

TESIS

**EFEK KARDIOPROTEKTIF KOMBINASI *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL*
(*EVOO*) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (*VCO*) DALAM MENCEGAH
INFARK MIOKARDIUM PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
ISOPROTERENOL**

*THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF EXTRA VIRGIN OLIVE OIL
(EVOO) AND VIRGIN COCONUT OIL (VCO) COMBINATION IN
PREVENTING MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS
INDUCED BY ISOPROTERENOL*

SYAADATUN NADIAH

N012211015



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**EFEK KARDIOPROTEKTIF KOMBINASI *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL*
(EVOO) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DALAM MENEGAH
INFARK MIOKARDIUM PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
ISOPROTERENOL**

SYAADATUN NADIAH

N012211015



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**THE CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF EXTRA VIRGIN OLIVE OIL
(EVOO) AND VIRGIN COCONUT OIL (VCO) COMBINATION IN
PREVENTING MYOCARDIAL INFARCTION IN RATS
INDUCED BY ISOPROTERENOL**

SYAADATUN NADIAH

N012211015



**GRADUATE PROGRAM
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR, INDONESIA
2023**

**EFEK KARDIOPROTEKTIF KOMBINASI *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL*
(EVOO) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DALAM MENCEGAH
INFARK MIOKARDIUM PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
ISOPROTERENOL**

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Ilmu Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

SYAADATUN NADIAH

N012211015

Kepada

**PROGRAM MAGISTER STUDI ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
2023**

TESIS
EFEK KARDIOPROTEKTIF KOMBINASI *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL*
(EVOO) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DALAM MENCEGAH
INFARK MIOKARDIUM PADA TIKUS YANG DIINDUKSI
ISOPROTERENOL

SYAADATUN NADIAH
NIM: N012211015

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada tanggal Maret 2023 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

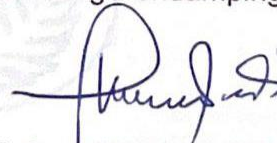
Menyetujui

Pembimbing Utama



Yulia Yusrini Djibir, S.Si., M.Si., MBM.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19780728 200212 2 003

Pembimbing Pendamping



dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D
NIP. 19760820 200212 1 003

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Farmasi



Muhammad Aswad, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt
NIP.19800101 200312 1 004

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin



Prof. Dr. rer. nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "EFEK KARDIOPROTEKTIF KOMBINASI *EXTRA VIRGIN OLIVE OIL* (EVOO) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) DALAM MENCEGAH INFARK MIOKARDIUM PADA TIKUS YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing (Yulia Yusrini Djabir, S.Si., M.Si, MBM.Sc, Ph.D., Apt. sebagai Pembimbing Utama dan dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D. sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.



Makassar, 3 Maret 2023

Syaadatun Nadiyah
N012211015

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Dalam pembuatan Tesis penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Yulia Yusrini Djabir, M.Si, MBM.Sc, Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan dosen penasehat akademik yang telah membimbing, memberikan arahan dan motivasi, serta telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan masa studinya selama di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
2. dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan serta saran dan telah meluangkan waktu kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tesis ini.
3. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt; Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt; Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tesis ini.
4. Dekan, Wakil Dekan, seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, bantuan, dan fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan Tesis ini.
5. Kedua orang tua tercinta Ibu Hasnidar dan Bapak Hadia Mashur serta adik M. Idris Hidayatullah atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril maupun materiil.
6. Kepada Dinas Pendidikan dan Kebudayaan Provinsi Kalimantan Timur yang

telah memberikan beasiswa “Beasiswa KALTIM TUNTAS”.

7. Terima Kasih Kepada sahabat saya, apt. Fitriani W. Alani, S.Farm., M.Biomed. atas waktu, ilmu, dan dukungan yang melimpah diberikan selama proses penelitian berlangsung.
8. Teman-teman pascasarjana angkatan 2021, yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman selama menjadi mahasiswa Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
9. Semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat disebutkan namanya satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan Tesis masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya ilmu farmasi. Aamiin.

Makassar, Maret 2023

Syaadatun Nadiyah

ABSTRAK.

SYAADATUN NADIAH. **Efek Kardioprotektif Kombinasi *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dalam Mencegah Infark Miokardium pada Tikus yang Diinduksi Isoproterenol** (dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Aryadi Arsyad).

Myocardial infraction (MI) adalah suatu kondisi di mana jaringan miokard mengalami kekurangan nutrisi dan oksigen, yang menyebabkan nekrosis. Konsumsi *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) secara rutin diyakini dapat memberikan manfaat untuk meningkatkan fungsi kardiovaskular. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji efek kardioprotektif dari kombinasi EVOO dan VCO dan rasio optimalnya terhadap MI yang diinduksi isoproterenol pada tikus. Komponen kimia EVOO dan VCO dianalisis menggunakan Kromatografi Gas-Spektrofotometri Massa (GC-MS). Tikus (n=30) dibagi menjadi lima kelompok: kelompok sehat, kelompok isoproterenol tanpa perlakuan, dan kelompok isoproterenol diberi pra-perlakuan kombinasi EVOO:VCO dengan perbandingan 1:1, 1:2, dan 2:1 (2 ml/200 g) secara oral selama 14 hari sebelum diberikan isoproterenol (100 mg/kg) secara subkutan selama dua hari berturut-turut. Setelah 24 jam, sampel darah diambil untuk dianalisis Creatine Kinase-MB (CK-MB) dan Lactate Dehydrogenase (LDH). Setelah itu organ jantung diambil untuk dilakukan pemeriksaan histopatologi. Analisis GC-MS menunjukkan bahwa EVOO dan VCO mengandung 55 dan 49 senyawa kimia. MI ditandai dengan peningkatan substansial CK-MB dan LDH dan pemberian kombinasi EVOO:VCO pada semua rasio sebelum isoproterenol secara signifikan menurunkan kadar CK-MB ($p < 0,0001$) dan LDH ($p < 0,05$). Hal tersebut konsisten dengan histopatologi jantung yang menunjukkan penghambatan kerusakan struktural. Kombinasi EVOO:VCO pada semua rasio memiliki efek kardioprotektif yang secara signifikan menurunkan kadar CK-MB, LDH, dan kerusakan struktur jantung yang ditunjukkan dengan rasio 1:2 dan 2:1 pada tikus yang diinduksi isoproterenol. Penelitian lebih lanjut mengenai parameter stres oksidatif dapat dilakukan.

Kata Kunci: Minyak Zaitun *Extra Virgin*, *Virgin Coconut Oil*, Kardioprotektif, Isoproterenol, Infark Miokardium.

ABSTRACT.

SHADATUN NADIAH. **Effect Cardioprotective Of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) And Virgin Coconut Oil (VCO) Combination In Preventing Myocardial Infarction in Rats Induced by Isoproterenol** (supervised by Yulia Yusrini Djabir and Aryadi Arsyad).

Routine consumption of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) and Virgin Coconut Oil (VCO) is believed to offer benefits to improve cardiovascular function. This study was aimed to examine the cardioprotective effect of EVOO and VCO combination and its optimum ratio against isoproterenol-induced MI in rats. The Chemical components of EVOO and VCO were analyzed using Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS). Rats (n=30) divided into five groups: the healthy group, the isoproterenol group without treatment, and the isoproterenol group that received pre-treatment of EVOO:VCO combination with a ratio of 1:1, 1:2, and 2:1 (2 ml/200 g) orally for 14 days before subcutaneous injection of isoproterenol (100 mg/kg) for two days in a row. After 24 hours, blood samples were collected for Creatine Kinase-MB (CK-MB) and Lactate Dehydrogenase (LDH) analysis. Afterward cardiac organs were collected for histopathological analysis. GC-MS analysis showed that EVOO and VCO contained 55 dan 49 chemical compounds. MI was observed via substantial elevation of CK-MB and LDH and administration of the EVOO:VCO combination in all ratios before isoproterenol injection significantly reduced levels of CK-MB ($p < 0.0001$) and LDH ($p < 0.05$). Those are consistent with the cardiac histopathological data where it shown inhibition of structural damage. In conclusion, the EVOO:VCO combination in all ratios had a cardioprotective effect where it was significantly reduced CK-MB, LDH, and the cardiac structure damage shown by ratio 1:2 and 2:1 in rats that received isoproterenol induction. Further studies regarding the parameters of oxidative stress can be carried out.

Keywords: Extra Virgin Olive Oil, Virgin Coconut Oil, Cardioprotective, Isoproterenol, Myocardial Infraction.

DAFTAR ISI

TESIS	i
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA	Error!
Bookmark not defined.	
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.	vii
BAB I	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.2 Manfaat Teoritis.....	4
1.4.3 Manfaat Klinis	4
BAB II	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Infark Miokardium Akut.....	5
2.1.1 Definisi dan Epidemiologi	5
2.1.2 Faktor Risiko.....	5
2.1.3 Klasifikasi Infark Miokardium.....	6
2.1.4 Patofisiologi	6
2.2 Isoproterenol (ISO).....	7
2.3 Extra Virgin Olive Oil (EVOO).....	8
2.3.1 Gambar Tanaman dan EVOO	8
2.3.2 Klasifikasi Tanaman.....	8
2.3.3 Morfologi, Kandungan Kimia dan Kegunaan Tanaman	9
2.4 VCO (Virgin Coconut Oil)	10
2.4.1 Gambar Tanaman dan VCO	10
2.4.2 Klasifikasi Tanaman.....	10
2.4.3 Morfologi, Kandungan kimia, dan kegunaan Tanaman	11
2.5 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).....	12
2.6 CK-MB	13
2.7 LDH.....	14
2.8 Pemeriksaan Histologi	15

2.9	Kerangka Teori	17
2.10	Kerangka Konsep.....	18
BAB III		19
METODE PENELITIAN.....		19
3.1	Desain Penelitian.....	19
3.2	Variabel Penelitian.....	19
3.2.1	Variabel Independen.....	19
3.2.2	Variabel Dependen	19
3.2.3	Variabel Antara.....	19
3.2.4	Variabel Kontrol.....	19
3.3	Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.3	Populasi dan Sampel.....	20
3.3.1	Populasi Penelitian.....	20
3.3.2	Kriteria Inklusi	20
3.3.3	Kriteria Eksklusi.....	20
3.3.4	Besar Sampel.....	20
3.4	Alat dan Bahan	21
3.4.1	Alat	21
3.4.1	Bahan	21
3.5	Prosedur Penelitian	21
3.5.1	Pengujian GC-MS	21
3.5.2	Preliminary Study	22
3.5.3	Pemeliharaan Hewan Coba	22
3.5.4	Pemberian variasi kombinasi dari EVOO dan VCO	23
3.5.5	Pemodelan Infark Miokardium melalui induksi Isoproterenol.....	24
3.5.6	Pengambilan Sampel Darah	24
3.5.7	Pemeriksaan Kadar CK-MB	24
3.5.8	Pemeriksaan Kadar LDH.....	26
3.5.9	Pemeriksaan Histologi Jantung	26
3.6	Definisi Operasional.....	27
3.7	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik	29
3.8	Analisis Statistik.....	29
BAB IV		30
HASIL DAN PEMBAHASAN		30
4.1	Hasil	30
4.1.1	Preliminary Study	30
4.1.2	Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	31
4.1.3	Hasil Pengukuran Kadar Biomarker Jantung.....	36
4.1.4	Hasil Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung	39

4.2 Pembahasan	44
4.2.1 Kandungan Senyawa.....	44
4.2.2 Biomarker.....	46
4.2.3 Histopatologi.....	47
4.3 Limitasi Penelitian	49
BAB V	50
KESIMPULAN DAN SARAN	50
5.1 Kesimpulan	50
5.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Gambar tanaman dan EVOO.....	8
Gambar 2. Gambar tanaman dan VCO.....	10
Gambar 3. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus <i>preliminary</i> ISO...30	
Gambar 4. Hasil Peak pada pengukuran EVOO menggunakan GC-MS.....	32
Gambar 5. Hasil Peak pada pengukuran VCO menggunakan GC-MS.....	34
Gambar 6. Diagram Rata-Rata kadar CK-MB.....	37
Gambar 7. Diagram Rata-Rata Kadar LDH.....	38
Gambar 8. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus Kelompok Normal.....	40
Gambar 9. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus Kelompok Isoproterenol 100 mg/kgBB.....	41
Gambar 10. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus Kelompok Kombinasi EVOO:VCO rasio 1:1 (10mL/kg).....	42
Gambar 12. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus Kelompok Kombinasi EVOO:VCO rasio 1:2 (10mL/kgBB).....	43
Gambar 13. Gambaran Histopatologi Jaringan Jantung Tikus Kelompok Kombinasi EVOO:VCO rasio 2:1 (10mL/kgBB).....	44
Gambar 13. Transesterifikasi.....	60
Gambar 14. Proses injeksi sampel pada GC-MS.....	60
Gambar 15. <i>Record</i> data komponen senyawa kimia dari EVOO dan VCO).....	60
Gambar 16. Isoproterenol 100 mg/kgBB yang telah dilarutkan dengan NaCl (0,9%).....	61
Gambar 17. Tikus Putih Jantan " <i>Rattus norvegicus</i> ".....	61
Gambar 18. Tikus yang telah di bedah.....	61
Gambar 19. Organ jantung tikus.....	61
Gambar 20. Pembuatan parafin blok.....	62
Gambar 20. Pemotongan <i>slide/ preparate</i> histopatologi.....	62
Gambar 22. Pewarnaan Hematoksilin & eosin.....	62

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Definisi Operasional pada penelitian.....	27
Tabel 2. Hasil Hispatologi Tikus <i>Preliminary Study</i> berdasarkan derajat kerusakan pada tiap perlakuan.....	30
Tabel 3. Daftar hasil komponen senyawa kimia yang terkandung pada EVOO..	32
Tabel 4. Daftar hasil komponen senyawa kimia yang terkandung pada VCO....	34
Tabel 5. Perbandingan kandungan FA dari EVOO dan VCO.....	36
Tabel 6. Efek kardioprotektif dari <i>extra virgin olive oil</i> (EVOO) dan <i>virgin coconut oil</i> (VCO) pada aktivitas <i>creatine kinase-MB</i> (CK-MB) dan <i>laktat dehidrogenase</i> (LDH).....	36
Tabel 7. Perubahan histopatologi dan skor kerusakan.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Preliminary Study</i>	58
Lampiran 2. Skema Kerja.....	59
Lampiran 3. Proses GC-MS dari EVOO:VCO.....	60
Lampiran 4. Larutan ISO 100 mg/kgBB.....	61
Lampiran 5. Tikus.....	61
Lampiran 6. Pengambilan Organ Jantung Tikus.....	61
Lampiran 7. Proses Histopatologi.....	62
Lampiran 8. Data Penelitian dan analisis data CK-MB dan LDH.....	63
Lampiran 9. Data Penelitian dan analisis data Histologi Jaringan Jantung.....	65
Lampiran 10. Izin Etik.....	71
Lampiran 11. Fragmentasi GC-MS (EVOO).....	72
Lampiran 12. Fragmentasi GC-MS (VCO).....	77

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Kepanjangan
ACE	: Angiotensin Converting Enzyme
ADP	: Adenosine Diphosphate
ATP	: Adenosine Triphosphate
CABG	: Coronary Artery Baypass
cAMP	: Adenosine Monophosphate cyclic
CH ₃ COOH	: Asam Asetat
CK-MB	: Creatine Kinase-Myocardial Band
CRP	: C-Reactive Protein
CVD	: Cardiovascular Disease
DME	: Direct Micro Expelling
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
EDTA	: Ethylenediaminetetraacetic Acid
EKG	: Electrocardiograph
EVOO	: Extra Virgin Olive Oil
FA	: Fatty Acid
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
GSH	: Glutathione
H&E	: Hematoksin dan Eosin
HPO	: Heated Palm Oil
IKK	: Inhibitor Kappa Kinase
ISO	: Isoproterenol
KEPK	: Komisi Etik Penelitian Kesehatan
LCFA	: Long Chain Fatty Acid
LDH	: Lactate Dehydrogenase
LDL	: Low Density Lipoprotein
LPO	: Lipid Peroxidase
MCFA	: Medium Chain Fatty Acid
MED	: Mediterranean
MI	: Myocardial Infraction
MUFA	: Monounsaturated Fatty Acid
NADH	: Nicotinamide adenine Dinucleotide
NF-kB	: Nuclear Factor Kappa B
NSTEMI	: Non-ST-Elevasi Segmen
PCI	: Percutaneous Coronary Intervention
PI3K	: Phosphatidyl-Inositol 3 Kinase
PKA	: Protein Kinase A
PKB/AKT	: Protein Kinase B
PUFA	: Polyunsaturated Fatty Acid
RNA	: Ribonucleic Acid
ROS	: Reactive Oxygen Species
SCFA	: Short Chain Fatty Acid
SFA	: Saturated Fatty Acid

SOD : Superoxide dismutase
SPSS : Statistical Program for Social Science
STEMI : ST-Elevasi Segmen
TNF- α : Tumor Neutrofil factor Alpha
VCO : Virgin Coconut Oil

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab kematian tertinggi dibandingkan dengan 4 kematian utama lainnya seperti kanker, penyakit paru-paru, kecelakaan, dan diabetes. Lebih dari 60% kematian akibat penyakit kardiovaskular terjadi tanpa adanya riwayat penyakit jantung sebelumnya, dan 70% di antaranya mengalami infark miokardium (Dobesh, DiDomenico *et al.* 2020, Severino, D'Amato *et al.* 2020, Smit, Coetzee *et al.* 2020). Infark miokardium merupakan diferensiasi dari terjadinya cedera miokardium (Thygesen, Alpert *et al.* 2018). Infark miokardium sebagian besar berawal dari adanya penyakit arteri koroner sehingga menyebabkan terjadinya kekurangan oksigen pada miokardium. Kekurangan suplai oksigen yang berkepanjangan pada miokardium menyebabkan kematian dan nekrosis sel miokardium (Ojha and Dhamoon 2022). Menurut Riskesdas tahun 2018, prevalensi penyakit jantung di Indonesia sebesar 1,5%, pada karakteristik usia 65 tahun meningkat sebesar 4,6% dan penyakit jantung yang terjadi pada wanita sebesar 1,6% sedangkan laki-laki sebesar 1,3% (RI 2018).

Isoproterenol (ISO) merupakan golongan obat agonis reseptor adrenergik β -1 dan β -2. Pemberian ISO dapat menyebabkan terjadinya peningkatan detak jantung, kontraktilitas jantung, relaksasi pada otot polos (bronkial, gastrointestinal, dan uterus), serta vasodilatasi perifer (Szymanski and Singh 2022). Hal tersebut terjadi melalui mekanisme jalur protein-G di mana teraktivasi protein-G α kemudian akan mengaktifkan adenilat siklase yang mengubah ATP menjadi cAMP. Peningkatan cAMP akan mengaktifkan protein kinase A (PKA) yang akan memfosforilasi kanal kalsium tipe-L pada miosit jantung sehingga terjadi peningkatan kalsium intraseluler (Garg and Khanna 2014, Szymanski and Singh 2022). ISO dapat menyebabkan terjadinya infark miokardium ketika diberikan dengan dosis tinggi (Afroz, Tanvir *et al.* 2016, Mechanic, Gavin *et al.* 2022). Telah dibuktikan dari penelitian-penelitian sebelumnya bahwa ISO memicu terjadinya infark miokardium melalui peningkatan kalsium intraseluler, selain itu terdapatnya pembentukan radikal bebas seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan

peroksidasi lipid (LPO) (Nichtova, Novotova *et al.* 2012, Afroz, Tanvir *et al.* 2016, Mohamed, Abduldaium *et al.* 2021). Berdasarkan hal yang tersebut diperlukan kardioprotektif yang dapat melindungi jantung yang memiliki antioksidan dan memperbaiki metabolisme tubuh dengan baik.

Kandungan FA yang tinggi dan senyawa antioksidan yang memiliki potensi sebagai kardioprotektif dapat ditemukan pada *Virgin Coconut Oil* (VCO) dan *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO). VCO dan EVOO merupakan minyak yang dihasilkan dari buah kelapa (*Cocos nucifera* L.) dan zaitun (*Olea europaea* L.), VCO dan EVOO memiliki kandungan yang baik bagi kesehatan (Kalogiouri, Aalizadeh *et al.* 2018) (Latri, Andi *et al.* 2020).

VCO mengandung asam kaprat, asam kaproat, dan asam laurat sebagai sumber antioksidan (Kamri, Rahmawati *et al.* 2021). VCO memiliki beberapa efek antioksidan seperti antithrombogenik, antiatritis, anti hiperlipidemia, kardioprotektif, anti osteoporosis, anti inflamasi, antimikroba, hepatoprotektif, dan neuroprotektif (Kamri, Rahmawati *et al.* 2021). EVOO mengandung asam lemak yang kaya akan asam oleat dalam bentuk triasilgliserol, kandungan polifenol, dan vitamin E (Kamri, Rahmawati *et al.* 2021). EVOO memiliki efek biologis yang berpotensi memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, dan anti inflamasi (Yubero-Serrano, Lopez-Moreno *et al.* 2019). Efek proteksi VCO dan EVOO telah dilakukan sebelumnya dibandingkan terhadap stres oksidatif beberapa organ yang terjadi pada tikus yang diinduksi doksorubisin. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut ditemukan bahwa EVOO lebih efektif dibandingkan VCO dalam melindungi kerusakan organ hati dan ginjal, dan kombinasi dari EVOO dan VCO dapat mencegah kerusakan jantung setelah diinjeksikan doksorubisin (Sultang, 2022; Utari *et al.*, 2022; Yusra, 2021).

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efek dari variasi kombinasi EVOO dan VCO dalam mencegah infark miokardium pada tikus yang diinduksi ISO. Diharapkan hasil yang diperoleh pada penelitian ini dapat diaplikasikan oleh masyarakat luas yang dapat memanfaatkan minyak nabati EVOO dan VCO untuk kesehatan jantung.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini yaitu;

- A. Apakah kandungan senyawa utama yang terkandung pada EVOO dan VCO yang dianalisis menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)?
- B. Apakah variasi kombinasi EVOO dan VCO mampu memberikan pencegahan terhadap infark miokardium pada tikus yang diinduksi ISO dengan melihat penurunan kadar *Creatinin Kinase Myocardial Band* (CK-MB) dan *Lactate Dehydrogenase* (LDH)?
- C. Apakah variasi kombinasi EVOO dan VCO mampu memberikan pencegahan terhadap infark miokardium pada tikus yang diinduksi ISO dengan melihat gambaran histopatologi jaringan jantung tikus?
- D. Pada variasi kombinasi EVOO dan VCO manakah yang dapat lebih efektif dalam mencegah infark miokardium pada tikus yang diinduksi ISO?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membandingkan efektivitas antara variasi kombinasi dari EVOO dan VCO dalam mencegah terjadinya infark miokardium pada tikus putih yang diinduksi ISO.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus pada penelitian ini, yaitu:

- a. Untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terkandung dalam EVOO dan VCO yang dianalisis menggunakan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS).
- b. Untuk mengevaluasi efektivitas dari variasi kombinasi EVOO dan VCO terhadap peningkatan biomarker jantung seperti CK-MB dan LDH pada tikus putih yang diinduksi ISO.
- c. Untuk mengevaluasi efektivitas dari variasi kombinasi EVOO dan VCO terhadap tikus putih pemodelan infark miokardium yang diinduksi ISO berdasarkan gambaran histopatologi jaringan jantung tikus.
- d. Untuk mengetahui pada kombinasi EVOO dan VCO rasio berapakah yang dapat lebih efektif dalam mencegah infark miokardium pada tikus yang diinduksi ISO

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan kombinasi EVOO dan VCO dapat digunakan sebagai saran pencegahan terhadap infark miokardium oleh tenaga medis dan masyarakat.

1.4.2 Manfaat Teoritis

Sebagai sumber data ilmiah bagi mahasiswa dan peneliti lain bahwa kombinasi EVOO dan VCO memiliki efek pencegahan terhadap infark miokardium pada tikus putih yang diinduksi ISO.

1.4.3 Manfaat Klinis

Sebagai sumber informasi mengenai potensi kombinasi EVOO dan VCO sebagai kardioprotektif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infark Miokardium Akut

2.1.1 Definisi dan Epidemiologi

Infark miokardium dapat didefinisikan sebagai nekrosis otot jantung yang muncul dari iskemia miokardium akut yang terjadi terus-menerus (Thygesen, Alpert *et al.* 2012). Infark miokardium akut merupakan penyebab kematian utama di beberapa negara maju dan berkembang. Infark miokardium akut dapat dibagi menjadi 2 kategori yaitu infark miokardium non-ST-Elevasi Segmen (NSTEMI) dan infark miokardium ST-Elevasi Segmen (STEMI) (White and Chew 2008, Mechanic, Gavin *et al.* 2022).

Menurut Riskesdas tahun 2018, prevalensi penyakit jantung di Indonesia sebesar 1,5%, pada karakteristik usia 65 tahun meningkat sebesar 4,6% dan penyakit jantung yang terjadi pada wanita sebesar 1,6% sedangkan laki-laki sebesar 1,3% (RI 2018). Terdapat sekitar 70% penderita infark miokardium akut mengalami kejadian fatal yang disebabkan oleh oklusi dari plak aterosklerosis. Selain hal tersebut, terdapat faktor penyebab yang dapat dimodifikasi telah dilaporkan bahwa sekitar 90% dialami oleh pria dan 94% dialami oleh wanita (Mechanic, Gavin *et al.* 2022).

2.1.2 Faktor Risiko

2.1.2.1 Faktor Risiko yang dapat Dipengaruhi

Pada penyakit kardiovaskular seperti infark miokardium terdapat faktor yang dapat dimodifikasi yang akan mempengaruhi keadaan infark miokardium seperti kebiasaan merokok dan alkohol, keadaan hiperlipidemia, diabetes melitus, hipertensi, obesitas, kurangnya aktivitas fisik, pola makan yang buruk, terdapatnya penyakit pada pembuluh darah perifer, dan adanya peningkatan kadar homosistein (Haig, Carrick *et al.* 2019, Mechanic, Gavin *et al.* 2022).

2.1.2.2 Faktor Risiko yang Tidak dapat Dipengaruhi

Infark miokardium memiliki faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi sehingga faktor ini dapat menjadi faktor penyebab infark miokardium yang tidak

dapat dihindari seperti usia, jenis kelamin, keturunan/ riwayat keluarga, dan menopause (Smit, Coetzee *et al.* 2020, Mechanic, Gavin *et al.* 2022).

2.1.3 Klasifikasi Infark Miokardium

Infark miokardium dikategorikan secara umum menjadi 2 yaitu infark miokardium umumnya menunjukkan rasa tidak nyaman pada bagian dada atau gejala iskemik lainnya yang dapat dilihat berdasarkan hasil EKG pada pemeriksaan pasien. Berdasarkan hasil EKG dapat ditentukan bahwa pasien mengalami infark miokardium ST-Elevasi (STEMI) atau pasien tidak mengalami ST-Elevasi sehingga pasien mengalami infark miokardium non ST-Elevasi (Non-STEMI). Pada pasien yang tidak mengalami peningkatan nilai biomarker dapat di diagnosa sebagai angina tidak stabil (White and Chew 2008, Thygesen, Alpert *et al.* 2018).

Infark miokardium diklasifikasikan menjadi 5 tipe berdasarkan patologis, klinis, dan prognosis. Tipe I, Infark miokardium spontan merupakan kejadian yang berhubungan dengan ruptur plak aterosklerosis, ulserasi, *fissuring*, erosi, atau diseksi yang diakibatkan adanya trombus intraluminal pada satu atau lebih arteri koroner yang akan menyebabkan penurunan aliran darah pada miokardium atau emboli trombotik distal dengan terjadinya nekrosis miosit. Tipe II, infark miokardium sekunder akibat ke tidak seimbangan iskemik, dimana permintaan oksigen miokardium tidak sesuai dengan suplai oksigen yang didapatkan. Tipe III, kematian jantung karena infark miokardium, pasien dengan kematian jantung dapat menyebabkan kematian dengan gejala sugestif iskemia miokardium dan terjadi perubahan EKG. Tipe IV dan V, infark miokardium atau terdapatnya cedera miokardium dapat dilakukan tindakan periprocedural seperti PCI (*percutaneous Coronary Intervention*) atau CABG (*Coronary Artery Baypass Grafting*). (Krijnen, Nijmeijer *et al.* 2002, Thygesen, Alpert *et al.* 2018, Smit, Coetzee *et al.* 2020).

2.1.4 Patofisiologi

Patofisiologi terjadinya infark miokardium akut terjadi dengan adanya oklusi akut dari satu atau beberapa arteri koroner epikardia besar selama lebih dari 20-40menit. Oklusi biasanya berupa trombotik karena terjadinya pecah pada plak yang terbentuk pada arteri koroner. Oklusi tersebut menyebabkan terjadinya kekurangan suplai oksigen pada miokardium yang menimbulkan sarkolema dan

relaksasi miofibril. Hal tersebut merupakan salah satu perubahan ultrastruktur pertama pada proses terjadinya infark miokardium yang kemudian diikuti oleh perubahan pada mitokondria (Reimer, Jennings *et al.* 1983).

Terjadinya iskemia yang berkepanjangan pada akhirnya menyebabkan terjadinya nekrosis pada jaringan miokardium. Nekrosis akan menyebar dari sub-endokardium hingga ke sub-epikardium. Kondisi fungsi jantung dipengaruhi berdasarkan lokasi infark yang terjadi. Proses regenerasi miokardium yang memiliki kapasitas atau keterbatasan sehingga area infark dapat saja kembali pulih dengan adanya pembentukan jaringan parut atau dapat saja terjadi *remodelling* yang ditandai dengan dilatasi, hipertrofi segmen dan jaringan yang tersisa, serta disfungsi jantung (Frangogiannis 2015).

2.2 Isoproterenol (ISO)

ISO merupakan obat golongan agonis β -adrenergik non selektif. ISO bekerja dengan menghasilkan efek biologis dengan terjadinya peningkatan detak jantung, peningkatan kontraktibilitas jantung, relaksasi pada otot polos (bronkial, gastrointestinal, dan uterus), serta vasodilatasi perifer (Topliss, Clark *et al.* 2002, Nichtova, Novotova *et al.* 2012, Szymanski and Singh 2022). Pemberian ISO dalam dosis tinggi digunakan untuk pemodelan eksperimental infark miokardium pada tikus (Garg and Khanna 2014, Shaik, Shaik *et al.* 2021).

ISO memiliki mekanisme yang berkaitan dengan aktivasi protein $G\alpha$ yang akan mengaktifkan jalur adenilat siklase. Pada jalur ini perubahan ATP intraseluler menjadi cAMP yang kemudian mengaktifkan protein kinase A (PKA). PKA akan memfosforilasi kanal kalsium (Ca^{2+}) tipe-L pada miosit jantung sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan pelepasan Ca^{2+} (Szymanski and Singh 2022). Kelebihan Ca^{2+} merupakan penyebab utama dalam mekanisme pembentukan Infark miokardium pada penginduksian ISO (Victoria Chagoya de, Lucía *et al.* 2012). Terjadinya penurunan keseimbangan Ca^{2+} intraseluler juga diakibatkan oleh stres oksidatif, dimana terjadi perubahan keadaan redoks sel dan peningkatan ROS (Choudhary and Dudley Jr. 2002). Pada 30 menit setelah pemberian ISO akan terjadi peningkatan secara signifikan (80%), yang kemudian mencapai puncaknya pada jam ke-6 (220%) dan kembali ke nilai normal setelah terjadinya infark miokardium pada jam ke-24 hingga 48. Pada infark miokardium

peningkatan Ca^{2+} tidak sejalan dengan suplai energi yang terbentuk (Victoria Chagoya de, Lucía *et al.* 2012).

Pemberian ISO juga memicu ekspresi dari IL-18 pada studi *in vivo* dan *in vitro* melalui jalur aktivasi NF-kB (Chandrasekar, Marelli-Berg *et al.* 2004, Garg and Khanna 2014). Aktivasi NF-kB bergantung pada reseptor adrenergik yang di aktivasi melalui jalur protein Gi seperti PI3K, PKB/AKT, IKK. ISO menginduksi respon inflamasi melalui sitokin pro-inflamasi lain seperti faktor nekrosis tumor TNF- α , IL-1 β , IL-6 melalui cAMP (Murray, Prabhu *et al.* 2000, Garg and Khanna 2014).

2.3 Extra Virgin Olive Oil (EVOO)

2.3.1 Gambar Tanaman dan EVOO



1(a)



1(b)

Gambar 1. Gambar tanaman dan EVOO (a) Buah zaitun, (b) *Extra Virgin Olive Oil* (EVOO)

2.3.2 Klasifikasi Tanaman

Taxonomi Tanaman (Itis, 2022):

Kingdom	: <i>Plantae – plantes, Planta, Vegetal, plants</i>
Subkingdom	: <i>Viridiplantae – green plants</i>
Infrakingdom	: <i>Streptophyta – land plants</i>
Superdivision	: <i>Embryophyta</i>
Division	: <i>Tracheophyta – vascular plants, tracheophytes</i>
Subdivision	: <i>Spermatophytina – spermatophytes, seed plants, phanérogames</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Superorder	: <i>Asteranae</i>
Order	: <i>Lamiales</i>

Family : *Oleaceae* – olives
Genus : *Olea* L. – olive
Species : *Olea europaea* L. – olive

2.3.3 Morfologi, Kandungan Kimia dan Kegunaan Tanaman

Buah zaitun (*Olea Europaea* L.) merupakan buah yang berasal dari pohon zaitun. Pohon zaitun berukuran kecil. Tanaman ini berasal dari negara Mediterania. Pada bagian negara tersebut diketahui bahwa minyak zaitun merupakan bagian penting dari diet yang dikenal sebagai diet Mediterania (MED). MED terdiri dari kombinasi seimbang konsumsi protein hewani rendah dan asupan tinggi buah-buahan, sayur-sayuran, sereal dan minyak zaitun sebagai sumber utama lemak dalam makanan. MED dikaitkan dengan rendahnya angka risiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan menunjukkan harapan hidup yang lebih tinggi (Foscolou, Critselis *et al.* 2018, Jimenez-Lopez, Carpena *et al.* 2020).

Extra Virgin Olive Oil (EVOO) berasal dari buah zaitun. EVOO diperoleh dengan cara menghancurkan dan memeras buah zaitun secara manual (tidak diproses dan tidak dimurnikan) karena dianggap sebagai jus buah asli dan menjadi salah satu minyak nabati paling disarankan karena memiliki nilai gizi maupun kualitas gastronominya yang penting (Yubero-Serrano, Lopez-Moreno *et al.* 2019).

Komponen EVOO yaitu Trigliserida sekitar 97-99% dan senyawa minor sekitar 1-3%. EVOO memiliki kandungan *monounsaturated Fatty Acid* (MUFA) yang tinggi sekitar 65-83% terutama asam linoleat, yang merupakan asam lemak kuat pada pengurangan *Low-Density Lipoprotein* (LDL). Terdapat pula senyawa bioaktif yaitu senyawa fenolik seperti hidroksitirosol dan turunannya (oleuropein dan tyrosol), tokoferol, terdapat pula senyawa seperti hidrokarbon (squalene) (Lombardo, Grasso *et al.* 2018, Román, Jackson *et al.* 2019, Jimenez-Lopez, Carpena *et al.* 2020).

Komponen EVOO yang terdiri dari *oleic acid* dan *phenolic compound* yang berperan pada penghambatan atau penurunan terjadinya penyakit kardiovaskular (CVD). Terdapat beberapa indikasi yang dapat dipengaruhi oleh EVOO yaitu reaksi inflamasi dimana komponen dapat mempengaruhi *pro-inflammatory cytokines* seperti C-Reactive Protein (CRP), Interleukin 1 β (IL-1 β), IL-6, IL-10, Tumour Necrosis Factor alpha (TNF- α), dll) dan Adiponectin. Agregasi platelet dimana EVOO menurunkan agregasi platelet dan protein kinase C (Piroddi, Albini *et al.*

2017). EVOO dapat pula mempengaruhi fungsi dari endotelium dengan meningkatkan kapasitas vasodilator. Stres oksidatif dimana EVOO meningkatkan ekspresi SOD dan menurunkan ROS, LPO serta dapat mempengaruhi metabolisme lipid dengan menurunkan LDL (*Low-Density Lipoprotein*) dan postprandial Triglicerida (TG) (Yubero-Serrano, Lopez-Moreno *et al.* 2019).

Dalam peran EVOO sebagai kardioprotektif, telah dilakukan studi observasional berdasarkan kohort PREDIMED yang menunjukkan bahwa konsentrasi 10 gram EVOO/hari dapat mempengaruhi dengan menurunkan risiko penyakit kardiovaskular hingga 10% (Guasch-Ferré, Hu *et al.* 2014). Pada tahap selanjutnya, dilakukan penelitian uji klinik penggunaan EVOO dimana dilaporkan bahwa dengan 10-50mL EVOO/hari secara signifikan dapat menurunkan tekanan darah sebesar 0,73mmHg (Zamora-Zamora, Martinez Galiano *et al.* 2018).

2.4 VCO (Virgin Coconut Oil)

2.4.1 Gambar Tanaman dan VCO



2(a)



2(b)

Gambar 2. Gambar tanaman dan VCO (a) Buah Kelapa, (b) VCO (*Virgin Coconut Oil*)

2.4.2 Klasifikasi Tanaman

Taxonomi Tanaman (Itis, 2022);

Kingdom	: <i>Plantae – plantes, Planta, Vegetal, plants</i>
Subkingdom	: <i>Viridiplantae – green plants</i>
Infrakingdom	: <i>Streptophyta – land plants</i>
Superdivision	: <i>Embryophyta</i>
Division	: <i>Tracheophyta – vascular plants, tracheophytes</i>
Subdivision	: <i>Spermatophytina – spermatophytes, seed</i>

	<i>plants, phanérogames</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Superorder	: <i>Lilianaes – monocots, monocotyledons, monocotylédones</i>
Order	: <i>Arecales</i>
Family	: <i>Arecaceae</i>
Genus	: <i>Cocos L. – coconut palm</i>
Species	: <i>Cocos nucifera L. – coconut palm, Palma de Coco</i>

2.4.3 Morfologi, Kandungan kimia, dan kegunaan Tanaman

Virgin Coconut Oil (VCO) berasal dari buah kelapa (*Cocos nucifera L.*). VCO diproduksi dengan beberapa metode dan dikategorikan menjadi 2 metode yaitu metode basah dan kering. Metode basah, VCO diekstraksi langsung dari daging buah kelapa dengan pendinginan, sentrifugasi, fermentasi, enzimatik, metode pH, atau kombinasi dari beberapa metode untuk merusak stabilitas emulsi santan tanpa adanya proses pemanasan (Raghavendra and Raghavarao 2010, Ghani, Channip *et al.* 2018). Metode kering, daging kelapa akan dipanaskan dengan suhu terkendali digunakan 2 pendekatan *Direct Micro Expelling (DME)* menggunakan oven / *oven-dried (DME-OD)* dengan suhu 40°C selama 4 jam atau sinar matahari / *Sun-dried (DME-SD)* selama 3-4 jam dalam mengurangi kandungan air dan mencegah invasi mikroba. Hasil kelapa yang telah kering diparut dan selanjutnya dilakukan penekanan mekanik menggunakan dongkrak untuk mengeluarkan VCO yang selanjutnya akan dipisahkan, dimurnikan, dan didinginkan kemudian siap untuk digunakan (Ghani, Channip *et al.* 2018).

VCO memiliki hampir 90% asam lemak tak jenuh dan asam lemak jenuh sehingga dapat dicerna oleh tubuh. Kandungan asam lemak tak jenuh rantai tertinggi adalah asam laurat sebesar 43-45%. Komponen utama terdeteksi ialah *ferulic acid* dan *p-caumaric acid* (Kamri, Rahmawati *et al.* 2021).

VCO termasuk dalam klasifikasi *Medium Chain Fatty Acid (MCFA)* (Babu *et al.* 2014). Hal tersebut menyebabkan VCO mudah diserap oleh usus sehingga tidak termasuk dalam transportasi kolesterol dan dapat menyediakan energi dengan cepat. MCFA merupakan komponen integral dari sumber energi. MCFA (59,02-62,27%) pada VCO terdiri dari asam kaproat, asam kaprilat, asam kaprat,

dan asam laurat. Selain itu, VCO juga mengandung *Saturated Fatty Acid* (SFA) (Asam miristat, palmitat, dan asam stearat) (Babu, Veluswamy *et al.* 2014).

Kandungan polifenol yang tinggi dari VCO mampu mempertahankan parameter serum tetap dalam keadaan normal. Polifenol yang terkandung juga dapat meningkatkan enzim antioksidan seperti SOD dan GSH yang akan dapat mengikat oksigen reaktif dan LPO (Lie, I *et al.* 2019).

Pada tahun 2015 telah dilakukan penelitian experimental pre-klinik mengenai efek kardioprotektif dari VCO terhadap tikus hipertensi yang diinduksi *Heated Palm Oil* (HPO) pada hasil penelitian tersebut diketahui bahwa VCO memiliki efek kardioprotektif terhadap *remodelling* jantung, peningkatan tekanan darah yang disebabkan oleh penggunaan HPO berulang. VCO dapat pula mencegah peningkatan stres oksidatif jantung, aktivitas *Angiotensin-converting enzyme* (ACE) dan terkait histomorfometrik jantung (Kamisah, Periyah *et al.* 2015).

Efek kardioprotektif sebelumnya juga telah dilakukan penelitian yang mendapatkan hasil bahwa pemberian VCO pada tikus yang diinduksi doksorubisin dapat menetralkan ROS yang dihasilkan oleh doksorubisin melalui mekanisme antioksidan. Pada penelitian ini menunjukkan dapat terjadi penurunan produksi CK-MB dan LDH pada tikus uji (Lie, I *et al.* 2019).

2.5 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

GC-MS menggunakan dua teknik untuk menganalisis zat: kromatografi gas dan spektrometri massa. Kromatografi gas memisahkan zat berdasarkan komposisi kimianya dengan menggunakan waktu retensi yang berbeda pada kolom yang dipilih dengan cermat. Spektrometri massa menggunakan medan listrik bertegangan tinggi untuk memecah zat menjadi potongan-potongan kecil, dan kemudian dapat mengidentifikasi molekul tertentu berdasarkan massanya (Hernández, Portolés *et al.* 2011, Reber 2014). Instrumen ini sangat sensitif dan dapat dengan cepat mengidentifikasi berbagai senyawa dalam suatu campuran. Ini juga serbaguna dan dapat digunakan untuk menganalisis zat yang mungkin mengandung senyawa organik yang mudah menguap (Reber 2014). Instrumen GC-MS lebih baik dalam mengidentifikasi senyawa daripada teknik pemisahan lainnya karena menghasilkan spektrum massa dengan pola fragmentasi yang dapat direproduksi. Ini memungkinkan pembuatan database publik (Garcia and Barbas 2011).

2.6 CK-MB

CK-MB (*Creatinin Kinase Myocardial Band*) merupakan isoenzim dari kreatinin kinase. Kreatinin kinase mendefosforilasi kreatinin fosfat menjadi kreatinin, untuk menyediakan energi yang dibutuhkan untuk regenerasi ATP.

$ADP + Creatinine\ Phosphate \rightarrow ATP + Creatinine$ (Kurapati and Soos 2022).

Isoenzim CK merupakan dimer dari rantai peptida subunit B atau M. Isoenzim BB terdapat pada sistem saraf pusat, isoenzim MM terdapat pada otot rangka dewasa. Pada miokardium terdapat 15% isoenzim CK-MB dan 85% CK-MM dan pada otot rangka terdapat sekitar 1 sampai 3 %CK-MB (Kurapati and Soos 2022).

CK-MB merupakan biomarker penanda spesifik untuk membantu penegakan diagnosa infark miokardium akut dan biomarker khusus untuk otot jantung. Berdasarkan hal tersebut, terdapat 2 metode pengukuran yang dapat dilakukan, yaitu (Van Blerk, Maes et al. 1992, Al-Hadi and Fox 2009):

1. Aktivitas CK-MB: digunakan untuk mengukur aktivitas total CK-MB dalam serum/plasma dengan metode elektroforensis, kromatografi kolom, imunoinhibisi, dan imunopresipitasi. Hasil yang dilaporkan dalam satuan IU/L. Namun, metode ini kurang spesifik dikarenakan hanya menggambarkan enzim aktif dan memiliki sensitivitas yang rendah. Nilai normal dari aktivitas CK-MB adalah 8-16 IU/L.
2. Massa CK-MB: digunakan untuk mengukur massa protein spesifik terhadap subunit M, B, atau MB. Hasil dilaporkan dalam satuan $\mu\text{g/mL}$ atau g/L . Tes ini disarankan dalam pengukuran dikarenakan memiliki sensitivitas analisis yang tinggi dan dapat mengukur enzim aktif maupun tidak aktif. Nilai normal untuk Massa CK-MB adalah 55-170 $\mu\text{g/mL}$.

Pada pengukuran kadar CK-MB, isoform CK-MB akan dilepaskan dalam waktu 1 jam setelah onset gejala dan mencapai puncak pada 4 jam. Terjadinya infark miokardium akut dapat dideteksi secepat-cepatnya 6 jam setelah infark miokardium (Bhayana and Henderson 1995), sehingga CK-MB dapat terdeteksi dalam serum pada 4 jam setelah cedera miokardium, mencapai puncak pada 24 jam dan akan menjadi normal kembali pada 24 – 72 jam (Aydin, Ugur *et al.* 2019, Patibandla, Gupta *et al.* 2022).

2.7 LDH

LDH (*Lactate dehydrogenase*) adalah enzim penting dari jalur metabolisme anaerob (Farhana and Lappin 2022). LDH berfungsi sebagai pengkatalis konversi reversible laktat menjadi piruvat dengan reduksi NAD^+ menjadi NADH dan sebaliknya (Schumann, Bonora *et al.* 2002).

Pada struktur molekular LDH memiliki dua subunit yang berbeda yaitu subunit-M dan subunit-H, keduanya mempertahankan struktur sisi aktif yang sama dan asam amino yang berperan dalam reaksi. Pada struktur tersier, alanin dari rantai subunit-M diganti dengan glutamin pada rantai subunit-H. Alanin merupakan asam amino non polar yang memiliki berat molekul kecil sedangkan glutamin merupakan asam amino bermuatan positif. Terdapat perbedaan sifat biokimia dari kedua subunit. Subunit-H dapat mengikat lebih cepat namun memiliki aktivitas katalitik yang berkurang 5 kali lipat dibandingkan dengan subunit-M (Farhana and Lappin 2022).

Terdapat gen yang mengkode LDH seperti LDHA, LDHB, LDHC, dan LDHD. LDHA, LDHB, dan LDHC mengkodekan untuk isomer L dari enzim (Laughton, Charnay *et al.* 2000). LDHA membawa muatan bersih -6 dan menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap piruvat, sehingga mengubah piruvat dan NADH menjadi NAD^+ . Disisi lain LDHB memiliki muatan bersih +1 dan menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap laktat sehingga, menghasilkan konversi preferensial laktat menjadi piruvat dan NAD^+ menjadi NADH (Overgaard, Rasmussen *et al.* 2012, Farhana and Lappin 2022).

$\text{Piruvat} + \text{NADH} + \text{H}^+ \text{ -----} \rightarrow \text{Lactate} + \text{NAD}^+$ (Adeva-Andany, López-Ojén *et al.* 2014).

LDH berperan dalam mempertahankan homeostasis ketika terjadinya kekurangan oksigen. Ketika dalam keadaan aktivitas berat otot, kadar oksigen dalam jaringan otot menurun. Oksigen merupakan akseptor elektron dari rantai transpor elektron (ETC), rantai ini akan berhenti bersamaan dengan ATP sintetase. Namun, sel-sel otot akan terus berfungsi menghasilkan ATP melalui NAD^+ (Liberti and Locasale 2016). LDH akan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir melalui reaksi fermentasi. LDH akan mengeluarkan elektron dan NADH kemudian menghasilkan NAD^+ yang disalurkan dalam jalur glikolisis untuk membuat ATP (Schumann, Bonora *et al.* 2002, Adeva-Andany, López-Ojén *et al.* 2014).

Pada pemeriksaan LDH merupakan biomarker yang digunakan dalam membantu penegakan diagnosa infark miokardium. LDH akan meningkat dalam darah 6 sampai 12 jam setelah infark miokardium akut, akan mencapai puncak dalam 24 sampai 72 jam dan akan kembali kepada keadaan *baseline* dalam 8 hari hingga 13 hari (Patibandla, Gupta *et al.* 2022). Pada pengukuran LDH nilai normal berkisar antara 140-280 IU/L (Farhana and Lappin 2022).

2.8 Pemeriksaan Histologi

Histologi merupakan ilmu yang mempelajari mikroskopis jaringan dan organ. Jaringan dan organ tersebut akan dilakukan pemotongan, pewarnaan dan pemeriksaan di bawah mikroskop. Histologi dapat menjadi visualisasi struktur jaringan dan perubahan karakteristik yang mungkin terjadi pada jaringan. Histologi digunakan dalam penegakan diagnosa medis, studi ilmiah, otopsi, dan penyelidikan forensik. Sampel tersebut akan dianalisis menggunakan mikroskop dan akan diinterpretasikan oleh ahli patologi. Hasil yang diberikan dalam skor derajat kerusakan (Gurina and Simms 2022).

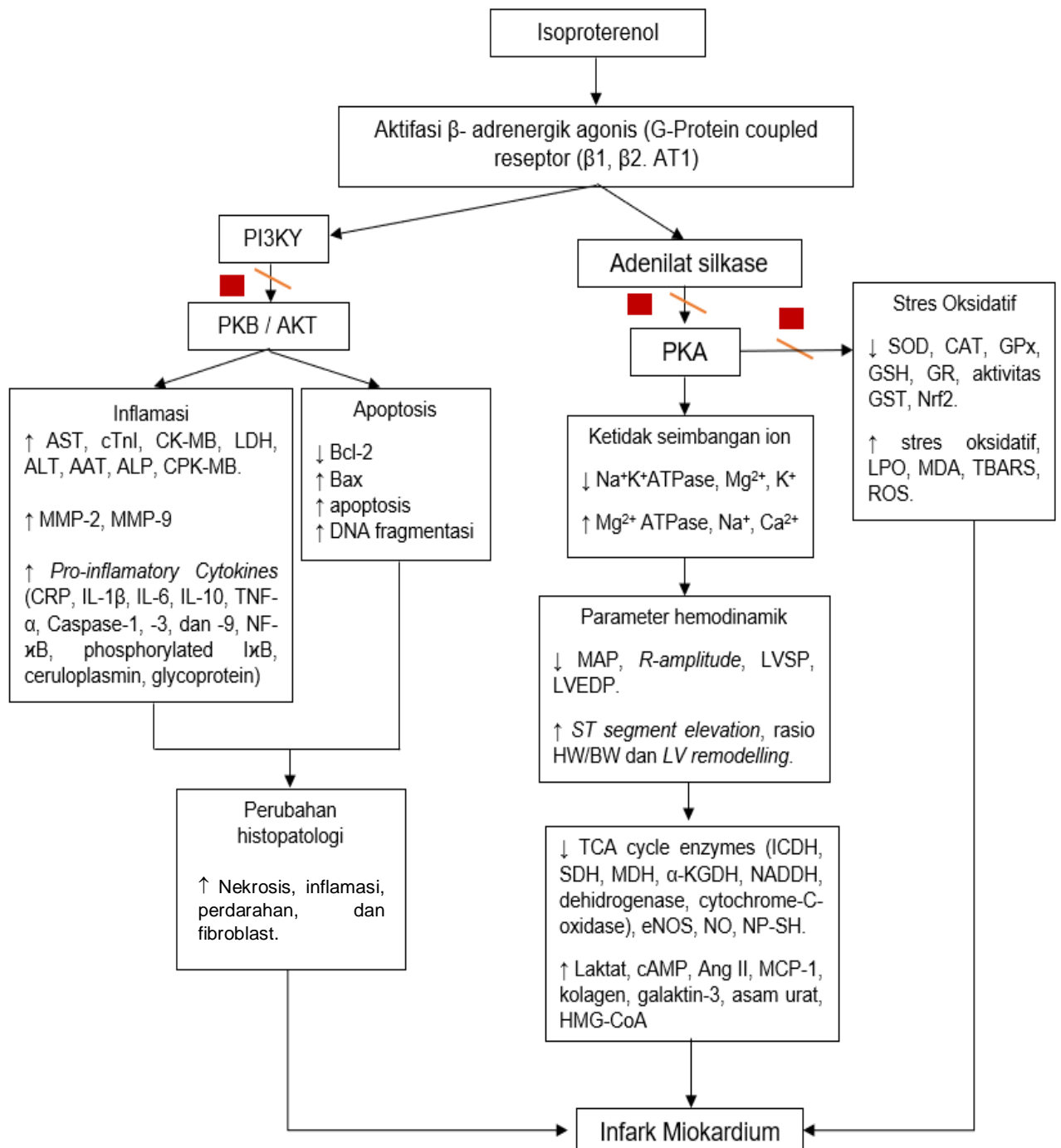
Terdapat beberapa aspek spesifik dalam histologi. Fiksasi ialah upaya penggunaan bahan kimia seperti formalin yang digunakan untuk mempertahankan struktur jaringan dalam bentuk alaminya dan melindungi degradasi yang diakibatkan oleh protein pengikat silang yang irreversibel. Dehidrasi yaitu penambahan etanol yang digunakan untuk menghilangkan air pada sampel yang akan mengeraskan jaringan sehingga dapat dianalisis menggunakan cahaya mikroskop, setelah dehidrasi selesai maka diberikan xilena yang digunakan untuk menghilangkan etanol. *Embedding* merupakan proses pemasukan sampel ke dalam lilin parafin untuk meningkatkan proses ekstraksi struktur seluler (Alturkistani, Tashkandi *et al.* 2015).

Sectioning merupakan proses yang melibatkan pemasangan spesimen pada mikrotom dan memotong menjadi beberapa bagian dengan ketebalan 4-5 mikrometer, setelah itu akan diberikan pewarnaan dan diletakan pada *slide* mikroskop untuk diperiksa. Aspek terakhir ialah pengambilan antigen yaitu digunakan untuk mengambil antigen yang bisa saja tercakup pada proses fiksasi dan *embedding*. Pengambilan antigen ini dilakukan melalui metode pemanasan dan proteolitik untuk memecah ikatan silang dan memperlihatkan epitop dan antigen sebelumnya tertutup (Alturkistani, Tashkandi *et al.* 2015).

Pada proses pewarnaan yang digunakan adalah Hematoksilin dan eosin (H&E). Hematoksilin merupakan pewarna dasar yang mewarnai struktur asam yang menghasilkan warna ungu/biru. Struktur targetnya disebut dengan basofilik (DNA dalam inti sel, RNA dalam ribosom, retikulum endoplasma). Eosin diberikan setelah pemberian hematoksilin yang menargetkan struktur dasar dan menghasilkan warna merah muda/merah. Struktur targetnya disebut dengan eosinofilik (sitoplasma). Pada penggunaan pewarnaan H&E mikroskop yang digunakan adalah mikroskop cahaya atau yang disebut juga dengan mikroskop optik (Chen, Zheng *et al.* 2011).

Selanjutnya, akan dilakukan pengamatan dan akan dilakukan skoring yang digunakan untuk menggambarkan dengan jelas dan menetapkan batas-batasan untuk setiap kategori. Bila memungkinkan, terminologi khusus dapat digunakan seperti penggunaan persentase pada tingkat kerusakan jaringan untuk mengurangi resiko pengulangan pengamatan (Gibson-Corley, Olivier *et al.* 2013).

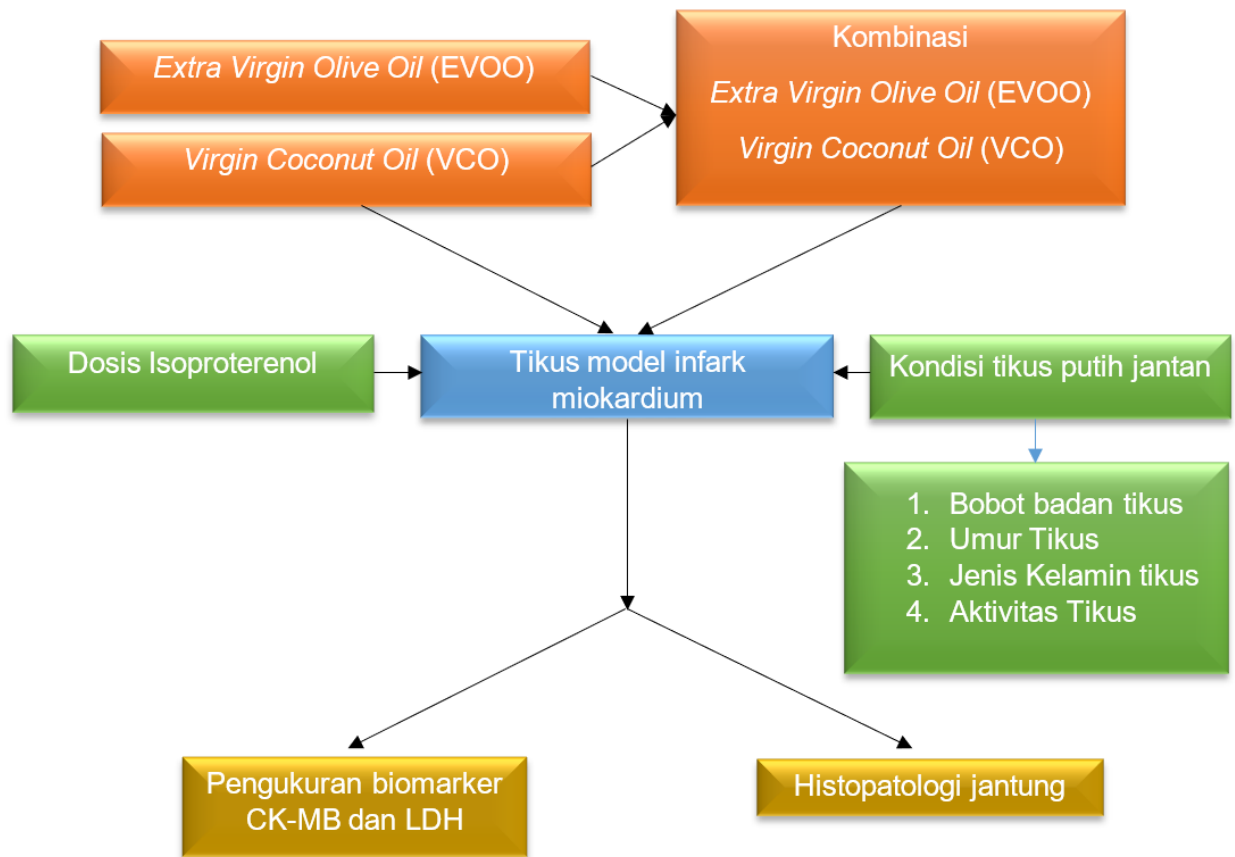
2.9 Kerangka Teori



Keterangan:

- = Kombinasi EVOO-VCO
- / = Penghambatan

2.10 Kerangka Konsep



CK-MB = *Creatine Kinase-Myocardial Band*

LDH = *Lactate dehydrogenase*

