

**UJI EFEK PROTEKTIF VIRGIN COCONUT OIL DAN EXTRA  
VIRGIN OLIVE OIL SERTA KOMBINASINYA DALAM  
MENGURANGI KARDIOTOKSISITAS AKIBAT  
DOKSORUBISIN PADA TIKUS**

*PROTECTIVE EFFECT OF VIRGIN COCONUT OIL AND EXTRA VIRGIN  
OLIVE OIL AND THEIR MIXTURE IN REDUCING CARDIOTOXICITY  
DUE TO DOXORUBICIN IN RATS*

**ANDI ULFIANA UTARI**



**S2 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**TESIS**

**UJI EFEK PROTEKTIF VIRGIN COCONUT OIL DAN EXTRA  
VIRGIN OLIVE OIL SERTA KOMBINASINYA DALAM  
MENGURANGI KARDIOTOKSISITAS AKIBAT  
DOKSORUBISIN PADA TIKUS**

Disusun dan diajukan oleh

(ANDI ULFIANA UTARI)

(N012181011)



**S2 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**UJI EFEK PROTEKTIF VIRGIN COCONUT OIL DAN EXTRA  
VIRGIN OLIVE OIL SERTA KOMBINASINYA DALAM  
MENGURANGI KARDIOTOKSISITAS AKIBAT  
DOKSORUBISIN PADA TIKUS**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

ANDI ULFIANA UTARI

Kepada

**S2 FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

### UJI EFEK PROTEKTIF VIRGIN COCONUT OIL DAN EXTRA VIRGIN OLIVE OIL SERTA KOMBINASINYA DALAM MENGURANGI KARDIOTOKSISITAS AKIBAT DOKSORUBISIN PADA TIKUS

Disusun dan diajukan oleh

(ANDI ULFIANA UTARI)  
(N012181011)

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas

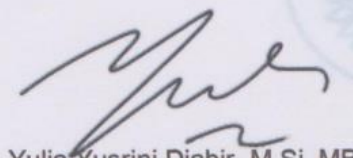
Hasanuddin

pada tanggal 27 Juli 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

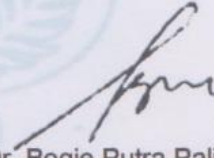
Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping



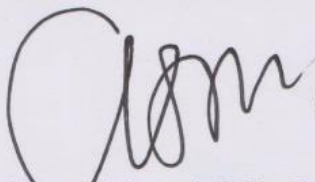
Yulia Yusrini Djabir, M.Si, MBM.Sc, Ph.D., Apt.  
Nip. 19780728 200212 2 003



Dr. Bogie Putra Palinggi, Sp.Jp.  
Nip. 19861028 201903 1 009

Ketua Program Studi Magister  
Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi

Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin,



Muhammed Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt.  
Nip.19800101 200312 1 004



Prof. Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
Nip. 19750925 200112 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Andi Ulfiana Utari  
NIM : N012181011  
Program Studi : Farmasi  
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

(Uji Efek Protektif Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil Serta  
Kombinasinya Dalam Mengurangi Kardiotoksisitas Akibat Dokсорubisin  
Pada Tikus)

Adalah karya tulisan saya sendiri bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa tesis yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 3 Agustus 2021

Yang menyatakan



(Andi Ulfiana Utari)

## PRAKATA

*Bismillahirrohmanirrohim*, Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah *subhanahu wa ta'ala* yang telah memberikan limpahan berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagai salah satu syarat dalam penyelesaian studi pada program Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam rangka penyusunan tesis ini, penulis mengalami beberapa kendala sehingga memicu keterlambatan dalam menyelesaikan penelitian. Namun, dengan adanya berkat doa, bantuan dan semangat dari berbagai pihak sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dengan tersusunnya tesis ini, perkenankanlah penulis menyampaikan rasa terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Yth. Ibu Yulia Yusrini Djabir, M.Si, MBM.Sc, Ph.D, Apt. selaku Ketua Komisi Penasehat dan Bapak dr. Bogie Palinggi, Sp.JP selaku Anggota Penasehat atas segala bantuan dan bimbingan mulai dari perencanaan dan pelaksanaan penelitian hingga mengarahkan, memotivasi penulis serta meluangkan waktu dan pikiran sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada anggota Komisi Penguji Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt., Bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, MS., Apt., dan Ibu Yusnita Rifai, S.si., M.Pharm, Ph.D. Apt. yang telah memberikan masukan, koreksi dan saran dalam penyusunan tesis ini. Tak lupa juga penulis berterima kasih kepada

Dekan/Wakil Dekan, Ketua Prodi Magister Farmasi dan Staf Dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.

Ucapan terima kasih terutama penulis tuturkan kepada yang teristimewa kedua orang tua, suami, dan keluarga penulis yang telah mendoakan, memberikan dukungan moril dan materi selama masa studi hingga terselesaikannya tesis ini.

Terakhir penulis ucapkan terima kasih kepada rekan penelitian dan rekan-rekan Magister Farmasi angkatan 2018 yang telah memberikan semangat dan pengalaman yang luar biasa selama masa studi dan semua pihak yang namanya tidak tercantum tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Makassar, 22 Juli 2021

Andi Ulfiana Utari

## ABSTRAK

ANDI ULFIANA UTARI. Uji Efek Protektif Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil Serta Kombinasinya Dalam Mengurangi Kardiotoksisitas Akibat Doksorubisin Pada Tikus.

Doksorubisin (DOX) merupakan agen kemoterapi yang telah banyak digunakan untuk pengobatan kanker. Penggunaan agen kemoterapi DOX dapat memicu radikal bebas pada proses metabolisme sehingga dapat menyebabkan toksisitas pada jantung. Virgin Coconut Oil (VCO) dan Extra Virgin Olive Oil (EVOO) memiliki senyawa antioksidan yang diasumsikan dapat mengurangi kardiotoksisitas akibat DOX. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek protektif dari VCO dan EVOO dan kombinasinya dalam mengurangi toksisitas yang diakibatkan DOX. Dua puluh lima tikus jantan (180-200 g) dimasukkan dalam kelompok berikut: Kelompok 1 sebagai kontrol, kelompok II diberi DOX i.p injeksi 25mg/KgBB, kelompok III diberikan VCO 10ml/KgBB, kelompok IV diberikan EVOO 10ml/KgBB serta kelompok V diberikan kombinasi VCO dan EVOO (1:1) 10ml/KgBB secara oral selama 6 hari sebelum diberikan DOX i.p injeksi. Setelah 24 jam, darah dan organ dianalisis untuk mengetahui kadar biomarker dan perubahan histopatologi. Biomarker kerusakan jantung yang digunakan dalam penelitian ini adalah SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), LDH (*Lactate Dehidrogenase*), dan CK-MB (*Creatine Kinase Isoenzyme MB*). Kombinasi VCO dan EVOO lebih efektif dibandingkan sediaan tunggalnya untuk mencegah peningkatan SGOT,



LDH, dan CK-MB secara drastis pada tikus yang diinduksi DOX. Analisis histopatologi juga menunjukkan perbaikan struktur jaringan sel otot jantung dengan penggunaan kombinasi VCO dan EVOO.

**Kata Kunci** : Doksorubisin, toksisitas jantung, VCO, EVOO

## ABSTRACT

ANDI ULFIANA UTARI. Protective Effect of Virgin Coconut Oil, Extra Virgin Olive Oil, and Their Combination in Reducing Doxorubicin Induced Cardiotoxicity in Rats (*Rattus norvegicus*)

Doxorubicin (DOX) is a potent chemotherapy agent that has been widely used for the treatment of cancer. DOX was reported to trigger the formation of free radicals that may lead to heart toxicity. Virgin Coconut Oil (VCO) and Extra Virgin Olive Oil (EVOO) have antioxidant activities that may potentially reduce DOX induced cardiotoxicity. This study aimed to examine the protective effects of VCO, EVOO, and their combination to reduce DOX related acute toxicities. Twenty-five male rats (180-200 g) were divided to five groups as follows: group I was a control group; group II was intra peritoneally (i.p) injected with DOX 25mg/KgBB; group III, IV, and V were orally administered with VCO 10ml/KgBB, EVOO 10ml/KgBB, and a combination of VCO and EVOO (1:1) 10ml/KgBB for 6 days, respectively, before being injected with DOX (i.p). After 24 hours, blood and organs were collected. Biomarker levels were then measured and histopathological analysis was performed. The biomarkers of heart disease used in this research are SGOT (*Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*), LDH (*Lactate Dehydrogenase*), and CK-MB (*Creatine Kinase Isoenzyme MB*). The combination of VCO and EVOO was found to be more effective compared to their single form in preventing marked elevations of SGOT, LDH, and CK-MB levels in DOX-induced rats.

Histopathological analysis also showed an improvement in the tissue structure of the heart muscle cells in the group of rats administered with VCO and EVOO combination.

**Key Words:** Doxorubicin, cardiac toxicity, VCO, EVOO

## DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Virgin Coconut Oil	7
B. Virgin Olive Oil	14
C. Doksorubisin	20
D. Jantung	25
E. Kardiotoksisitas	34
F. Biomarker Kerusakan Jantung	40
G. Tikus Putih	46

H. Kerangka Teori	50
I. Kerangka Konsep	51
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	<b>52</b>
A. Rancangan Penelitian	52
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	52
C. Subyek Penelitian	52
D. Pengajuan Izin Etika Penelitian	53
E. Penyiapan Alat dan Bahan	53
F. Metode Kerja	53
G. Analisis Data	58
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	<b>59</b>
<b>BAB V PENUTUP</b>	<b>78</b>
A. Kesimpulan	78
B. Saran	78
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	<b>79</b>
<b>LAMPIRAN</b>	<b>87</b>

## DAFTAR TABEL

<b>nomor</b>	<b>halaman</b>
1. Profil Standar Lemak Pada Virgin Coconut Oil	12
2. Kandungan Extra Virgin Olive Oil	18
3. Konversi Dosis Manusia ke Hewan Berdasarkan Luas Permukaan Tubuh	49
4. Hasil Pemeriksaan Kerusakan Sel Otot Jantung	70
5. Data Hasil Pengukuran Biomarker LDH, SGOT, dan CKMB Sebelum Perlakuan	90
6. Data Hasil Pengukuran Biomarker LDH, SGOT, dan CKMB Setelah Perlakuan	91
7. Rata-rata Kadar SGOT Sebelum dan Sesudah Perlakuan	92
8. Rata-rata Kadar LDH Sebelum dan Sesudah Perlakuan	92
9. Rata-rata Kadar CK-MB Sebelum dan Sesudah Perlakuan	93
10. Hasil Uji Statistik One Way Anova	94
11. Hasil Uji Tukey HSD	95
12. Hasil Analisis Antioksidan VCO dan EVOO	105

## DAFTAR GAMBAR

<b>nomor</b>	<b>halaman</b>
1. Struktur Doksorubisin	20
2. Mekanisme Produksi Radikal Bebas	21
3. Struktur Anatomi Jantung Bagian Dalam	28
4. Proses Enzimatik	37
5. Mekanisme ROS	38
6. Grafik Perbandingan Kadar SGOT Setiap Kelompok Sebelum dan Setelah Perlakuan Selama 7 Hari	62
7. Grafik Perbandingan Kadar LDH Setiap Kelompok Sebelum dan Setelah Perlakuan Selama 7 Hari	64
8. Grafik Perbandingan Kadar CK-MB Setiap Kelompok Sebelum Dan Setelah Perlakuan Selama 7 Hari	67
9. Gambaran Histologi Jantung Kelompok I dengan Pemberian Air dan NaCl	71
10. Gambaran Histologi Jantung Kelompok II dengan Pemberian Doksorubisin	72
11. Gambaran Histologi Jantung Kelompok III dengan Pemberian VCO 10 ml/kgBB dan Doksorubisin	73
12. Gambaran Histologi Jantung Kelompok IV dengan Pemberian EVOO 10 ml/kgBB dan Doksorubisin	73
13. Gambaran Histologi Jantung Kelompok V dengan Pemberian Kombinasi VCO dan EVOO 10 ml/kgBB dan Doksorubisin	74

14. Adaptasi Hewan Uji	102
15. Penimbangan Hewan Uji	102
16. Pemberian VCO dan EVOO Peroral	102
17. Pemberian Doksorubisin Intraperitoneal	102
18. Pengambilan Darah Tikus Melalui Vena Ekor	102
19. Sampel Darah dalam Vakutainer EDTA	102
20. Alat Sentrifugasi	102
21. Sampel Serum Hasil Sentrifugasi dalam Eppendorf	102
22. Pengukuran Biomarker Kerusakan Jantung	103
23. Proses Pembiusan dan Eutanasia Hewan Uji	103
24. Proses Pembedahan Hewan Uji	103
25. Larutan NaCl 0,9% untuk Proses Pembilasan Organ Bedah	103
26. Organ dalam Rendaman Formalin 10%	103
27. Grafik Kadar Antioksidan VCO	106
28. Grafik Kadar Antioksidan EVOO	107



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>nomor</b>	<b>halaman</b>
1. Skema Kerja	87
2. Perhitungan Dosis	88
3. Hasil Pemeriksaan Biomarker	90
4. Data Statistik	94
5. Dokumentasi Penelitian	102
6. Persetujuan Etik	104
7. Hasil Analisis Antioksidan VCO dan EVOO	105

## DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Keterangan
AV	Node Atrioventricular
CK-MB	Creatine Kinase Isoenzyme MB
Cm	Centimeter
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DOX	Doksorubisin
DPPH	2,2-Diphenyl-1-Picryhydrazyl
EVOO	Extra Virgin Olive Oil
g	Gram
GSH	Glutation Peroksidase
HDL	High Density-Lipoproteins
HE	Hematoksilin-Eosin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrogen Peroksida
IC <sub>50</sub>	Ultraviolet Visible
Kg	Kilogram

LDH	Lactate Dehidrogenase
LDL	Low Density-Lipoproteins
MCT	Medium Chain Triglycerides
Mg	Miligram
mL	Mililiter
mm	Milimeter
MUFA	Mono Unsaturated Fatty Acids
NADP	Nikotindamida Adenin Dinukleotida
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinukleotida Fosfat
nm	Nanometer
O <sub>2</sub>	Oksigen
PPAR-α	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alfa
PPM	Parts Per Million
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acids
RNA	Ribonucleic Acid
ROS	Reactive Oxygen Species

SA	Node Sinoatrial
SGOT	Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase
SOD	Superoksida Dismutase
UV-Vis	Inhibitory Concentration
VCO	Virgin Coconut Oil
VLDL	Very Low Density-Lipoproteins

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Kanker payudara adalah salah satu tumor ganas paling umum dan membahayakan kesehatan wanita, dengan perkiraan 252.710 kanker baru di Amerika Serikat pada tahun 2017 dan 26.000 kasus baru di Kanada pada tahun 2016 sebanyak 1 dari 8 wanita di Amerika Serikat akan menderita kanker payudara seumur hidup mereka. Sekitar 1,5 juta wanita di seluruh dunia mengidap kanker payudara setiap tahun, dan ~ 500.000 wanita meninggal karena kanker payudara. Deteksi dini dan kemajuan dalam skrining telah menyebabkan tingkat kelangsungan hidup 5 tahun mendekati 90%, dan di Amerika Serikat, hampir 3 juta orang hidup dengan diagnosis kanker payudara sebelumnya. Pilihan pengobatan biasanya mencakup kombinasi pembedahan, kemoterapi sitotoksik, terapi radiasi dan terapi endokrin yang ditargetkan secara molekuler, tergantung pada jenis kanker payudara yang didiagnosis (Cai, 2019).

Saat ini, antrasiklin kelas utama untuk pengobatan kanker payudara. Antrasiklin adalah salah satu obat yang paling umum digunakan dan efektif dalam pengobatan kanker payudara. Dalam 30 tahun terakhir, mereka telah menjadi komponen penting dari terapi tambahan dan paliatif untuk kanker payudara. Antrasiklin termasuk obat sitostatik, yang

mengganggu replikasi sel dengan bekerja pada DNA pada beberapa tingkatan, menunjukkan efek pada setiap fase siklus sel. Meskipun antrasiklin menunjukkan berbagai efek toksik, termasuk mielosupresi sementara, mukositis, dan rambut rontok, kardiotoxicitas masih merupakan risiko utama karena dapat bersifat permanen dan progresif, yang menyebabkan multimorbiditas dan sangat memengaruhi kualitas hidup pasien dengan kanker payudara. Kardiotoxicitas akut, serta efek potensial dari dosis kumulatif, yang meningkatkan risiko gagal jantung kongestif, sangat penting dan harus dipertimbangkan ketika memutuskan strategi pengobatan (Cai, 2019).

Doxorubicin merupakan obat sitostatika golongan antrasiklin yang mengandung kuinon yang telah digunakan untuk pengobatan kanker sejak 1969 (Fadillioglu *et al*, 2003). Banyak penelitian telah menghubungkan aktivitas antitumor doxorubicin terhadap kemampuannya untuk menyambung ke heliks DNA dan mengikat secara kovalen ke protein yang terlibat dalam replikasi DNA dan transkripsi (Box, 2007). Interaksi tersebut menghasilkan penghambatan DNA, RNA, dan sintesis protein yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Cutts *et al*, 1996; Cutts *et al*, 2005). Namun keefektifannya sebagai antikanker dibatasi oleh toksisitasnya terhadap jantung, ginjal, paru, testis, dan hematologi (Fadillioglu *et al*, 2003 ; Singal, 1987). Penggunaan agen kemoterapi doxorubisin untuk terapi kanker menjadi tantangan besar bagi para peneliti, terutama karena ditemukan adanya pembentukan radikal bebas pada proses metabolisme

obat kemoterapi sehingga pasien menderita gagal jantung setelah kemoterapi (Siahaan *et al*, 2007). Namun, penggunaannya terbatas karena potensi menyebabkan toksisitas akut dan kronis pada pasien (Pathan *et al*, 2010). Mekanisme tepat toksisitas ini disebabkan akibat pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) yang diperantarai proses metabolisme zat besi dan peningkatan stres oksidatif pada miokardium (Peng *et a.*, 2005). Mekanisme stres oksidatif merupakan mekanisme yang paling sering mengakibatkan kerusakan jantung akibat penggunaan sitostatika golongan antrasiklin (Siahaan *et al*. 2007).

Akibat efek kardiotoxikitas yang disebabkan doksorubisin tersebut, maka diperlukan senyawa aktif yang dapat melindungi jantung (kardioprotektif). Senyawa kardioprotektif terhadap doksorubisin diharapkan memiliki kemampuan sebagai antiinflamasi dan antioksidan yang baik.

Virgin coconut oil merupakan minyak kelapa yang dihasilkan dari pengolahan daging buah kelapa tanpa melakukan pemanasan atau dengan pemanasan suhu rendah sehingga menghasilkan minyak kelapa dengan warna jernih, tidak berbau tengik, tidak terasa asam, dan terbebas dari radikal bebas akibat pemanasan (Marina *et al*, 2009).VCO bermanfaat untuk kulit dan perawatan rambut, menghilangkan stres, menurunkan berat badan, menurunkan kadar kolesterol dan lemak darah, efek imunomodulator, menjaga tekanan darah yang stabil, gangguan

sirkulasi dan penyakit Alzheimer, antiperadangan, analgesik dan antipiretik (Arumugam *et al*, 2014).

Kandungan polifenol tinggi dalam VCO mampu mempertahankan tingkat normal parameter dalam jaringan dan serum, dan meningkatkan enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD) dan glutathion peroksidase (GSH) sehingga dapat mengikat oksigen reaktif dalam plasma dan peroksidasi dalam microsomal lipid (Oseni *et al*, 2017). Kandungan antioksidan pada VCO didominasi oleh gugus polifenol. Komponen polifenol juga dapat mencegah oksidasi LDL in vitro pada tikus (Nurul-Iman *et al*, 2013). Selama ini penggunaan VCO yang dianjurkan pada manusia untuk mengurangi LDL kolesterol karena *very low-density lipoproteins* (VLDL) dan *low density-lipoproteins* (LDL) merupakan protein transport yang membawa trigliserida, kolestrol, dan fosfolipid dari hati ke keseluruhan jaringan (Kinsella *et al*, 1990).

Selain VCO, minyak zaitun atau sering dikenal dengan nama extra virgin olive oil (EVOO) mampu meningkatkan aktifitas antioksidan enzim hepatic seperti catalase, superoxide dismutase dan glutathion peroxidase (Ruiz-Gutierrez *et al*, 1999). Hydroxytyrosol dan oleuropein dapat berperan sebagai *scavenging free radical* dan menghambat oksidasi low density lipoprotein (LDL) (Visioli F *et al*, 2002). Squalen juga mengakibatkan berkurangnya aktivitas HMG CoA reduktase dan peningkatan eliminasi kolesterol melalui feses (Relas H *et al*, 2000).



Bukti klinis tambahan menunjukkan bahwa kandungan fenolik minyak zaitun, dapat berkontribusi untuk manfaat kardioprotektif. Gonzales–Santiago *et al*, (2006) telah membuktikan perbedaan efek minyak zaitun yang berbeda kandungan fenoliknya. Penelitian yang dilakukan pada kelinci ini, menemukan peningkatan HDL-C dan pengurangan kolesterol total dan trigliserida pada konsumsi minyak zaitun virgin yang kaya fenol. Penggunaan extra virgin olive oil (EVOO) yang dianjurkan pada manusia karena jika kadar HDL dalam darah meningkat maka akan terjadi penurunan kolestrol total dan trigeliserida dalam darah, EVOO mengandung MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acids*) (79%), asam palmitrat atau asam lemak jenuh (11%), asam linoleat atau PUFA (*Poly unsaturated fatty acids*) (7%) yang dapat meningkatkan HDL serta menghambat sintesa VLDL dan LDL sehingga menurunkan resiko kejadian penyakit kardiovaskuler (Kinsella *et al*, 1990).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk memperlihatkan kemungkinan efek kardioprotektif virgin coconut oil (VCO), extra virgin olive oil (EVOO) dan kombinasi VCO dan EVOO pada proses kardiotositas dan fibrosis jantung akibat induksi doksorubisin.

## **B. Rumusan Masalah**

1. Apakah Virgin Coconut Oil, Extra Virgin Olive Oil, dan kombinasi Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil mampu memberikan efek protektif terhadap peningkatan kadar serum *Creatine Kinase Isoenzyme MB* (CK-MB), *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase*

(SGOT), dan *Lactate Dehydrogenase* (LDH) setelah diinjeksikan doksorubisin pada tikus putih?

2. Apakah kombinasi Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil lebih efektif sebagai kardioprotektor dibandingkan sediaan tunggalnya untuk mengurangi toksisitas doksorubisin pada tikus?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengevaluasi efek protektif Virgin Coconut Oil, Extra Virgin Olive Oil dan kombinasi Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil terhadap peningkatan kadar biomarker jantung dan kerusakan struktur histologi jantung tikus putih setelah injeksi doksorubisin.
2. Untuk membandingkan efektifitas kombinasi Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil dibandingkan sediaan tunggalnya sebagai kardioprotektor untuk mengurangi toksisitas doksorubisin pada tikus.

### **D. Manfaat Penelitian**

Sebagai informasi terkait penggunaan Virgin Coconut Oil, Extra Virgin Olive Oil, dan kombinasi Virgin Coconut Oil dan Extra Virgin Olive Oil dalam menangani Kardiotoksisitas yang disebabkan oleh obat Doxorubisin.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Virgin Coconut Oil**

Minyak kelapa murni atau *virgin coconut oil* (VCO) merupakan salah satu hasil olahan dari buah kelapa (*Cocos nucifera*) famili *Arecaceae* (Palmae). Komponen minyak kelapa terdiri dari asam lemak jenuh (90%) dan minyak tak jenuh (10%) (Sutarmi dan Rozaline, 2005).

Secara kimiawi, minyak kelapa terbentuk dari rantai karbon, hidrogen dan oksigen yang disebut dengan asam lemak. Komponen-komponen asam lemak tersebut akan membentuk gliserida saat bergabung dengan gliserol. Gliserida yang umum terdapat pada lemak dan minyak adalah trigliserida atau lipida (Syah, 2005).

Minyak kelapa mengandung fosfatida, gums, sterol, dan tokoferol. Tokoferol berfungsi sebagai antioksidan alami yang dapat memperpanjang periode terjadinya proses oksidasi sampai timbulnya bau tengik. Tokoferol juga mengandung komponen aktif biologis yang secara umum diterima sebagai aktivitas vitamin E dalam menjaga kekebalan tubuh manusia (Syah, 2005).

Kurang lebih 50% asam lemak pada minyak kelapa adalah asam laurat dan 7% asam kapriat. Kedua asam tersebut merupakan asam lemak jenuh rantai sedang yang mudah di metabolisir dan bersifat

antimikroba sehingga dapat meningkatkan imun tubuh (kekebalan tubuh) dan mudah diubah menjadi energi. Dalam tubuh, asam laurat menjadi monolaurin, sedangkan asam kapriat menjadi monokaprin. Hasil pecahan lemak jenuh rantai sedang jarang disimpan sebagai lemak dan jarang menumpuk dipembuluh darah. Minyak kelapa memiliki kadar asam lemak tidak jenuh ganda omega-3 *eicosa-penta-einoic acid* (EPA) dan *docosa-hexaenoic acid* (DHA) yang dapat menurunkan *very low density lipoprotein* (VLDL) dan viskositas darah, menghambat tromboxan, serta mencegah penyumbatan pembuluh darah (Sutarmi dan Rozaline, 2005).

Asam laurat dan asam lemak jenuh berantai pendek yang terkandung dalam minyak kelapa murni berperan positif dalam proses pembakaran nutrisi makanan menjadi energi. Fungsi lain dari zat ini, antara lain sebagai anti virus, anti bakteri, dan anti protozoa (Sutarmi dan Rozaline, 2005).

### **1. Manfaat Virgin Coconut Oil (VCO)**

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan buah yang tidak asing lagi di negara-negara tropis dan telah dikonsumsi selama ribuan tahun. Minyak kelapa murni (virgin coconut oil) merupakan minyak kelapa yang dihasilkan dari pengolahan daging buah kelapa tanpa melakukan pemanasan atau dengan pemanasan suhu rendah sehingga menghasilkan minyak kelapa dengan warna jernih, tidak berbau tengik, tidak terasa asam, dan terbebas dari radikal bebas akibat pemanasan (Marina *et al*, 2009).

VCO juga mengandung antioksidan. Kandungan antioksidan pada VCO didominasi oleh gugus polifenol. Komponen polifenol juga dapat mencegah oksidasi LDL in vitro pada tikus (Nurul-Iman et al., 2013). Kadar polifenol total dalam VCO sekitar 84 mg per 100 gram minyak (Jaarin et al, 2014; Arunima dan Rajamohan, 2014). Komponen polifenol utama yang ditemukan pada VCO yaitu asam ferulat dan asam p-kumarat. Selain itu juga ditemukan asam kafeat, catechin, tocopherols, tocotrienols, dan phytosterols dalam jumlah kecil (Krishna et al, 2010). Efek antioksidan dari VCO dikatakan berimbang dengan vitamin E dalam mencegah peroksidasi lipid. VCO juga dapat mencegah terjadinya hipertensi pada tikus dikarenakan polifenol dapat menstimulasi pengeluaran nitric oxide (NO) (Nurul-Iman et al, 2013).

Pada VCO yang tidak dipanaskan berulang kali, tidak ada efek merugikan terhadap tekanan darah maupun biomarker inflamasi pada tikus. VCO yang dipanaskan berulang kali akan meningkatkan tekanan darah dan biomarker inflamasi pada tikus. VCO harus dikonsumsi dalam keadaan segar dan tidak dipanaskan berulang kali agar dapat memberi manfaat bagi kesehatan (August, 2016).

VCO terdiri dari dua fraksi utama, yaitu fraksi lipid dan fraksi non-lipid. Fraksi lipid terdiri dari 93% asam lemak jenuh (dimana sekitar 70% merupakan asam lemak rantai sedang), 5% asam lemak tak jenuh tunggal atau MUFA (*Mono Unsaturated Fatty Acids*), dan 2%

asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA (*Poly unsaturated fatty acids*). Fraksi non-lipid terdiri dari komponen antioksidan fenolik yang dapat menurunkan risiko penyakit jantung koroner (Augus, 2016).

Pemberian VCO mencegah dislipidemia melalui mekanisme menekan lipogenesis dari hepar, meningkatkan  $\beta$ -oksidasi di mitokondria dan peroksisom dan meningkatkan reverse kolesterol transport. VCO yang terdiri dari medium chain triglycerides (MCT) dan komponen polifenol bekerja secara sinergis dalam mencegah dislipidemia. MCT atau asam lemak rantai sedang adalah ligan natural PPAR- $\alpha$  (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alfa). VCO mengatur oksidasi asam lemak via jalur dependent PPAR- $\alpha$ . Penelitian pada tikus, VCO meningkatkan  $\beta$ -oksidasi di mitokondria dan peroksisom. Hal ini diketahui terlihat dari peningkatan aktivitas enzim carnitine palmitoyl transferase I (CPT I), acyl CoA oxidase dan enzim lain yang terlibat dalam  $\beta$ -oksidasi di mitokondria, serta diikuti up-regulating ekspresi mRNA dari PPAR- $\alpha$  dan gen targetnya yang terlibat dalam oksidasi asam lemak, sehingga VCO meningkatkan laju katabolisme asam lemak pada tikus (Arunima dan Rajamohan, 2014). PPAR- $\alpha$  mengontrol seluruh gen yang mengatur katabolisme lipid (Jaarin *et al*, 2014).

PPAR- $\alpha$  merupakan reseptor di nukleus. PPAR- $\alpha$  ini adalah faktor transkripsi yang jika diaktifkan akan memicu proliferasi peroksisom. PPAR- $\alpha$  dahulu ditemukan karena berikatan dengan obat hipolipidemik

golongan fibrat, sehingga menyebabkan proliferasi peroksisom di hepatosit. Ekspresi gen PPAR- $\alpha$  paling tinggi ditemukan di jaringan yang memiliki katabolisme asam lemak yang aktif seperti hepar, jantung, brown adipose tissue, usus kecil, usus besar dan otot rangka (August, 2016).

Saat PPAR- $\alpha$  diaktifkan, aktivitas apo C-III akan menurun. Apoprotein CIII menghambat aktivitas enzim lipoprotein lipase dan klirens lipoprotein remnant, sehingga aktivasi PPAR- $\alpha$  akan meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase di hepar dan otot rangka, klirens trigliserida akan meningkat. Aktivasi PPAR- $\alpha$  juga akan menginduksi ekspresi ABCA1 dan SR-B1. Apo A-I dan apo A-II yang berkaitan dengan HDL merupakan target langsung PPAR- $\alpha$ . Apo A-I akan mengaktifkan lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT), apo A-II akan meningkatkan aktivitas hepatic lipase (August, 2016). Peningkatan enzim lipoprotein lipase, LCAT dan HDL berperan penting dalam reverse cholesterol transport (August, 2016; Arunima dan Rajamohan, 2012).

VCO juga dapat meningkatkan kadar omega-3 sebanyak tiga kali lipat pada tikus yang diberi VCO 2-4%. Omega-3 dapat menurunkan kadar trigliserida dengan menurunkan lipogenesis dan menurunkan sekresi VLDL, meningkatkan aktivitas lipoprotein lipase dan meningkatkan reverse cholesterol transport. Kandungan fitosterol dalam VCO juga membantu menghambat absorpsi lipid pada usus

tikus (Jaarin *et al*, 2014). Fitosterol berkompetisi dengan absorpsi kolesterol di usus sehingga dapat menurunkan konsentrasi kolesterol total. Konsumsi fitosterol sebagai diet suplemen menurunkan LDL manusia sampai 15% (Augus, 2016).

## 2. Komponen Asam Lemak Pada Virgin Coconut Oil

Asian and Pacific Coconut Community menetapkan standar komposisi asam lemak yang terkandung dalam virgin coconut oil disajikan pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Profil standar lemak pada virgin coconut oil (APCC, 2009)

Nama Asam Lemak	Komposisi	Konsentrasi (%)
Asam kaproat	C 6:0	0.10 - 0.95
Asam kaprilat	C 8:0	4 - 10
Asam kaprat	C 10:0	4 - 8
Asam laurat	C 12:0	45 - 56
Asam miristat	C 14:0	16 - 21
Asam palmitat	C 16:0	7.5 - 10.2
Asam stearat	C 18:0	2 - 4
Asam oleat	C 18:1	4.5 - 10
Asam linoleate	C 18:2	0.7 - 2.5



Minyak diklasifikasikan berdasarkan profil komposisi asam lemak yang terkandung. Minyak kelapa murni atau VCO diklasifikasikan sebagai mediumchain triglyceride (MCT) oil oleh karena komposisi asam lemaknya lebih dari 65% adalah medium-chain fatty acids (MCFA) atau asam lemak rantai sedang. Asam lemak yang tergolong MCT yaitu asam kaprilat, asam kaprat dan asam laurat. Minyak kelapa adalah satu-satunya minyak dengan komposisi asam lemak C12 atau asam laurat sebanyak kurang lebih 50% (Dayrit, 2014).

### **3. Uji Preklinik Terkait Kardioprotektif VCO**

Sukirman Lie *et al*, 2019 pada penelitian menunjukkan bahwa efek kardioprotektif dari VCO mengurangi kadar serum CK-MB dan LDH pada kelompok dosis VCO 6 ml. Oleh karena itu, dosis tersebut sangat disarankan untuk menjadi suplemen makanan bagi penderita kanker. Menurut Augustus 2016, penelitian eksperimental murni dengan randomized post-test only control group design menggunakan 36 tikus putih jantang. Semua sampel di berikan diet tinggi kolestrol. Sampel dipilih secara random lalu dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol yang diberikan aquadest dan kelompok yang diberikan VCO selama 28 hari, menyimpulkan bahwa VCO mencegah peningkatan kolestrol total, trigliserida, kolestrol LDL, dan mencegah penurunan kolestrol HDL pada tikus.

## **B. Virgin Olive Oil**

Dalam dunia ilmiah, buah zaitun memiliki nama ilmiah *Olea europaea* yang masih tergolong dalam family oleaceae. Pohon zaitun tumbuh sebagai perdu tahunan yang abadi dan mulai menghasilkan buah pada usia lima tahun. Pada usia 15-20 tahun pohon zaitun mampu memproduksi buah secara penuh dan mampu bertahan hidup hingga ratusan bahkan ribuan tahun lamanya, sehingga tanaman yang awalnya perlu dapat menjadi pohon besar. Zaitun muda yang berwarna hijau kekuningan sering digunakan masyarakat mediterania sebagai bumbu penyedap dalam masakan. Sedangkan buah zaitun yang telah matang berwarna ungu ke hitam dan kerap diekstrak untuk diambil minyaknya yang dikenal sebagai minyak zaitun (International Olive Council, 2013).

### **1. Jenis Minyak Zaitun**

Berdasarkan jenisnya, minyak zaitun dibagi menjadi (International Olive Council, 2013):

#### **a. Extra Virgin Olive Oil**

Perasan pertama, tingkat keasaman kurang dari 1%, dapat diminum langsung

#### **b. Virgin Olive Oil**

Perasan kedua, tingkat keasaman 2-2,5%, biasa digunakan untuk memasak

c. Pure Olive Oil

Proses melalui penyaringan dan pemurnian, tingkat gizi lebih rendah, Salad dressing, bahan masakan, dan perawatan kecantikan

d. Extra Light Olive Oil

Proses perasan yang berulang-ulang kali dan kandungan gizinya sudah sangat rendah serta digunakan untuk menumis dan menggoreng.

## **2. Extra Virgin Olive Oil**

Extra virgin olive oil (EVOO) atau minyak zaitun murni adalah minyak yang didapatkan dengan proses ekstrak atau pemerasan pertama melalui proses cold pressing method (perasan dingin) artinya buah zaitun tidak mengalami proses pemanasan seperti dicelup kedalam air panas, dan tanpa bahan kimia, agar tidak merubah atau mempengaruhi komposisi asli minyak zaitun. Teknik ini akan menghasilkan komponen buah memiliki pengaruh untuk menekan radikal bebas, karena mengandung struktur zat fenol yang merupakan senyawa polar (Evi, 2019). Keunggulan minyak zaitun dapat dikonsumsi dalam bentuk cair, tanpa proses pemasakan, karena tidak menimbulkan efek negatif bagi lambung dan saluran pencernaan, serta membantu melindungi lambung sehingga terbebas dari gangguan maag dan gastritis (International Olive Council, 2013).

Buah zaitun yang tingkat kematangannya cukup mengandung suatu zat yang disebut oleuropein (salah satu kandungan zat aktif pada buah zaitun) maka dengan bantuan enzim dan nonenzim akan dihidrolisis menghasilkan beberapa komponen yang lebih sederhana yaitu hidroktirosol, oleuropein, aglikon dan ligstrosida (Evi, 2019).

Minyak zaitun adalah sumber utama lemak dari makanan dalam diet mediterania, dan konsumsi minyak zaitun yang teratur memiliki berbagai efek menguntungkan pada kesehatan manusia. Penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa ada hubungan antara konsumsi diet mediterania, yang biasanya mencakup asupan 25-50 ml minyak zaitun per hari dengan lebih rendahnya insiden penyakit kardiovaskular, penurunan kognitif degenerative, dan beberapa jenis kanker (Corona *et al*, 2009).

Minyak zaitun jenis EVOO mengandung 17,3 % lemak jenuh (Saturated acid) yaitu asam palmitat dan asam stearat, 66,2 % lemak tak jenuh adalah (Monounsaturated acid) utamanya (asam oleat), dan 15 % poliunsaturated acid, sementara itu EVOO nya sendiri mengandung jumlah fenol yang cukup banyak sekitar 579,2 mg/kg dan beberapa tokoferol. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa fenol dan tokoferol merupakan antioksidan (Nakbi *et al.*, 2010).

Dalam hal ini hasil penelitian menunjukkan bahwa manusia atau hewan yang diberi polifenol atau fenol dari EVOO menunjukkan aktifitas hidroksitirosol sebagai antioksidan cukup tinggi setelah

mengkonsumsinya. Pada penelitian selanjutnya bahwa pemberian EVOO dengan dosis 50 ml pada orang tua yang sehat. secara signifikan dapat menurunkan total kolesterol, hal ini karena kandungannya yang kaya akan polifenol. Selain itu peneliti ini juga mengungkapkan bahwa dengan mengonsumsi EVOO sehari-hari ditemukan efek yang positif terhadap penurunan profil lipid, dan penurunan SOD, aktifitas GPx (Lopez et al., 2013) secara signifikan. Penelitian yang serupa juga telah dilakukan pada orang dewasa muda dengan pemberian EVOO 50 ml perhari selama 30 hari ternyata dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah, total kolesterol dan tekanan darah secara signifikan (Lopez et al., 2012).

### **3. Manfaat Extra Virgin Olive Oil**

Extra Virgin Olive Oil (EVOO) banyak digunakan untuk persiapan makanan (seperti minyak salad) kosmetik dan industri farmasi (Ghanbari *et al*, 2012). Pengaruh konsumsi EVOO terhadap kesehatan sejak dulu dianggap karena komponen fraksi gliserol yang kaya akan MUFA terutama asam oleat. Asam oleat diklaim dapat meningkatkan kadar HDL plasma dan dapat menurunkan LDL. Karena alasan tersebut asam oleat dianggap dapat mencegah penyakit kardiovaskular yang merupakan penyebab utama kematian di negara industri.

Tetapi banyak penelitian menunjukkan bahwa manfaat kesehatan EVOO lebih dari sekedar MUFA melainkan senyawa fenolik dalam

EVOO sebanyak yang memiliki banyak manfaat kesehatan terutama sebagai antioksidan (Ghanbari *et al*, 2012). Fraksi non-gliserol yang berfungsi sebagai antioksidan senyawa fenolik, tokoferol, squalene, klorofil (pigmen warna) dan  $\beta$ -karoten.

#### 4. Komposisi

EVOO terdiri dari fraksi gliserol (90-99% dari buah zaitun) dan fraksi non-gliserol (0,4-5% dari buah zaitun). Fraksi gliserol EVOO terdiri dari Mono Unsaturated Fatty Acid (MUFA), Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) dan Saturated Fatty Acid (SFA). Sedangkan fraksi non- gliserol diantaranya senyawa fenolik, tokoferol, squalene, klorofil (pigmen warna) dan  $\beta$ -karoten yang berfungsi sebagai antioksidan (Cicerale, 2010; Ghanbari *et al*, 2012).

Tabel 2. Kandungan Extra Virgin Olive Oil (EVOO) (USDA, 2012)

Kandungan EVOO	Persendok/15ml
Energi	810 kkal
Karbohidrat	0 g
Asam Lemak	91 g
Asam Lemak jenuh	13 g
Asam Lemak tak jenuh tunggal (MUFA)	66 g
Asam Lemak tak jenuh ganda (PUFA)	12 g
Omega – 3	< 1,5 g
Omega – 6	3,5 – 21 g

Protein	0 g
Vitamin E	14 mg (93%)
Vitamin K	62 mg (59%)

EVOO diketahui memiliki jumlah vitamin dan asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) yang lebih tinggi dibanding jenis minyak zaitun lainnya, terutama senyawa fenolik dan vitamin E (tokoferol) (Lopez, 2007). EVOO juga kaya akan polifenol yang dikenal sebagai anti-inflamasi, antioksidan, dan antikoagulan. Antioksidan membantu menetralkan radikal bebas dan memperbaiki kerusakan membran sel yang disebabkan oleh paparan asap rokok, polusi, alkohol, dan radiasi, serta baik untuk kesehatan jantung (Hensrud, 2013).

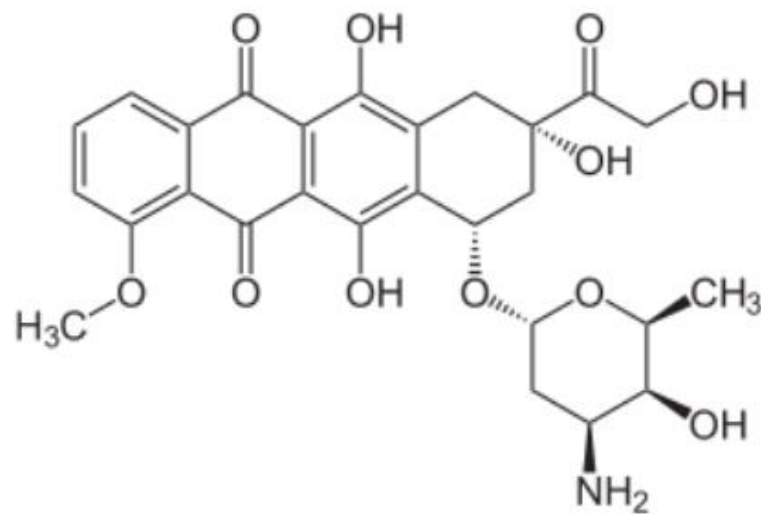
##### **5. Uji Preklinik Terkait Kardioprotektif EVOO**

Waleed Hassan *et al*, 2020 Parameter hemodinamik menjadi lebih baik secara signifikan pada tikus yang diberikan EVOO dengan dosis 2,5%, 5%, dan 10% walaupun telah diinduksi dengan doksorubisin. Tingkat serum kreatinin kinase, troponin T, CK-MB, dan LDH ditemukan berkurang pada tikus yang di induksi EVOO 10%. Oleh karenanya, penelitian tersebut merekomendasikan EVOO memiliki potensi untuk mengurangi kardiomiopati, memberikan perlindungan terhadap sel jantung dan mencegah tekanan darah tinggi. Selain itu EVOO diduga juga berperan secara tidak langsung melawan stres oksidatif dengan memodulasi ekspresi gen dan aktivitas enzim,

sehingga dapat memperbanyak antioksidan enzimatik seperti SOD, GPx, katalase. Dalam hal ini EVOO memiliki nilai nutrisi yang cukup tinggi dan pada penelitian lainnya terbukti dengan pemberian selama 3 hari berturut-turut ternyata mampu mengurangi stress oksidatif di pankreas (Lopez at al., 2008).

### C. Dokсорubisin

Dokсорubisin merupakan agen kemoterapi golongan antrasiklin dan memiliki cincin tetrasiklin yang diisolasi dari *Streptomyces peucetius* dan menjadi salah satu obat paling efektif untuk pengobatan penyakit kanker.



Gambar 1. Struktur Dokсорubisin (British Pharmacopeia, 2001)

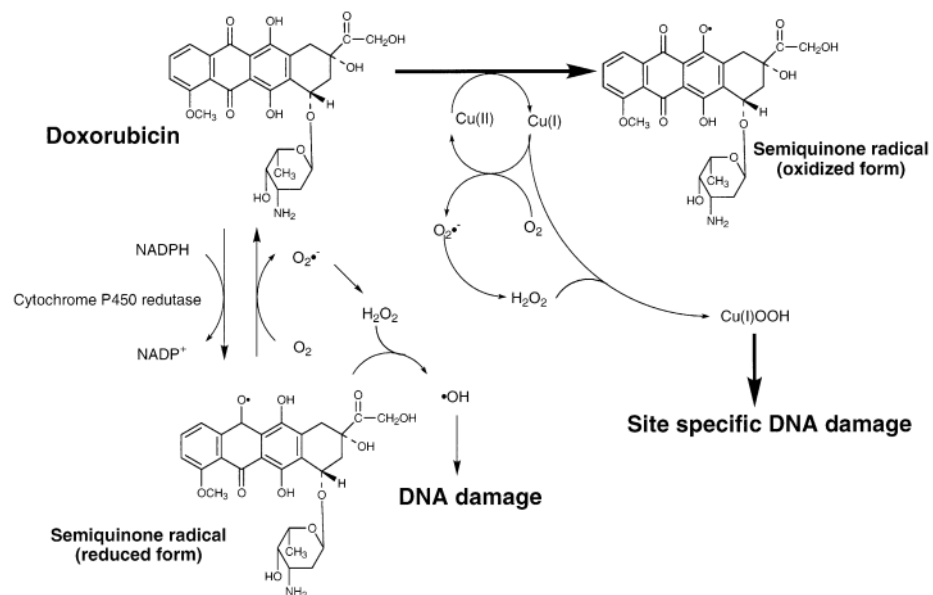
#### 1. Farmakokinetika

Dokсорubisin diberikan melalui intravena karena obat ini tidak diserap oleh saluran gastrointestinal. Setelah diinjeksikan melalui intravena dokсорubisin akan dengan cepat dibersihkan dari darah dan



didistribusikan ke jaringan termasuk paru – paru, hati, jantung, limpa, dan ginjal. Doksorubisin akan mengalami metabolisme yang cepat di hati menjadi metabolit yang aktif doksorubisinol (adriamycinol). Sekitar 40-50% dosis diekskresikan oleh empedu dalam waktu 7 hari, dan sekitar setengah dari obat tidak berubah. Hanya sekitar 5% dari dosis yang diekskresikan di urin dalam 5 hari (Sweetman, 2009).

## 2. Mekanisme Kerja



Gambar 2. Mekanisme produksi radikal bebas (Mizutani *et al*, 2003

Secara umum mekanisme kerja dari doksorubisin memiliki aksi sitotoksik adalah (i) penghambatan topoisomerase II, (ii) interkalasi DNA yang mengakibatkan terjadinya penghambatan sintesis DNA dan RNA, (iii) mengikat membrane sel untuk mengubah fluiditas dan transportasi ion, (iv) serta generasi radikal oksigen melalui proses yang

tergantung besi dan proses reduktif yang diperantarai oleh enzim (Brunton dkk, 2006).

Doksorubisin berinterkalasi dengan DNA yang akan mempengaruhi transkripsi dan replikasi. Doksorubisin mampu membentuk kompleks dengan topoisomerase II dan DNA. Topoisomerase memiliki fungsi penting dalam replikasi dan perbaikan DNA. Dengan terbentuknya kompleks akan menghambat penyambungan kembali strand DNA yang memicu kerusakan sel. Dengan adanya gugus quinon pada struktur doksorubisin mampu menghasilkan radikal bebas baik pada sel normal maupun sel kanker. Doksorubisin dapat membentuk intermediate radikal semiquinon yang dapat bereaksi dengan oksigen, sehingga menghasilkan radikal anion superoksida yang selanjutnya akan menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyerang DNA dan mengoksidasi basa pada DNA. Pembentukan radikal bebas ini secara signifikan distimulasi oleh interkalasi antara doksorubisin dengan besi (Gewirtz, 1999; Minotti *et al*, 2004; Serrano *et al*, 1999; Brunton *et al*, 2006).

### **3. Dosis**

Pemberian doksorubisin melalui intravena dengan mencampurkan ke dalam larutan natrium klorida 0,9% atau glukosa 0,5% lebih dari 3 menit atau lebih. Untuk penggunaan dosis tunggal diberikan sebanyak 6075 mg/m<sup>2</sup>, atau 1,2- 2,4 mg/kg setiap 3 minggu sekali, dapat juga diberikan dengan dosis 20-25 mg/m<sup>2</sup> setiap hari

selama 3 hari tiap 3 minggu (penggunaan dosis dapat meningkatkan kejadian mukositis). Sebuah regimen dengan dosis 20 mg/m<sup>2</sup> sebagai dosis mingguan tunggal dapat digunakan, dan dilaporkan berkaitan dengan kejadian kardiotoxicitas yang lebih rendah. Dosis mungkin perlu dikurangi jika diberikan dengan antineoplastik lainnya, dosis yang telah disarankan yaitu 30-60 mg/m<sup>2</sup> setiap 3 minggu. Dosis juga harus dikurangi pada pasien dengan kelainan disfungsi liver. Dosis total maksimum tidak boleh melebihi 450-550 mg/m<sup>2</sup>; untuk pasien yang telah melakukan radioterapi pada dada, atau obat kardiotoxik lainnya dianjurkan tidak melebihi batas dosis total (Sweetman, 2009).

#### **4. Efek Samping**

Karena doksorubisin secara tidak langsung ditargetkan untuk tumor, sehingga dapat mempengaruhi pertumbuhan banyak sel lainnya dalam tubuh. Efek samping utama golongan antrasiklin adalah efek toksisitas multidireksional dengan efek kardiotoxicitas yang paling menonjol. Hal ini dikarenakan kemampuan doksorubisin dalam menghasilkan radikal bebas.

Doksorubisin memiliki struktur kuinon yang dapat dioksidasi menjadi radikal semikuinon melalui penambahan 1 elektron yang dimediasi oleh sejumlah NAD (P) H- oksidoreduktase (Minnotti *et al*, 2004). Radikal semikuinon bereaksi cepat dengan oksigen untuk menghasilkan superoksida dan hidrogen peroksida yang menyebabkan kerusakan DNA. Selain itu, doksorubisin adalah khelator

besi dan kompleks doksorubisinbesi yang mengkatalisis hidrogen peroksida menjadi radikal hidroksil yang sangat reaktif (Myers, 1998). Doksorubisin menginduksi pelepasan radikal bebas dan dapat menyebabkan stress oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan DNA, dan kematian sel (Thorn *et al*, 2011).

Glutation peroksida, katalase, dan superoksida dismutase merupakan enzim yang mampu menonaktifkan radikal bebas. Namun, pada jaringan jantung pada umumnya hanya terdapat sedikit enzim superoksida dismutase. Selain itu, pada jaringan jantung kekurangan enzim katalase yang membuat jantung tidak efektif mengonversi hidrogen peroksida yang dihasilkan doksorubisin (Katzung, 2006; Ritter *et al*, 2008; Dipiro *et al*, 2005).

Selain memiliki efek kardiotosisitas, beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek doksorubisin terhadap ginjal. Dari penelitian Ayla *et al* (2011) menunjukkan bahwa injeksi tunggal doksorubisin sebanyak 20 mg/kg menyebabkan luka pada ginjal yang ditandai dengan adanya lesi glomerulus dan tubular setelah diinjeksikan doksorubisin selama 10 hari.

Hasil histopatologi yang telah dilakukan oleh Haider *et al* (2014) menunjukkan adanya perubahan degeneratif pada glomerulus dan tubulus ginjal yang telah diinjeksikan doksorubisin yang dapat dilihat dengan melebarnya kapiler dan kandung kemih, degenerasi tubulus proksimal dan sel epitel tubulus distal dengan mengganggu bagian luar

dari tubulus, sumbatan pada tubulus dan adanya perdarahan pada interstisial.

## **D. Jantung**

### **1. Anatomi Jantung**

Jantung terletak di rongga toraks di antara paru – paru. Lokasi ini dinamakan mediastinum (Scanlon, 2007). Jantung memiliki panjang kira-kira 12 cm (5 in.), lebar 9 cm (3,5 in.), dan tebal 6 cm (2,5 in.), dengan massa rata – rata 250 g pada wanita dewasa dan 300 g pada pria dewasa. Dua pertiga massa jantung berada di sebelah kiri dari garis tengah tubuh (Tortora, 2012). Pangkal jantung berada di bagian paling atas, di belakang sternum, dan semua pembuluh darah besar masuk dan keluar dari daerah ini (Scanlon, 2007). Apeks jantung yang dibentuk oleh ujung ventrikel kiri menunjuk ke arah anterior, inferior, dan kiri, serta berada di atas diafragma.

Membran yang membungkus dan melindungi jantung disebut perikardium. Perikardium menahan posisi jantung agar tetap berada di dalam mediastinum, namun tetap memberikan cukup kebebasan untuk kontraksi jantung yang cepat dan kuat. Perikardium terdiri dari dua bagian, yaitu perikardium fibrosa dan perikardium serosa. Perikardium fibrosa terdiri dari jaringan ikat yang kuat, padat, dan tidak elastis. Sedangkan perikardium serosa lebih tipis dan lebih lembut dan membentuk dua lapisan mengelilingi jantung. Lapisan parietal dari perikardium serosa bergabung dengan perikardium fibrosa. Lapisan

viseral dari perikardium serosa, disebut juga epikardium, melekat kuat pada permukaan jantung. Di antara perikardium parietal dan visceral terdapat cairan serosa yang diproduksi oleh sel perikardial. Cairan perikardial ini berfungsi untuk mengurangi gesekan antara lapisan – lapisan perikardium serosa saat jantung berdenyut. Rongga yang berisi cairan perikardial disebut sebagai kavitas perikardial.

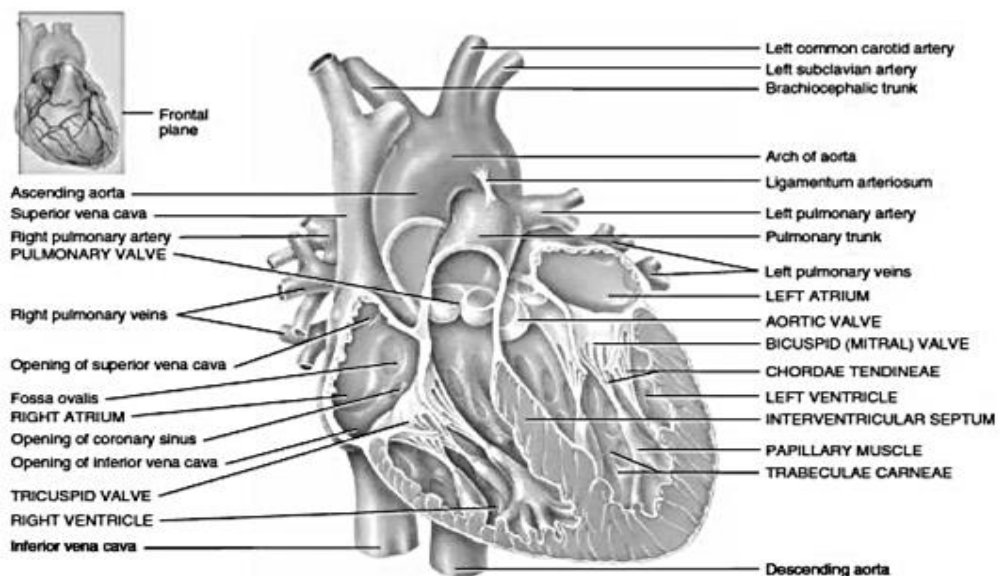
Dinding jantung terdiri dari tiga lapisan, yaitu epikardium (lapisan paling luar), miokardium (lapisan bagian tengah), dan endokardium (lapisan paling dalam). Seperti yang telah disebutkan di atas, lapisan epikardium merupakan lapisan visceral perikardium serosa yang disusun oleh mesotelium dan jaringan ikatlunak, sehingga tekstur permukaan luar jantung terlihat lunak dan licin. Miokardium merupakan jaringan otot jantung yang menyusun hampir 95% dinding jantung. Miokardium bertanggung jawab untuk pemompaan jantung. Meskipun menyerupai otot rangka, otot jantung ini bekerja involunter seperti otot polos dan seratnya tersusun melingkari jantung. Lapisan terdalam dinding jantung, endokardium, merupakan lapisan tipis endotelium yang menutupi lapisan tipis jaringan ikat dan membungkus katup jantung.

Jantung mempunyai empat ruangan. Dua ruangan penerima di bagian superior adalah atrium, sedangkan dua ruangan pemompa di bagian inferior adalah ventrikel. Atrium kanan membentuk batas kanan dari jantung (Tortora, 2012) dan menerima darah dari vena kava

superior di bagian posterior atas, vena kava inferior, dan sinus koroner di bagian lebih bawah (Ellis, 2006). Atrium kanan ini memiliki ketebalan sekitar 2 – 3 mm (0,08 – 0,12 in.). Dinding posterior dan anteriornya sangat berbeda, dinding posteriornya halus, sedangkan dinding anteriornya kasar karena adanya bubungan otot yang disebut pectinate muscles. Antara atrium kanan dan kiri ada sekat tipis yang dinamakan septum interatrial. Darah mengalir dari atrium kanan ke ventrikel kanan melewati suatu katup yang dinamakan katup trikuspid atau katup atrioventrikular (AV) kanan.

Ventrikel kanan membentuk permukaan anterior jantung dengan ketebalan sekitar 4 – 5 mm (0,16 – 0,2 in.) dan bagian dalamnya dijumpai bubungan - bubungan yang dibentuk oleh peninggian serat otot jantung yang disebut trabeculae carneae. Ventrikel kanan dan ventrikel kiri dipisahkan oleh septum interventrikular. Darah mengalir dari ventrikel kanan melewati katup pulmonal ke arteri besar yang dinamakan trunkus pulmonal. Darah dari trunkus pulmonal kemudian dibawa ke paru – paru. Atrium kiri memiliki ketebalan yang hampir sama dengan atrium kanan dan membentuk hampir keseluruhan pangkal dari jantung. Darah dari atrium kiri mengalir ke ventrikel kiri melewati katup bikuspid (mitral) atau katup AV kiri. Ventrikel kiri merupakan bagian tertebal dari jantung, ketebalan sekitar 10 – 15 mm (0,4 – 0,6 in.) dan membentuk apeks dari jantung. Sama dengan ventrikel kanan, ventrikel kiri mempunyai trabeculae carneae dan

chordae tendineae yang menempel pada muskulus papilaris. Darah dari ventrikel kiri ini akan melewati katup aorta ke ascending aorta. Sebagian darah akan mengalir ke arteri koroner dan membawa darah ke dinding jantung (Tortora, 2012).



Gambar 3. Struktur anatomi jantung bagian dalam (Tortora, 2012)

## 2. Fisiologi Jantung

### a. Siklus Jantung

Siklus jantung terdiri dari periode sistol (kontraksi dan pengosongan isi) dan diastol (relaksasi dan pengisian jantung). Atrium dan ventrikel mengalami siklus sistol dan diastol yang terpisah. Kontraksi terjadi akibat penyebaran eksitasi ke seluruh jantung, sedangkan relaksasi timbul setelah repolarisasi jantung. Selama diastol ventrikel dini, atrium juga masih berada dalam keadaan diastol. Karena aliran masuk darah yang kontinu dari



sistem vena ke dalam atrium, tekanan atrium sedikit melebihi tekanan ventrikel walaupun kedua bilik tersebut melemas. Karena perbedaan tekanan ini, katup AV terbuka, dan darah mengalir langsung dari atrium ke dalam ventrikel selama diastol ventrikel. Akhirnya, volume ventrikel perlahan – lahan meningkat bahkan sebelum atrium berkontraksi.

Pada akhir diastol ventrikel, nodus sinoatrium (SA) mencapai ambang dan membentuk potensial aksi. Impuls menyebar ke seluruh atrium dan menimbulkan kontraksi atrium. Setelah eksitasi atrium, impuls berjalan melalui nodus AV dan sistem penghantar khusus untuk merangsang ventrikel. Ketika kontraksi ventrikel dimulai, tekanan ventrikel segera melebihi tekanan atrium. Perbedaan tekanan yang terbalik inilah yang mendorong katup AV tertutup. Setelah tekanan ventrikel melebihi tekanan atrium dan katup AV sudah menutup, tekanan ventrikel harus terus meningkat (Sherwood, 2001) sampai tekanan tersebut cukup untuk membuka katup semilunar (aorta dan pulmonal) (Guyton, 2006). Dengan demikian, terdapat periode waktu singkat antara penutupan katup AV dan pembukaan katup aorta. Karena semua katup tertutup, tidak ada darah yang masuk atau keluar dari ventrikel selama waktu ini. Interval ini disebut sebagai periode kontraksi ventrikel isometrik (Sherwood, 2001). Pada saat tekanan ventrikel kiri melebihi 80 mmHg dan tekanan ventrikel kanan melebihi 8 mmHg,

katup semilunar akan terdorong dan membuka. Darah segera terpompa keluar dan terjadilah fase ejeksi ventrikel. Pada akhir sistolik, terjadi relaksasi ventrikel dan penurunan tekanan intraventrikular secara cepat. Peningkatan tekanan di arteri besar menyebabkan pendorongan darah kembali ke ventrikel sehingga terjadi penutupan katup semilunar (Guyton, 2006). Tidak ada lagi darah yang keluar dari ventrikel selama siklus ini, namun katup AV belum terbuka karena tekanan ventrikel masih lebih tinggi dari tekanan atrium. Dengan demikian, semua katup sekali lagi tertutup dalam waktu singkat yang dikenal sebagai relaksasi ventrikel isovolumetrik.

b. Curah Jantung dan Kontrolnya

Curah jantung (cardiac output) adalah volume darah yang dipompa oleh tiap – tiap ventrikel per menit (bukan jumlah total darah yang dipompa oleh jantung). Selama satu periode waktu tertentu, volume darah yang mengalir melalui sirkulasi paru ekuivalen dengan volume darah yang mengalir melalui sirkulasi sistemik. Dengan demikian, curah jantung dari kedua ventrikel dalam keadaan normal identik, walaupun apabila diperbandingkan denyut demi denyut, dapat terjadi variasi minor. Dua faktor penentu curah jantung adalah kecepatan denyut jantung (denyut per menit) dan volume sekuncup (volume darah yang dipompa per denyut). Kecepatan denyut jantung rata – rata adalah 70 kali per menit,

yang ditentukan oleh irama sinus SA, sedangkan volume sekuncup rata – rata adalah 70 ml per denyut, sehingga curah jantung rata – rata adalah 4.900 ml/menit atau mendekati 5 liter/menit.

Kecepatan denyut jantung terutama ditentukan oleh pengaruh otonom pada nodus SA. Nodus SA dalam keadaan normal adalah pemacu jantung karena memiliki kecepatan depolarisasi spontan tertinggi. Ketika nodus SA mencapai ambang, terbentuk potensial aksi yang menyebar ke seluruh jantung dan menginduksi jantung berkontraksi. Hal ini berlangsung sekitar 70 kali per menit, sehingga kecepatan denyut rata – rata adalah 70 kali per menit. Jantung dipersarafi oleh kedua divisi sistem saraf otonom, yang dapat memodifikasi kecepatan serta kekuatan kontraksi. Saraf parasimpatis ke jantung yaitu saraf vagus mempersarafi atrium, terutama nodus SA dan nodus atrioventrikel (AV). Pengaruh sistem saraf parasimpatis pada nodus SA adalah menurunkan kecepatan denyut jantung, sedangkan pengaruhnya ke nodus AV adalah menurunkan eksitabilitas nodus tersebut dan memperpanjang transmisi impuls ke ventrikel. Dengan demikian, di bawah pengaruh parasimpatis jantung akan berdenyut lebih lambat, waktu antara kontraksi atrium dan ventrikel memanjang, dan kontraksi atrium melemah.

Sebaliknya, sistem saraf simpatis, yang mengontrol kerja jantung pada situasi – situasi darurat atau sewaktu berolahraga,

mempercepat denyut jantung melalui efeknya pada jaringan pemacu. Efek utama stimulasi simpatis pada nodus SA adalah meningkatkan keceptan depolarisasi, sehingga ambang lebih cepat dicapai. Stimulasi simpatis pada nodus AV mengurangi perlambatan nodus AV dengan meningkatkan kecepatan penghantaran. Selain itu, stimulasi simpatis mempercepat penyebaran potensial aksi di seluruh jalur penghantar khusus.

Komponen lain yang menentukan curah jantung adalah volume sekuncup. Terdapat dua jenis kontrol yang mempengaruhi volume sekuncup, yaitu kontrol intrinsik yang berkaitan dengan seberapa banyak aliran balik vena dan kontrol ekstrinsik yang berkaitan dengan tingkat stimulasi simpatis pada jantung. Kedua faktor ini meningkatkan volume sekuncup dengan meningkatkan kontraksi otot jantung. Hubungan langsung antara volume diastolik akhir dan volume sekuncup membentuk kontrol intrinsik atas volume sekuncup, yang mengacu pada kemampuan inheren jantung untuk mengubah volume sekuncup. Semakin besar pengisian saat diastol, semakin besar volume diastolik akhir dan jantung semakin teregang. Semakin teregang jantung, semakin meningkat panjang serat otot awal sebelum kontraksi. Peningkatan panjang menghasilkan gaya yang lebih kuat, sehingga volume sekuncup menjadi lebih besar. Hubungan antara volume diastolik

akhir dan volume sekuncup ini dikenal sebagai hukum Frank-Starling pada jantung.

Secara sederhana, hukum Frank-Starling menyatakan bahwa jantung dalam keadaan normal memompa semua darah yang dikembalikan kepadanya, peningkatan aliran balik vena menyebabkan peningkatan volume sekuncup. Tingkat pengisian diastolik disebut sebagai preload, karena merupakan beban kerja yang diberikan ke jantung sebelum kontraksi mulai. Sedangkan tekanan darah di arteri yang harus diatasi ventrikel saat berkontraksi disebut sebagai afterload karena merupakan beban kerja yang ditimpakan ke jantung setelah kontraksi di mulai. Selain kontrol intrinsik, volume sekuncup juga menjadi subjek bagi kontrol ekstrinsik oleh faktor – faktor yang berasal dari luar jantung, diantaranya adalah efek saraf simpatis jantung dan epinefrin (Sherwood, 2001).

c. Tekanan Darah

Tekanan darah adalah tekanan hidrostatis yang diakibatkan karena penekanan darah pada dinding pembuluh darah. Tekanan darah sistolik adalah tekanan darah tertinggi yang dicapai arteri selama sistol, sedangkan tekanan darah diastolik adalah tekanan darah terendah yang dicapai arteri selama diastol (Tortora, 2012).

### **E. Kardiotoxicitas**

Kardiotoxicitas adalah suatu bentuk kejadian toksisitas yang mempengaruhi kondisi organ jantung. Kejadian kardiotoxicitas menyebabkan penurunan fungsi jantung dan efisiensi dalam memompa darah keseluruh tubuh menjadi berkurang. Kejadian kardiotoxicitas memiliki relevansi yang erat dengan meningkatnya manajemen penggunaan obat-obatan anti kanker (Kerkela *et al*, 2006). Seiring dengan meningkatnya penggunaan obat-obatan untuk kanker, prevalensi kasus kardiotosik juga mengalami peningkatan (Brana dan Taberner 2010). Efek kardiotoxicitas dapat bersifat akut ataupun kronis, pada kejadian akut efek kardiotosik timbul cepat umumnya terjadi selama pemberian kemoterapi atau dalam tahun pertama pemberian kemoterapi, sedangkan pada kondisi kronis efek kardiotosik timbul lambat, paling tidak satu tahun setelah kemoterapi selesai. Pada penggunaan antibiotik golongan antrasiklin untuk kemoterapi, dampak kardiotosik akut lebih sedikit dibandingkan kardiotosik kronik. Umumnya pada kejadian kronis ditemukan dengan gejala subklinis, kelainan struktur, dan fungsi ventrikel kiri (Siahaan *et al*, 2007).

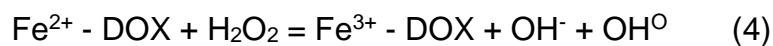
Efek kardiotoxicitas yang timbul akibat penggunaan obat anti kanker golongan antrasiklin, dalam hal ini doksorubisin sangat dipengaruhi oleh dosis kumulatif penggunaannya. Beberapa faktor lain yang juga mempegaruhi kejadian kardiotoxicitas tersebut diantaranya jadwal pemberian obat, usia pasien yang terlalu tua atau dibawah umur empat

tahun saat menerima terapi, kondisi hipertensi, penyakit jantung yang telah dialami sebelumnya, kromosom yang abnormal, dan gangguan fungsi hati (Jones *et al*, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Martha *et al* (2007), dosis kumulatif terendah doksorubisin sebesar 110-130 mg/m<sup>2</sup> sudah dapat menimbulkan gangguan fungsi diastolik ventrikel kiri jantung, sedangkan dosis kumulatif hingga 500 mg/m<sup>2</sup> menyebabkan kejadian kardi toksisitas dengan gejala congesti heart failure (CHF). Proses kardi toksik disebabkan oleh adanya pembentukan radikal bebas pada proses metabolisme obat kemoterapi, gangguan fungsi adrenergik, terbentuknya peroksida lipid, gangguan transportasi Ca dalam sarcollemma, dan terlepasnya TNF- $\alpha$  dan interleukin-2, serta sitokin terbebas dari jaringan tumor.

Obat kemoterapi golongan antrasiklin mengalami inaktivasi melalui proses konjugasi dengan sulfat atau glukuronida atau bila mengalami proses metilasi pada gugus metoksi pada posisi ke-4 cincin. Ciri khas golongan antrasiklin adalah kemampuan reaksi oksidasi dan reduksi secara reversibel. Bila obat mengalami pengurangan satu elektron pada kulit paling luar, maka akan terbentuk radikal bebas, yang terjadi melalui proses enzimatik oleh flavoenzim dengan bantuan NADPH atau NADH. Flavoenzim terdapat dalam bentuk NADPH sitokrom P450 reduktase, mitokondria NADH dehidrogenase dan santhine oxidase. Reaksi yang terjadi melalui proses ini akan menghasilkan radikal bebas semiquinone. Pada keadaan hipoksia, semiquinone dikonversi menjadi deoxyaglyone

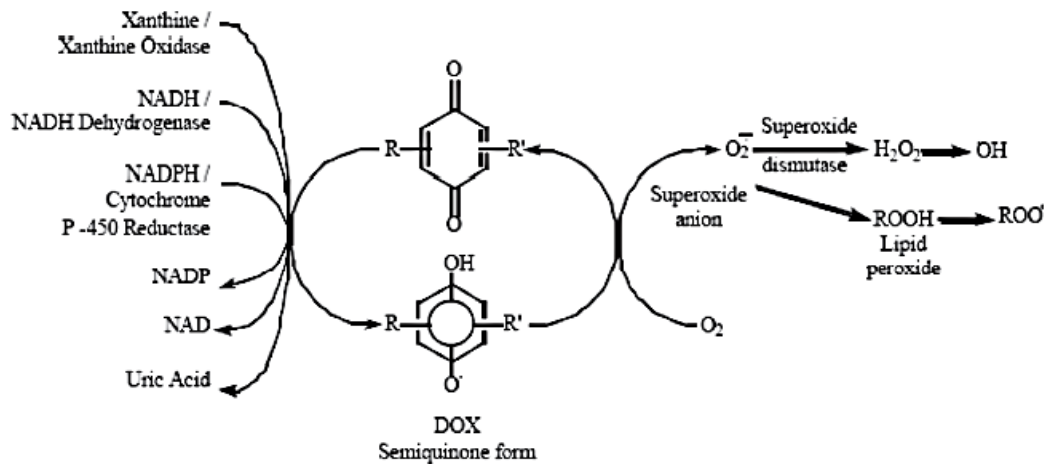
dan senyawa ini sangat reaktif, namun sebaliknya bila terjadi eliminasi gugus gula, reaksi yang terjadi adalah inaktivasi obat. Selain itu antrasiklin juga berikatan dengan besi membentuk chelate, yang pada akhirnya akan mengakibatkan terbentuknya radikal bebas. Dari semua faktor yang dapat menyebabkan terjadinya kardiotoxicitas, diduga faktor radikal bebas atau stres oksidatif memiliki peranan yang cukup besar untuk menyebabkan kondisi tersebut. Kondisi kardiotoxicitas akibat penggunaan doxorubisin terjadi melalui beberapa tahapan proses.

1. Doxorubisin akan membentuk chelate dengan besi, yaitu melalui ikatan oksigen yang terdapat pada rantai 11 dan 12



2. Cincin C pada antrasiklin berbentuk quinone, dapat mengalami reaksi reduksi oleh flavin dependent reduktase membentuk semiquinone. Bentuk semiquinone adalah bentuk radikal bebas. Bila terdapat oksigen, semiquinone akan memberikan elektron yang tidak berpasangan ke molekul oksigen sehingga terbentuklah superoxide anion  $\text{O}_2^{\bullet -}$ . Dengan terbentuk radikal bebas, antrasiklin akan kembali menjadi bentuk awal. Anion superoxide melalui proses enzimatik oleh superoxide dismutase akan membentuk molekul oksigen dan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Reaksi yang terjadi tertera pada Gambar 4.





Gambar 4. Proses Enzimatik

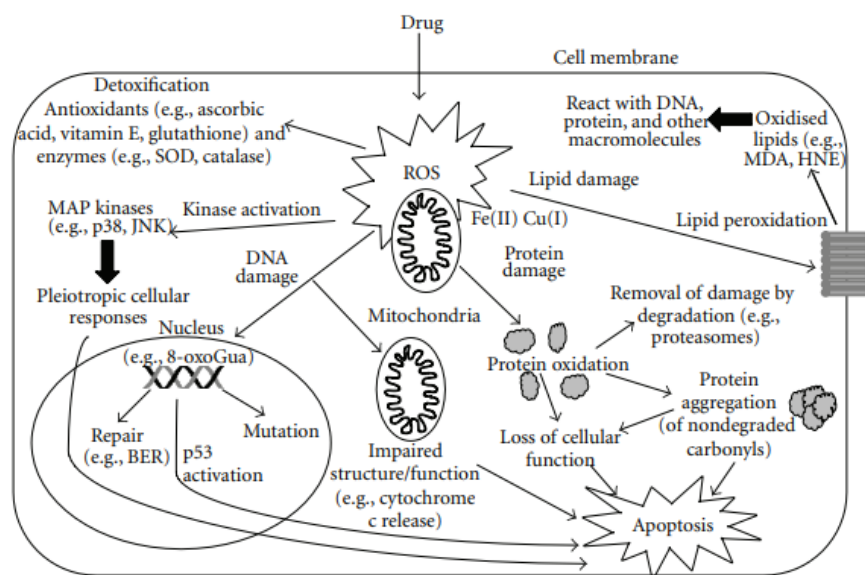
Eliminasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> merupakan tahapan yang penting, karena H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mampu memicu pembentukan radikal hidroksil suatu oksidan yang sangat reaktif dan destruktif. Hidrogen peroksida diinaktivasi oleh dua enzim, yaitu katalase dan glutathion peroksidase. Katalase mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen, sedangkan glutathion peroksidase memakai glutathion untuk mereduksi hidrogen peroksida menjadi air dan glutathion teroksidasi (Siahaan *et al*, 2007).

Pada organ jantung, jumlah enzim katalase yang dimiliki sangat sedikit sehingga proses inaktivasi hidrogen peroksida lebih banyak bergantung pada glutathion peroksidase dalam menetralkan efek antrasiklin dan radikal bebas yang terbentuk. Hal inilah yang menerangkan mengapa jantung lebih rentan mengalami toksisitas bila dibanding dengan organ lain. Bagian jantung yang paling banyak mengalami kerusakan adalah mitokondria dan retikulum sarkoplasma. Kerusakan organel sel akan

mengakibatkan kerusakan dan disfungsi miokardium (Siahaan et al. 2007).

Kardiotoksisitas yang disebabkan oleh obat ini dapat diklasifikasikan sebagai akut, subakut dan kronis, yang dapat lebih dikategorikan ke dalam tipe I (awal onset) dan tipe II (onset akhir). Tipe I kardiotoksisitas kronis memanifestasikan setidaknya satu tahun setelah selesainya kemoterapi, sebagian besar 1 tahun setelah kemoterapi, terutama sebagai fungsi okultisme ventrikel, gagal jantung kongestif, dan Kardiotoksisitas kronis tipe II biasanya disebabkan oleh antibodi yang ditargetkan biologis baru (Cai, 2019).

### **Target Seluler (ROS)**



Gambar 5. Efek utama dari stres oksidatif yang diinduksi obat dalam sel. Peningkatan ROS intraseluler dapat menyebabkan kerusakan DNA, oksidasi lipid dan protein. Jalur pensinyalan MAP kinase adalah mediator kunci dari respons seluler (Deavall DG *et al*, 2012).

Molekul kimia yang reaktif yang mengandung oksigen disebut spesies oksigen reaktif (ROS). Reaktivitas terjadi karena adanya elektron yang tidak berpasangan, tetapi ada juga spesies nonradikal reaktif seperti hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ). ROS dapat dihasilkan dari berbagai sumber baik endogen maupun eksogen. Salah satu sumber utama ROS dalam sel adalah mitokondria, dimana radikal superoksida  $\cdot O_2$  diproduksi sebagai produk sampingan dari fosforilasi oksidatif normal. Selain itu mendorong pembentukan ROS,  $\cdot O_2$  sangat reaktif terhadap oksida nitrat (NO) yang menghasilkan spesies nitrogen reaktif (RNS).

ROS secara normal diproduksi oleh tubuh, tubuh memiliki sistem pertahanan terhadap ROS meliputi aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, peroksidase, peran GSH, bilirubin dan lain-lain, sehingga tidak mencetuskan kerusakan oksidatif. Produksi radikal bebas yang berlebihan dan berkurangnya sistem pertahanan antioksidan akan menyebabkan kerusakan oksidatif.

DNA termasuk target seluler dari ROS. ROS menyebabkan oksidasi DNA sehingga memicu terbentuknya DNA yang dapat mengandung basa teroksidasi atau situs tanpa basa (apurinik dan apirimidinik). Produk DNA teroksidasi ini bersifat promutagenik karena dapat berinkorporasi secara tidak tepat. Makin tinggi kadar kerusakan DNA akan menyebabkan peningkatan kapasitas perbaikan seluler, mutasi, dan memicu apoptosis. Pengaturan respon seluler terhadap kerusakan.

DNA yang diinduksi ROS diperantarai oleh tumor supresor p53. p53 diaktifkan sebagai faktor transkripsi dan menginduksi gen target yang terlibat dalam penghentian siklus sel, perbaikan DNA dan apoptosis. Pada keadaan ROS yang sangat tinggi, kerusakan DNA yang sangat banyak menyebabkan akumulasi menetap atau aktivasi p53 sehingga menginduksi apoptosis dari sel yang rusak (Deavall DG *et al*, 2012).

## **F. Biomarker Kerusakan Jantung**

### **1. *Aspartate Aminotransferase (AST)***

Aspartate aminotransferase (AST) atau serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT) diperkenalkan sebagai petanda biokimia diagnosis IMA pada tahun 1954. Keterbatasan AST adalah spesifisitasnya yang rendah terhadap otot jantung, karena peningkatan kadarnya juga ditemukan pada kerusakan hati, otot skeletal, paru atau ginjal. Tidak ada isoenzim AST yang spesifik jantung. Saat ini pemeriksaan isoenzim AST sudah jarang digunakan (Nur, 2007).

### **2. *Lactate Dehidrogenase (LDH)***

LDH didapatkan pada semua sel yang bermetabolisme, dan jika sel rusak maka ditemukan peningkatan kadar LDH dalam serum. LDH serum total tidak spesifik terhadap suatu jaringan. Yang spesifik terhadap jaringan tertentu adalah isoenzimnya yang dikenal sebagai LDH1 sampai LDH5. LDH1 dan LDH2 ditemukan pada jantung, ginjal, otak dan sel darah merah. Isoenzim LDH3 ditemukan pada tiroid, kelenjar adrenal, kelenjar getah bening, pankreas, limpa, timus dan

leukosit. Isoenzim LDH4 dan LDH5 ditemukan pada hati dan otot skeletal.

Serum biasanya mengandung sejumlah kecil LDH1 dan sedikit lebih banyak LDH2. Setelah IMA, kadar LDH1 serum meningkat. Peningkatan terjadi 12 sampai 24 jam setelah IMA dan mungkin persisten selama 12 hari. Dari 5 subunit LDH yang ada, dua isoenzim jantung, LDH1 dan LDH2, tidak spesifik otot jantung, karena keduanya juga meningkat pada anemia pernisiiosa, kerusakan ginjal akut dan hemolysis (Nur, 2007)

### **3. *Creatine Kinase Isoenzyme MB (CK-MB)***

Sejak tahun 1960 pemeriksaan CK-MB isoenzim telah diterima secara luas sebagai standard emas untuk penetapan diagnosis IMA. Sampai saat ini CK-MB masih direkomendasikan sebagai protein petanda IMA. Dengan kemajuan teknologi dan perkembangan antibodi monoklonal telah merubah pengukuran pengukuran CK-MB kualitatif menjadi CK-MB kuantitatif (mass) yang lebih spesifik untuk nekrosis otot jantung. CK-MB terlepas dalam sirkulasi setelah IMA; paling cepat terdeteksi 3-4 jam setelah onset gejala dan tetap meningkat kira-kira 65 jam pasca infark. CKMB mass dilaporkan pada 50% diagnosis IMA setelah 3 jam pasca onset dan lebih dari 90% setelah 6 jam (Nur, 2007).

CKMB adalah enzim jantung yaitu Creatinin Kinase (CK) yang disusun oleh subunit M dan B. CK berperan sebagai pengatur produksi

fosfat berenergi tinggi dan pemanfaatannya untuk kontraksi jaringan. Secara umum, CK berperan sebagai perantara ikatan fosfat berenergi tinggi melalui keratin fosfat dari mitokondria ke sitoplasma. Sehingga, enzim ini terdapat pada jaringan yang memiliki kebutuhan energi yang tinggi seperti di tubulus ginjal dan otot jantung. CKMB banyak ditemukan di otot jantung, sehingga total serum CK dan konsentrasi CKMB meningkat ketika terjadi cedera pada miokardium, namun CKMB lebih spesifik pada cedera miokardium dibandingkan CK (Kemp.M, 2004). Kadar CKMB normal adalah  $\leq 24$  U/L dan ketika terjadi miokardial infark maka kadar CKMB akan meningkat  $> 24$  U/L (Sood, 2006). CKMB mulai terdeteksi pada 4 – 6 jam setelah adanya cedera dan mencapai puncak pada 12 – 24 jam, kemudian akan kembali normal setelah 48 – 72 jam. Kecepatan kembali ke normal pada CKMB dimanfaatkan untuk mendeteksi adanya infark berulang (Kemp.M, 2004).

#### **4. *Myoglobin dan Carbonic Anhydrase III (CA III)***

Mioglobin adalah protein heme berukuran kecil (berat molekul 17,8 kDa) yang membawa oksigen yang terdapat pada sel-sel otot skeletal dan jantung. Mioglobin merupakan 2% dari protein otot total dan terdapat dalam sitoplasma. Hubungan antara mioglobinemia dan IMA dilaporkan pertama kali pada tahun 1975. Mioglobin merupakan petanda paling dini untuk diagnosis IMA. Peningkatan yang lebih awal karena ukuran molekulnya yang kecil dan cepat menuju sirkulasi tanpa

melalui saluran limfe setelah jejas otot. Mioglobin terdapat dalam serum 1-3 jam setelah jejas, mencapai puncaknya 4-12 jam dan kembali normal dalam 24- 36 jam karena klirens ginjal yang cepat. Peningkatan kadar mioglobin terdeteksi lebih dari 2/3 pasien IMA pada 3 jam dan hampir terdeteksi pada semua pasien IMA pada 6 jam setelah onset nyeri. Penelitian sebelumnya menunjukkan peningkatan sensitivitas pemeriksaan mioglobin pada IMA, dari 50-60 % menjadi 100%, jika dilakukan pemeriksaan sampel darah segera serial setiap 2 jam dan kadarnya meningkat 2 kali pada sampel kedua. Spesifisitas juga meningkat menjadi 98% pada pemeriksaan serial. Jika kadarnya tidak meningkat dalam 3 sampai 6 jam pertama setelah onset chest discomfort, menunjukkan tidak ada IMA.

Keterbatasan mioglobin adalah tidak spesifik untuk otot jantung. Peningkatan kadar juga ditemukan pada penyakit otot, syok dan gagal ginjal dan setelah olah raga yang berlebihan. Operasi by pass jantung dan konsumsi alkohol berat juga meningkatkan kadar mioglobin. Faktor ras, seks dan usia juga mungkin mempengaruhi kadar normal mioglobin. Kadar mioglobin meningkat sesuai dengan usia lebih tinggi pada laki-laki dibanding perempuan. Kontroversi lain adalah tentang kadar mioglobin yang menunjukkan adanya IMA, dengan rentang rujukan 50 sampai 120  $\mu\text{g/mL}$ . Karena variabel-variabel ini, maka sensitivitas dan spesifisitas uji mioglobin juga bervariasi, tergantung pada kriteria definisi diagnosis IMA.

Spesifisitas pemeriksaan mioglobin untuk IMA dapat ditingkatkan dengan memonitor petanda tambahan, carbonic anhydrase III (CA III). CA III merupakan protein sitoplasmik yang terutama ditemukan pada otot skelet dan sedikit pada otot jantung. Kerusakan otot skelet menyebabkan pelepasan mioglobin dan CA III, sedangkan kerusakan otot jantung terutama menyebabkan pelepasan mioglobin. Rentang normal untuk CA-III adalah 13 sampai 29  $\mu\text{g/L}$ . Kadar mioglobin lebih dari 110  $\mu\text{g/L}$  dan rasio mioglobin terhadap CA III  $>3,21$  menunjukkan IMA. Penelitian menunjukkan rasio mioglobin terhadap CA III akan tetap konstan pada kerusakan otot skelet, tetapi akan meningkat pada kerusakan miokard (Nur, 2007).

## **5. Troponin Jantung**

Kemampuan untuk mengukur protein kontraktile (troponin) adalah tonggak sejarah dalam diagnosis jejas miokard. Saat ini troponin (T atau I) adalah petanda biokimia yang lebih dipilih untuk jejas miokard. Troponin memperbaiki CKMB dalam spesifisitas, sensitivitas dan lebih lamanya time window untuk mendeteksi kejadian kardiak (Nur, 2007). Troponin merupakan protein spesifik yang berasal dari otot jantung yang terdiri dari 3 subunit yaitu T, I, dan C dimana fungsinya adalah untuk regulasi kontraksi otot jantung dan otot rangka khususnya pada regulasi aktin dan myosin otot. Troponin T yang terdapat di intraseluler berikatan dengan miofibril di miosit jantung, sehingga Troponin T yang berada di cytosolic pool sebesar 6 – 8 %



saja, fungsi dari cytosolic pool adalah sumber keluarnya troponin apabila terjadi cedera pada pembuluh darah. Pelepasan troponin dimulai 4 – 6 jam setelah cedera, mencapai puncak pada 12 – 24 jam, kemudian akan menjadi normal kembali setelah 7 – 10 hari. *National Academy of Clinical Biochemistry and the Joint ESC/ACC Committee for Redefinition of Myocardial Infarction* merekomendasikan troponin sebagai penanda untuk evaluasi sindrom koroner akut (Kemp.M, 2004).

Troponin I hanya petanda terhadap jejas miokard, tidak ditemukan pada otot skeletal selama pertumbuhan janin, setelah trauma atau regenerasi otot skeletal. Troponin I sangat spesifik terhadap jaringan miokard, tidak terdeteksi dalam darah orang sehat dan menunjukkan peningkatan yang tinggi di atas batas atas pada pasien dengan IMA. Troponin I lebih banyak didapatkan pada otot jantung daripada CKMB dan sangat akurat dalam mendeteksi kerusakan jantung. Troponin I meningkat pada kondisi-kondisi seperti miokarditis, kontusio kardiak dan setelah pembedahan jantung. Adanya cTnI dalam serum menunjukkan telah terjadi kerusakan miokard.

Troponin I mulai meningkat 3 sampai 5 jam setelah jejas miokard, mencapai puncak pada 14 sampai 18 jam dan tetap meningkat selama 5 sampai 7 hari. Troponin I mempunyai sensitivitas 100% pada 6 jam setelah IMA. Troponin I adalah petanda biokimia IMA yang ideal oleh karena sensitivitas dan spesifisitasnya serta

mempunyai nilai prognostik pada ATS. Petanda biokimia ini tidak dipengaruhi oleh penyakit otot skeletal, trauma otot skeletal, penyakit ginjal atau pembedahan. Spesifisitas cTnI terutama sangat membantu dalam mendiagnosis pasien dengan problem fisik yang kompleks. Kekurangan cTnI adalah lama dalam serum, sehingga dapat menyulitkan adanya re-infark. Tetapi dari sudut lain adanya peningkatan yang lama ini, berguna untuk mendeteksi infark miokard jika pasien masuk rumah sakit beberapa hari setelah onset nyeri dada menggantikan peran isoenzim LDH (Nur, 2007).

### **G. Tikus Putih**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan hewan percobaan yang sering digunakan pada penelitian biomedis, pengujian, dan pendidikan. Hal ini dikarenakan genetik yang terkarakteristik dengan baik, galur yang bervariasi dan tersedia dalam jumlah yang banyak. Tikus dan mencit yang digunakan untuk kepentingan penelitian atau laboratorium merupakan jenis albino yang kehilangan pigmen melaninnya (Barnett and Anthony, 2002).

Jenis tikus yang paling umum digunakan adalah jenis albino galur Sprague Dawley (SD), Wistar, dan Long Evans. Galur SD dan Wistar merupakan outbred stocks yang merujuk pada hewan yang secara genetik tidak identik atau tidak seragam.

Taksonomi dari tikus putih adalah sebagai berikut (Maley and Komasa, 2003):

Kingdom : Animalia  
Divisi : Chordata  
Kelas : Mammalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridae  
Subfamili : Murinae  
Genus : Rattus  
Spesies : *Rattus norvegicus*

Perkawinan antara tikus dilakukan secara acak atau dengan cara menerapkan skema rancangan perkawinan. Hal ini dilakukan untuk menghindari akibat dari inbreeding yaitu menjaga keragaman genetik dan mencegah terjadinya stres. Beberapa keuntungan dari penggunaan outbred stocks antara lain rentang hidup yang panjang, resistensi terhadap penyakit yang tinggi, ukuran yang besar, pertumbuhan dan fertilitas yang cepat (Suckow *et al.*, 2006).

Tikus Wistar merupakan salah satu galur tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium yaitu sebagai model dalam penelitian biomedik (Johnson, 2012). Tikus Wistar (albino) dikembangkan pertama kali di Wistar Institute Philadelphia pada tahun 1906 dengan nama katalog WISTARAT® (Wistar Institute, 2016) dengan karakteristik kepala tikus yang lebar, telinga panjang, dan memiliki panjang ekor yang kurang dari panjang tubuhnya. Tikus Wistar lebih aktif (agresif) dari pada jenis lain seperti tikus Sprague-Dawley (Sirois, 2005).

Galur tikus Sprague-Dawley (SD) dan Long-Evans dikembangkan dari tikus galur Wistar. Galur ini berasal dari peternakan Sprague-Dawley, Madison, Wisconsin. Ciri-cirinya bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga yang tebal dan pendek dengan rambut halus. Mata tikus putih berwarna merah dan ciri yang paling terlihat adalah ekornya yang lebih panjang dari tubuhnya. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram (Sirois, 2005). Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian karena perkembangbiakannya yang cepat, memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak dan temperamennya yang baik (Sharp *et al*, 2012).

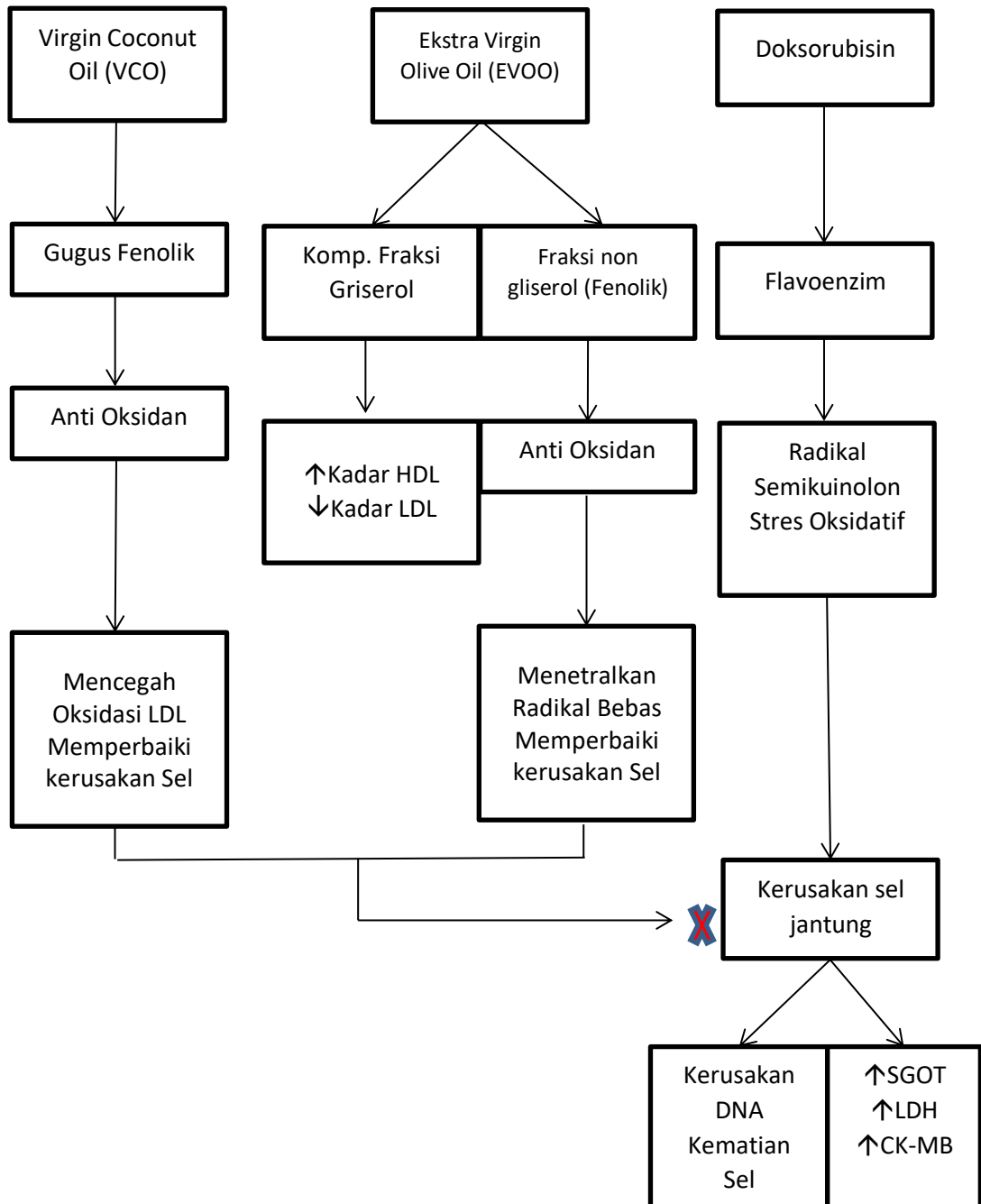
Tikus laboratorium hidup sekitar 2-3 tahun (rata-rata 3 tahun) sedangkan harapan hidup manusia di seluruh dunia adalah 80 tahun. Masa hidup tikus dengan manusia dapat dihitung dengan  $(80 \times 365) \div (3 \times 365) = 26,7$  hari manusia = 1 hari tikus; dan  $365 \div 26,7 = 13,8$  hari tikus = 1 tahun manusia. Dengan demikian, satu tahun manusia hampir sama dengan dua minggu tikus (13,8 hari tikus) (Sengupta, 2013).

Volume dosis pemberian oral pada tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) idealnya adalah <10 ml/kg. Contoh: untuk tikus dengan bobot 250 g volume maksimal yang dapat diberikan adalah 2,5 ml (CCAC, 2015).

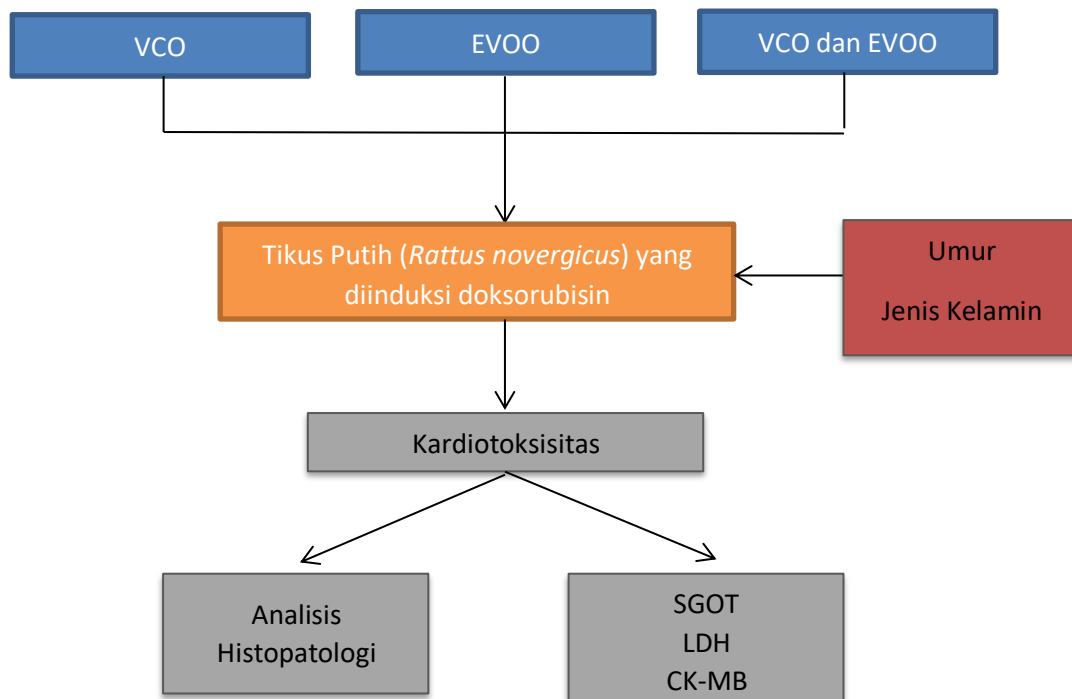
Tabel 3. Konversi dosis manusia ke hewan berdasarkan luas permukaan tubuh (Shin, J.W., 2010; Nair and Jacob 2016)

Spesies	Berat badan (kg)	Rentang Berat badan (kg)	Luas permukaan tubuh (m <sup>2</sup> )	Faktor km	Faktor konversi
Manusia	60	-	1,6	37	1,00
Tikus	0,15	0,080 – 0,270	0,025	6	6,17
Mencit	0,02	0,011-0,034	0,007	3	12,33
Hamster	0,08	0,047-0,157	0,02	5	7,40
Kelinci	1,8	0,9-3,0	0,15	12	3,08
Anjing	10	5 – 17	0,5	20	1,85
Monyet	3	1,4 – 4,9	0,24	12	3,08
Baboon	12	7 – 23	0,6	20	1,85

## H. Kerangka Teori



## I. Kerangka Konsep



### Keterangan

Variabel bebas

Variabel antara

Variabel tergantung

Variabel kendali