellomo, R., & Goldsmith, D. 2012 : 1). BUN sebagai Biomarkers asupan protein saat ini dapat digunakan untuk mengetahui asupan protein pada bayi. Sehingga mengetahui perlu tidaknya tambahan asupan protein yang dibutuhkan bayi. (Singla, Tan, Bolisetty, & Lui. 2017 : 92).

## **5. Kreatinin**

Kreatinin adalah produk akhir dari pemecahan kreatin fosfat didalam otot. Kreatin fosfat berfungsi untuk menyediakan energi bagi otot dengan menjadi donor fosfat untuk ADP dan membentuk kembali ATP. Kreatinin yang dihasilkan oleh otot akan masuk ke dalam darah dan dibuang melalui ginjal ( Gropper & Smith, 2013 : 201).

Kreatinin merupakan produk limbah dari non protein nitrogen (NPN). Kreatinin paling banyak diproduksi di otot yang sintesisnya terjadi di hati, pankreas, dan ginjal. Sirkulasi kreatin ke seluruh tubuh dan diubah menjadi fosfokreatin oleh proses fosforilasi. Kadar kreatinin tidak dipengaruhi terlalu banyak oleh asupan makanan, sehingga cocok sebagai indikator fungsi ginjal. Tingkat konsentrasi kreatinin dalam darah dan urin mampu menggambarkan laju filtrasi glomerulus (GFR). Kadar kreatinin dapat diukur menggunakan serum, plasma atau spesimen urin (Salazar, Jose. H. 2014 : 19)

Kadar kreatinin di dalam darah akan relatif konstan selama masa otot konstan. Tingginya kadar kreatinin di dalam darah merupakan suatu

indikasi adanya kerusakan pada ginjal. Kreatinin dan BUN digunakan sebagai prediktor adanya kerusakan pada fungsi ginjal. Ratio normal BUN : kreatinin adalah 6 : 1 – 20: 1 (Mahan & Raymond, 2017).

## **6. Hewan Coba**

Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) juga dikenal sebagai tikus Norwegia merupakan tikus yang sering digunakan dalam penelitian eksperimental karena mempunyai persamaan dalam organisasi DNA, sistem reproduksi, sistem syaraf, penyakit dan tingkat kecemasan sehingga dapat dipakai untuk membantu pengembangan kemajuan pengobatan pada manusia. Tikus putih galur ini bertumbuh panjang mempunyai kepala yang lebih sempit, mata berwarna merah cerah dan ekornya yang panjang dan mempunyai pertumbuhan yang cepat (Kementerian Peternakan, 2016 : 25-29 ).

Tikus putih (*Rattus norvegicus* ) umumnya lebih agresif, dan lebih tahan terhadap berbagai penyakit. Galur yang sering digunakan dalam penelitian adalah Sprague-Dawley dan Wistar. Tikus jenis ini sering digunakan dalam penelitian biomedis. Pertama kali tikus wistar dikembangkan pada tahun 1906 di Wistar Institute (philadelphia), hingga kini perkembang biakan wistar terus dilakukan untuk berbagai jenis tujuan. ( Fitria, L & Sarto, M. 2014 : 94)

Penanganan tikus dalam kandang tergolong mudah, dapat hidup bersama-sama dengan kelompok. Perubahan suhu ruangan pada tikus hendaknya dijaga antara 19 ° C sampai 23 ° C dengan tingkat kelembaban

40-70%, walaupun pada dasarnya tikus tidak terlalu sensitif terhadap perubahan suhu. Periode cahaya 12 jam cukup untuk tikus tetapi, karena nokturnal, cahaya terang mengganggu, terutama untuk tikus albino, dan menyebabkan degenerasi retina. Tikus dianggap remaja dimuali dari usia pubertas 50-60 hari, dan usia tikus dewasa kira-kira 3 bulan ( wolfenson & Lloyd. 2003 : 241-243)

## **7. Forced Swimming Test**

Pada awal *forced swimming test* hewan uji akan mencoba melarikan diri namun pada akhirnya akan menunjukkan immobility. Immobility merupakan tanda tanda dimana hewan uji sudah mengalami kelelahan dengan indikator hewan tersebut akan mengambang dan tidak menunjukkan gerakan apapun kecuali hanya gerakan yang diperlukan agar hidung tetap berada diatas air. ( Can, Dao, Arad, Terrillion, Diantadosi, Gould, & 2012 : 2-4 ).

Tes Kelelahan yang akan dilakukan merupakan sedikit modifikasi dari *forced swimming test*. Salah satu perbedaan pada tes kelelahan dengan renang terdapat bebabn 5% dari berat tubuh tikus. Kelelahan pada tikus dilihat dengan munculnya tanda seperti tikus sudah hampir tenggelam karena tidak mampu muncul kepermukaan air untuk melawan beban selama 7 detik. Setelah berenang tikus dikeringkan dengan handuk dan segera kurang lebih 5 meni-7 menit dilakukan pembedahan dan diambil darahnya pada jantnung tikud( Chen, Huang, Chiu, & Chang, 2013 : 1518).



## B. Kajian Penelitian Yang Relevan

Beberapa penelitian yang relevan dengan penelitian ini akan disajikan pada tabel berikut :

**Tabel 1. Penelitian yang relevan**

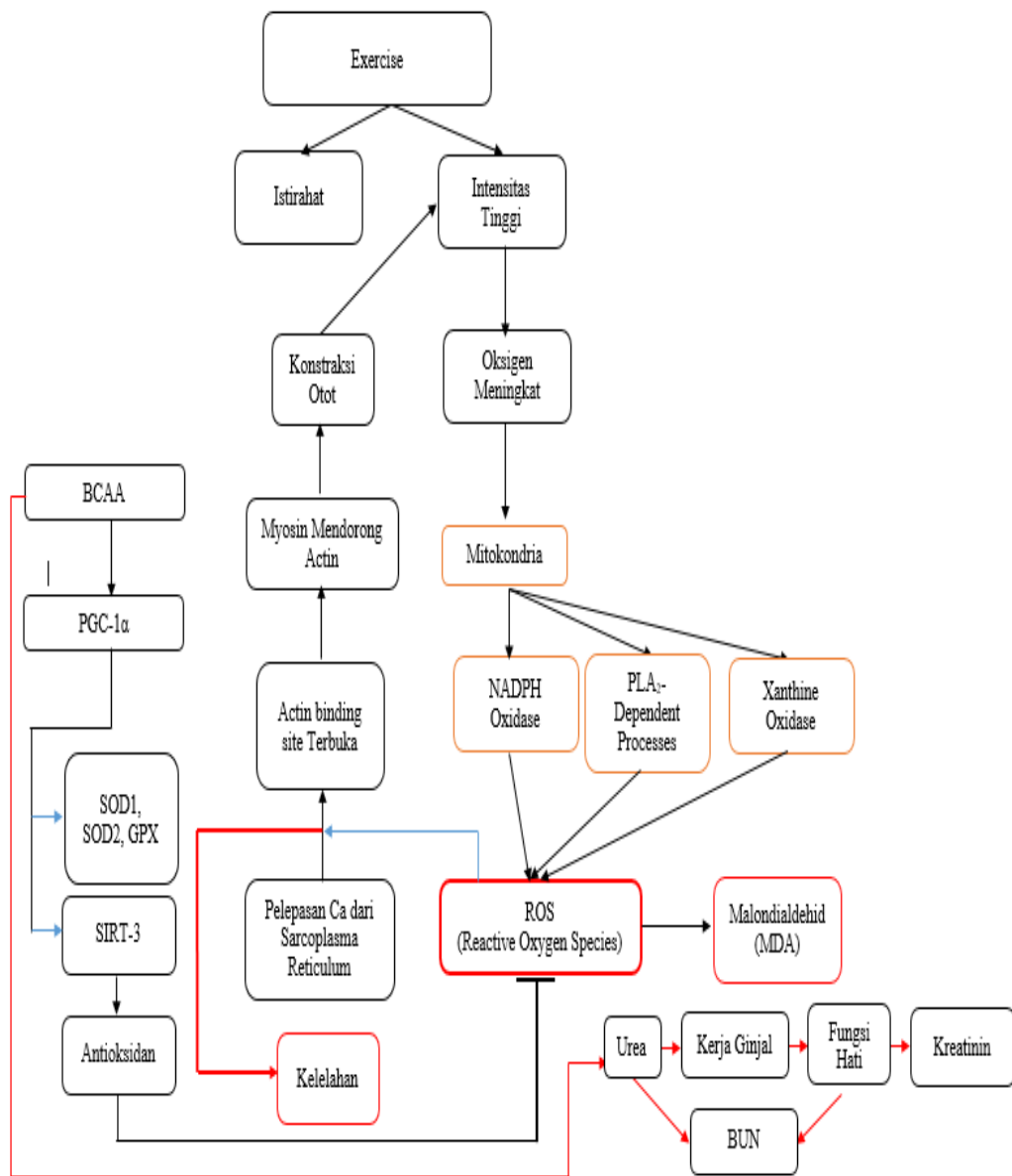
No	Nama	Tahun	Judul	Hasil	Perbedaan
1	D. G Allen G.D lamb H Westerblad	2008	Skeletal Muscle Fatigue: Cellular Mechanism	ROS pada otot rangka dapat meimbulkan kelelahan	Penelitian ini melihat pengaruh pemberian BCAA terhadap kadar MDA.
2	Cunxi Nie, Ting Hie, Wenju Zhang, Gualong Zhang, Xi Ma	2018	Branched Chain Amino Acids: Beyond Nutrition metabolism	BCAA merupakan biomarker untuk beberapa penyakit seperti resistensi insulin, diabetes dan penyakit kardiovaskuler	Penelitian ini melihat pengaruh pemberian BCAA terhadap kadar MDA, BUN dan Kreatinin
3	Giuseppe D'Antona, Maurizio Ragni, Annalisa Cardile, et al.	2010	Branched-Chain Amino Acid Supplementation Promotes Survival and Supports Cardiac and	Pemberian suplemen BCAA mampu mereduksi produksi ROS sehingga mampu	Penggunaan suplemen BCAA dengan dosis kurang, standar, dan dosis yang lebih dengan menggunakan metode <i>forced</i>

			Skeletal Muscle Mitochondrial Biogenesis in Middle-Aged Mice	menambah harapan hidup tikus	<i>swimming test</i> serta perbandingan BUN dan kreatinin.
4	Motoh Iwasa <sup>1*</sup> , Yoshinao Kobayashi <sup>1,2.</sup> , Rumi Mifuji-Moroka <sup>1</sup> , Nagisa Hara <sup>3</sup> , Hirohide Miyachi <sup>1</sup> , Ryosuke Sugimoto <sup>1</sup> , Hideaki Tanaka <sup>1</sup> , Naoki Fujita <sup>1</sup> , Esteban C. Gabazza <sup>4</sup> , Yoshiyuki Takei <sup>1</sup>	2013	Branched-Chain Amino Acid Supplementation Reduces Oxidative Stress and Prolongs Survival in Rats with Advanced Liver Cirrhosis	Kelangsungan hidup yang lama karena suplementasi BCAA dikaitkan dengan pengurangan kandungan zat besi, produksi spesies oksigen reaktif dan fibrosis yang dilemahkan di hati	Penelitian ini menggunakan tikus jantan

### C. Kerangka Pikir

Penggunaan otot secara intens akan menyebabkan penurunan kerja otot yang akan mengurangi kecepatan eksitasi-kontraksi (EC) pada otot yang sering disebut dengan kelelahan otot. Kelelahan otot salah satu satunya disebabkan oleh produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang meningkat. ROS yang menjadi bagian Peningkatan Produksi ROS sejalan dengan meningkatnya aktivitas otot melalui jalur Oksidasi NADPH, PLA2 dependent processes, dan oksidasi xanthine. ROS yang berlebihan didalam jaringan otot menghambat pelepasan Kalsium (Ca) pada retikulum sarkoplasma yang pada akhirnya akan meningkatkan potensi kelelahan. Malondialdehyde sebagai bio-indikator Pemantauan kadar MDA dalam sistem biologis yang berbeda dapat digunakan sebagai indikator penting peroksidasi lipid baik in-vitro dan invivo untuk berbagai gangguan kesehatan, termasuk kelelahan. Penghambatan produksi ROS perlu dilakukan untuk mengurangi kelelahan yang berarti, terlebih untuk atlet yang berorientasi dalam pencapaian prestasi. Berbagai penghambat/pengikat ROS yang terbukti menghambat kelelahan antara lain superoxide dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GPX), Catalase (CAT). ROS yang masuk kedalam golongan oksidan diperlukan antioksidan untuk menghambatnya. Atlet dengan kompetisi yang mengandalkan ketahanan fisik dan aktivitas yang tinggi perlu suplemen yang dapat membantunya dalam mencegah kelelahan yang berarti, sehingga dapat meraih prestasi yang yang maksimal ( Allen, Lamb, & Westerblad, 2008 : 288-309)

Suplemen dipilih oleh atlet untuk melengkapi asupan gizi salah satunya karena kandungannya yang dapat disesuaikan. Suplemen BCAA (*Branched Chain Amino Acid*) merupakan suplemen dengan kandungan rangkaian asam amino yang terdiri dari *leucine*, *valine* dan *isoleucine*. Upaya dalam mencegah kelelahan, diperlukan suplemen yang dapat meningkatkan antioksidan. Suplemen BCAA dapat menghasilkan antioksidan dimana metabolisme BCAA di dalam otot dapat meningkatkan ekspresi PGC-1 $\alpha$ . Peningkatan produksi PGC-1 $\alpha$  akan dapat meningkatkan ekspresi SOD1, SOD2, GPX, dan SIRT-3, yang merupakan antioksidan yang diperlukan tubuh untuk menetralkan ROS. Pada umumnya metabolisme protein, mempunyai hasil sampingan yaitu menghasilkan urea yang dibuang melalui urin di ginjal. Suplemen BCAA merupakan asam amino yang termasuk ke dalam protein, sehingga dikhawatirkan peningkatan konsumsi BCAA dapat meningkatkan urea yang akan memperberat kerja ginjal. Penelitian peran konsumsi suplemen BCAA dalam menghambat produksi ROS perlu dilakukan. Tes BUN dan Kreatinin perlu dilakukan untuk mengetahui efek kesehatan hati dan ginjal terhadap konsumsi suplemen BCAA.



**Gambar 1. Kerangka Berpikir**

#### **D. Hipotesa Penelitian**

Berdasarkan kerangka berpikir yang dibangun oleh kajian teori dan penelitian yang relevan, dapat dikemukakan hipotesis penelitian ini adalah:

1. Pemberian BCAA berpengaruh terhadap kadar MDA di dalam darah
2. Pemberian BCAA berpengaruh terhadap kadar BUN.

3. Pemberian BCAA berpengaruh terhadap kadar Kreatinin di dalam darah