

TESIS

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.)
TERHADAP BIOMARKER DAN STRUKTUR MIOKARDIUM TIKUS
YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL**

**THE EFFECT OF PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.) LEAF EXTRACT
AGAINST CARDIAC BIOMARKER ELEVATION AND MYOCARDIAL
DAMAGE INDUCED BY ISOPROTERENOL IN RATS**

FITRIANI W. ALANI

P062202032



**PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR, INDONESIA**

2023

**UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.)
TERHADAP BIOMARKER DAN STRUKTUR MIOKARDIUM TIKUS
YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL**

FITRIANI W. ALANI

P062202032



**PROGRAM STUDI ILMUBIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR, INDONESIA**

2023

**THE EFFECT OF PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.) LEAF EXTRACT
AGAINST CARDIAC BIOMARKER ELEVATION AND MYOCARDIAL
DAMAGE INDUCED BY ISOPROTERENOL IN RATS**

FITRIANI W. ALANI

P062202032



**BIOMEDICAL SCIENCE PROGRAM
GRADUATE SCHOOL
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR, INDONESIA
2023**

HALAMAN PENGAJUAN TESIS
UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.)
TERHADAP BIOMARKER DAN STRUKTUR MIOKARDIUM TIKUS
YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL

TESIS

Salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

FITRIANI W. ALANI

P062202032

KEPADA

PROGRAM STUDI ILMU BIOMEDIK
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR, INDONESIA
2023

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

UJI EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PALIASA (*Kleinhovia hospita* L.)
TERHADAP BIOMARKER DAN STRUKTUR MIOKARDIUM TIKUS
YANG DIINDUKSI ISOPROTERENOL

Disusun dan diajukan oleh


FITRIANI W. ALANI
Nomor Pokok : P062202032

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 23 Februari 2023
dan telah dinyatakan memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

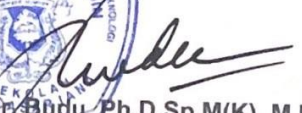

Yulia Yusrini Djibir, S.Si., MBM.Sc., M.Si., Ph.D., Apt
NIP. 197807282002122003


dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D
NIP. 197608202002121003

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Biomedik


dr. Rahmawati., Ph.D., Sp.PD-KHOM.,FINASIM
NIP. 196802181999032002

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin


Prof. dr. Budu, Ph.D.Sp.M(K), M.MedEd
NIP. 196612311995031009

**PERNYATAAN KEASLIAN TESIS
DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis yang berjudul "Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) Terhadap Biomarker Dan Struktur Miokardium 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. dan dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan oleh penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari tesis ini telah dipublikasikan di jurnal (Iranian Journal of Toxicology, 1-13, DOI: [10.32598/IJT.17.2.854.4](https://doi.org/10.32598/IJT.17.2.854.4)) sebagai artikel dengan judul "Kleinhovia Hospita Leaf Extract Protects the Heart against Infarction by Isoproterenol"

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada universitas hasanuddin

Makassar, 23 Februari 2023



Fitriani W. Alani

P062202032

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan petunjuk-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul "Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) Terhadap Biomarker dan Struktur Miokardium Tikus yang Diinduksi Isoproterenol".

Dalam pembuatan Tesis penulis tidak terlepas bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Maka dari itu, secara khusus penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada suruh pihak yang turut memberikan dukungan selama proses penyelesaian tesis ini:

1. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc. selaku rektor Universitas Hasanuddin atas kesempatan yang diberikan kepada penulis serta memberikan fasilitas untuk mendukung proses akademik dalam menempuh pendidikan Program Magister di Universitas Hasanuddin.
2. Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.MedEd selaku dekan sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin beserta dosen dan karyawan Program Pascsarjana yang telah memberikan bantuan dalam proses penyelesaian tesis ini.
3. Yulia Yusrini Djabir, S.Si., M.Si, MBM.Sc, Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama yang telah sangat banyak meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu, arahan, nasihat dan motivasi kepada penulis selama proses penyusunan tesis sampai penulis berhasil menyelesaikan pendidikan.
4. dr. M. Aryadi Arsyad, MBM.Sc., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang telah sangat banyak meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu, arahan, nasihat dan motivasi kepada penulis selama proses penyusunan tesis sampai penulis berhasil menyelesaikan pendidikan.
5. Prof. dr. Peter Kabo, PhD., Sp.Fk., Sp.Jp., Prof. dr. Rosdiana Natsir, Ph.D., Sp.Biok dan Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan masukan yang membangun kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tesis ini.

6. Dr. dr. Ika Yustisia, M.Sc selaku penasehat akademik yang selalu memberikan arahan dan saran mulai dari perkuliahan sampai penyusunan tesis.
7. Kedua orang tua tercinta mama Musrad dan papa La Ode Alani serta kakak Ashfim Wastomi dan adik Indriani Hapsari Alani atas doa, perhatian, kasih sayang, dukungan baik secara moril maupun materil.
8. Teman-temanku yang selalu memberikan semangat terutama Syaadatun Nadiyah yang selama ini selalu membantu, memotivasi dan selalu ada untuk penulis mulai dari penyusunan judul sampai tesis ini selesai.
9. Teman-teman pascasarjana ilmu biomedik khususnya konsentrasi farmakologi yang telah memberikan banyak kenangan, dukungan, dan pengalaman yang tidak terlupakan selama menjadi mahasiswa Ilmu Biomedik Universitas Hasanuddin.
10. 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.

Penulis

Fitriani W. Alani

ABSTRAK

FITRIANI W. ALANI Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Paliasa (*Kleinhovia Hospita L.*) Terhadap Biomarker Dan Struktur Miokardium Tikus Yang Diinduksi Isoproterenol (dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Aryadi Arsyad)

Isoproterenol (ISO), agonis β -adrenergik, dapat menyebabkan infark miokard jika digunakan dalam dosis tinggi. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol daun paliasa terhadap biomarker jantung dan struktur miokardium tikus yang diinduksi ISO. Penelitian ini menggunakan tikus jantan ($n=30$) yang terbagi sebagai kontrol normal atau kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan mendapat pretreatment, baik kontrol negatif maupun Ekstrak etanol daun paliasa dengan dosis 250, 500, atau 750 mg/kg selama 14 hari, diikuti injeksi ISO 100 mg/kg dua hari berturut-turut. Setelah 24 jam, sampel darah diambil dan pembedahan jantung. Biomarker jantung yang diukur adalah kreatinin kinase myocardial band (CK-MB) dan laktat dehidrogenase (LDH). Analisis histopatologi jantung dilakukan dengan pewarnaan hematoxilin dan eosin (HE). Pada penelitian ini, injeksi ISO pada kelompok kontrol negatif secara signifikan meningkatkan kadar CK-MB dan LDH dibandingkan dengan kontrol normal ($P<0,05$). Pretreatment Ekstrak etanol daun paliasa pada dosis 500 mg/kg dan 750 mg/kg secara signifikan mengurangi kadar CK-MB dan LDH dibandingkan dengan pretreatment kontrol negatif ($P<0,05$). Pemeriksaan histopatologis menunjukkan adanya nekrosis difus dan peradangan parah pada kelompok kontrol negatif. Pretreatment dengan Ekstrak etanol daun paliasa 500 mg/kg dan 750 mg/kg mampu mengurangi kerusakan jaringan miokard pada tikus ($P<0,05$). Dengan demikian, ekstrak etanol daun Paliasa dosis 500 mg/kg dan 750 mg/kg secara signifikan menurunkan infark miokard pada tikus yang diinduksi ISO, ditunjukkan dengan penurunan kadar CK-MB dan LDH, serta berkurangnya lesi nekrotik dan inflamasi pada jantung tikus.

Kata kunci: Daun Paliasa, Isoproterenol, biomarker jantung, infark miokard

ABSTRACT

FITRIANI W. ALANI. **The Effect of Paliasa leaf (*Kleinhovia Hospita* L.) Leaf Extract Against Cardiac Biomarker Elevation and Myocardial Damage Induced By Isoproterenol In Rats** (Supervised By Yulia Yusrini Djabir and Aryadi Arsyad)

Isoproterenol (ISO), a β -adrenergic agonist, may induce myocardial infarction when used in a high dose. This study was conducted to evaluate the effect of paliasa leaf ethanolic extract on cardiac biomarkers and myocardial structure of rats induced by ISO. This study used male rats (n=30) were assigned as a normal control or treatment groups. The treatment groups received pretreatments, either negative control or Paliasa leaf ethanol extract at a dose of 250, 500, or 750 mg/kg for 14 days, followed by ISO injection 100 mg/kg two consecutive days. After 24 hours, blood samples were taken and the hearts were removed. The test cardiac biomarkers were creatinine kinase myocardial band (CK-MB) and lactate dehydrogenase (LDH). Heart histopathology analysis performed following by staining with hematoxylin and eosin (HE). In this study, ISO injection in the negative control group significantly increased CK-MB and LDH levels compared to the normal control ($P < 0.05$). Paliasa leaf ethanol extract pretreatment at doses of 500 mg/kg and 750 mg/kg significantly reduced CK-MB and LDH levels compared to those with negative control pretreatment ($P < 0.05$). The histopathological examination showed the presence of diffused necrosis and severe inflammation in the placebo group. Pretreatment with 500 mg/kg and 750 mg/kg of Paliasa leaf ethanol extract was able to reduce myocardial tissue damage in rats ($P < 0.05$). Thus, Paliasa leaf ethanol extract at the doses of 500 mg/kg and 750 mg/kg significantly reduced myocardial infarction in rats induced ISO, shown by decreased levels of CK-MB and LDH, and reduced necrotic lesion and inflammation in the heart of rats.

Keywords: Paliasa leaf., cardiac biomarkers, isoproterenol, myocardial infarction

DAFTAR ISI

TESIS	i
HALAMAN PENGANTAR	iii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA.....	Error!
Bookmark not defined.	
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	3
1. Tujuan Umum.....	3
2. Tujuan Khusus	3
D. Manfaat Penelitian	3
1. Manfaat Akademis	3
2. Manfaat Praktis	3
3. Manfaat Klinis.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Infark Miokard.....	5
1. Definisi.....	5
2. Epidemiologi.....	5
3. Patofisiologi.....	6
4. Diagnosis Klinik dan Klasifikasi IM	6
5. Faktor Resiko	7
B. Paliase.....	7
1. Morfologi dan Taksonomi.....	7
2. Kandungan Biokimia	8

3. Manfaat Penggunaan Daun Paliasa	9
C. Isoproterenol	9
D. Creatinin Kinase Myocardial band (CK-MB).....	11
E. Lactate Dehydrogenase (LDH)	12
F. Pemeriksaan Histologi	13
G. Kerangka teori.....	15
H. Kerangka Konsep.....	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Desain Penelitian	17
B. Waktu dan Lokasi Penelitian	17
C. Variabel Penelitian	17
D. Penyiapan Hewan uji	17
E. Alat dan Bahan.....	18
1. Alat :	18
2. Bahan :	19
F. Definisi operasional.....	19
G. Prosedur penelitian	20
1. <i>Preliminary Study</i>	20
2. Pemeliharaan Hewan Coba	20
3. Penyiapan dan Ekstraksi Daun Paliasa.....	20
c. Pemberian Ekstrak Etanol Daun Paliasa.....	21
4. Pembuatan Model Tikus Infark Miokard	22
5. Pengambilan Sampel Darah	22
6. Pemeriksaan Kadar CK-MB.....	22
7. Pemeriksaan Kadar LDH	23
8. Pemeriksaan Histologi Jantung	23
H. Analisis Statistik	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	25
A. HASIL	25
1. Preliminary study.....	25
2. Hasil CKMB	26
3. Hasil LDH	27
4. Hasil analisis histologi.....	28
B. Pembahasan	30

C. Limitasi Penelitian	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	35
A. Kesimpulan.....	35
B. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Hasil Gambaran Histologi Jantung Preliminary.....	25
Gambar 2 Kadar CKMB.....	26
Gambar 3 Kadar LDH.....	27
Gambar 4 Hasil Gambaran Histologi Jantung Kelompok Perlakuan.....	28
Gambar 5 Penyimpanan Hewan Coba.....	51
Gambar 6 Ekstrak kental <i>Kleinhovia hospital</i>	51
Gambar 7 Proses Pembedahan Hewan Coba.....	51
Gambar 8 Gambar Hewan Coba.....	51
Gambar 9 Organ Jantung Hewan Coba.....	52
Gambar 10 Humalyzer 3500.....	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Kelayakan Etik.....	43
Lampiran 2 Preliminary Study.....	44
Lampiran 3 Alur Penelitian.....	45
Lampiran 4 Komposisi Reagen.....	46
Lampiran 5 Pengolahan Data dan Analisis Statistik.....	48
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian.....	51

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Keterangan
IM	Infark Miokard
ISO	Isoproterenol
CKMB	Creatine Kinase Myocardial Band
LDH	Lactate Dehydrogenase
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
TNF α	Tumor Necrosis Factor alpha
NF κ B	Nuclear Factor kappa B
HE	Hematoxylin and Eosin
Ca ²⁺	Kalsium
ATP	Adenosine Triphosphate
ROS	Reactive Oxygen Species
IKK	I κ B kinase
LPO	Lipid Peroxidation
P κ B	Protein Kinase B
P κ A	Protein Kinase A
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate
PI3 κ	Phosphoinositide 3-kinase

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit yang terjadi akibat gangguan jantung dan pembuluh darah dan merupakan penyebab kematian utama diseluruh dunia. Penyakit kardiovaskular telah terbukti menjadi penyebab atas kematian disetiap tahunnya dengan presentasi sebesar 31% dari kematian di seluruh dunia. Infark miokard merupakan salah satu dari penyakit kardiovaskular yang dapat menyebabkan kematian. Pada tahun 2017, IM telah menyebabkan 9 juta kematian di seluruh dunia (Djabir *et al.*, 2017).

Infark Miokard (IM) miokard terjadi akibat penghambatan atau penyumbatan pada arteri koroner yang menyebabkan ketidakcukupan suplai oksigen ke jantung secara terus menerus, sehingga menyebabkan infark pada arteri dan terjadi nekrosis, perubahan patologis dan struktural pada jantung. Infark miokard juga dapat terjadi karena stress oksidatif yang berlebih (Zaki *et al.*, 2014). Beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya IM yaitu merokok, tekanan darah tinggi, hiperlipidemia, diabetes tipe 2, obesitas, umur, kurangnya aktivitas fisik, stres, alkohol, jenis kelamin, monopause dan diet yang tidak sehat (Khdhiri *et al.*, 2021).

Isoproterenol adalah golongan agonis β -adrenergik dan katekolamin sintetik yang dapat menginduksi terjadinya infark miokard pada hewan coba/tikus. Pemberian ISO dengan dosis tinggi menginduksi terjadinya stress oksidatif pada sel miokard yang dapat menyebabkan hilangnya permeabilitas miokard, inflamasi, kurangnya suplai oksigen, overload kalsium dan peningkatan stress oksidatif (adameova *et al.*, 2018).

Kerusakan jantung yang terjadi karena ISO menghasilkan radikal bebas yang merangsang peroksidasi lipid dan menjadi factor utama dalam kerusakan permanen pada membran miokard. Pemberian ISO menyebabkan peningkatan denyut jantung sehingga terjadi peningkatan kebutuhan oksigen pada jantung. Selain itu, ISO juga menyebabkan peningkatan kadar kalsium sehingga terjadi perubahan morfologi dan integritas membran. Peningkatan kadar kalsium terjadi akibat peningkatan kadar cAMP pada sel miokard. ISO akan menghasilkan radikal bebas yang sangat sitotoksik melalui autoksidasi

katekolamin yang menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid dan menjadi factor utama dalam kerusakan permanen pada membran miokard dan mengarah ke arah perkembangan kardiomiopati (Afroz *et al.*, 2015 & Rona, 1985)

Bahan alam dapat digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. Salah satunya, dapat digunakan untuk mengurangi resiko terjadinya IM. Paliasa merupakan tumbuhan yang banyak ditemukan di Sulawesi Selatan dan telah digunakan untuk pengobatan. Menurut data base RISTOJA daun paliasa digunakan sebagai antimaliria. Selain itu, daun paliasa juga digunakan untuk mengobati beberapa penyakit seperti: kencing manis, demam, hepatitis, penyakit ginjal, gangguan lambung serta penyakit kolesterol (Wahyono, 2017).

Daun paliasa mengandung asam lemak dengan cincin sikloprenilat seperti scopoletin, flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, antraquinon, bufadienol dan cardenolin. Selain itu, telah dilakukan penelitian dengan mengisolasi berbagai senyawa pada daun paliasa dan ditemukan kaempferol 3-O-b-D-glucoside dan eleuthero, cycloartane triterpenoids termasuk asam gardenolic B, dan Kleinhospitines A, B, C, D. Sebagian besar senyawa bioaktif yang terdapat pada daun paliasa menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan sitotoksitas terhadap sel kanker serta memberikan efek hepatoprotektif (Arung *et al.*, 2012; Gan *et al.*, 2009; Zhou *et al.*, 2013; Mo *et al.*, 2014). Glikosida flavonoid yang terkandung daun paliasa memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan pada produksi tumor nekrosis factor α (TNF- α), interleukin 1 (IL-1) & interleukin 6 (IL-6) melalui inaktivasi NF-K β (Soromou, 2012). Berdasarkan hasil penelitian, daun paliasa dengan dosis 250 mg/KgBB memiliki potensi untuk mengurangi kerusakan jantung dan hati yang diinduksi doxorubicin (Djabir *et al.*, 2017).

Melihat potensi ekstrak daun paliasa pada penelitian-penelitian sebelumnya, peneliti tertarik untuk melihat efek pemberian daun paliasa dalam mencegah infark miokardium yang diinduksi oleh isoproterenol pada tikus. Model isoproterenol dipilih karena infark miokard yang terjadi akibat pemberian isoproterenol pada tikus mekanismenya hampir sama dengan pembentukan IM pada pasien/manusia. Diharapkan penelitian ini memberikan pengetahuan tambahan kepada masyarakat terkait efek

kardioprotektif daun paliasa sehingga dapat digunakan dalam kehidupan sehari-hari

B. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dapat mencegah peningkatan kadar *Creatine Kinase Myocardial Band* (CKMB) dan *Lactate dehydrogenase* (LDH) pada tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Isoproterenol?
2. Bagaimana efek pemberian ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) terhadap gambaran histologi jaringan jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi isoproterenol?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) dalam mencegah terjadinya infark miokard terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi isoproterenol

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) terhadap penurunan kadar *Creatinin Kinase Myocardial Band* (CKMB) dan *Lactate dehydrogenase* (LDH) setelah perlakuan.
- b. Untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun paliasa terhadap gambaran histologi jaringan jantung setelah pemberian isoproterenol.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Akademis

Memberikan informasi ilmiah dan pengembangan ilmu tentang efek ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) sebagai kardioprotektif dan dapat dijadikan rujukan untuk penelitian selanjutnya.

2. Manfaat Praktis

Jika terbukti ekstrak etanol daun paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) memiliki efek sebagai kardioprotektif. Maka, daun paliasa dapat digunakan secara luas oleh masyarakat sebagai pengobatan tradisional dan dapat diisolasi sehingga bisa digunakan sebagai bahan aktif pembuatan obat.

3. Manfaat Klinis

Penelitian ini dapat memberikan informasi terhadap tenaga medis tentang alternatif pencehaan infark miokard.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Infark Miokard

1. Definisi

Infark miokard (IM) adalah nekrosis pada otot jantung karena kekurangan oksigen kebutuhan miokardium yang tidak dapat disuplai oleh koroner. IM ditandai dengan rasa tidak nyaman dan nyeri dada yang menjalar sampai hingga ke bahu, lengan, punggung, leher ataupun rahang (Beckowski, 2015 & Ugwu *et al.*, 2016).

IM adalah kondisi ketika terjadi kematian pada sel miokard akibat iskemia yang berkepanjangan. Kematian sel miokard tidak terjadi segera setelah iskemia tetapi terjadi ketika iskemia berlangsung lebih dari enam jam (Azab & Elsayed, 2017).

2. Epidemiologi

Penyakit kardiovaskular merupakan penyakit yang paling banyak ditemukan pada masyarakat dan dapat menyebabkan kecacatan dan kematian. Menurut Data World Health Organization (WHO) tahun 2012 menunjukkan 17,5 juta orang di dunia meninggal akibat penyakit kardiovaskuler atau 31% dari 56,5 juta kematian di seluruh dunia. Lebih dari 3/4 kematian akibat penyakit kardiovaskuler terjadi di negara berkembang yang berpenghasilan rendah sampai sedang. Dari seluruh kematian penyakit kardiovaskuler 7,4 juta (42,3%) di antaranya disebabkan oleh Penyakit Jantung Koroner (PJK) dan 6,7 juta (38,3%) disebabkan oleh stroke. (Kemenkes. RI, 2017). Prevalensi infark miokard akut dengan ST-elevasi saat ini meningkat dari 25% ke 40%. National Health Interview Survey menyatakan bahwa kematian yang disebabkan oleh IM adalah sekitar 114.020 sampai 151.863. Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC) performed by National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) menyatakan bahwa antara tahun 2005 dan 2014, diperkirakan ada 605.000 kasus IM baru dan 200.000 kasus IM berulang (Benjamin *et al.*, 2018).

3. Patofisiologi

Infark miokard (IM) disebabkan oleh iskemia miokard yang terjadi dalam waktu yang lama dan terjadi secara terus menerus. Karena kurangnya suplai oksigen pada miokard sehingga dapat menyebabkan penurunan ATP miokard yang relatif cepat. Penurunan ATP total biasanya terjadi setelah 40-60 menit terjadinya iskemia. Setelah itu, jantung akan berhenti berkontraksi dan terjadi pembengkakan sel diikuti dengan perubahan struktur miokard. Peristiwa ini dipicu oleh akumulasi H⁺ sebagai produk samping degradasi ATP. pH rendah menonaktifkan troponin C, menyebabkan masuknya Na⁺ dan penurunan ATP secara bertahap menyebabkan inaktivasi Ca²⁺ ATPase (penumpukan Ca²⁺ dan aktivasi apoptosis atau onkosis). (Senada *et al.*, 2022).

Kematian kardiomyosit yang terjadi baik melalui jalur onkotik maupun apoptosis. Jalur onkotik teraktivasi karena terjadinya peningkatan konsentrasi ion kalsium intraseluler atau karena disfungsi rantai pernapasan mitokondria yang menurunkan produksi ATP (Senada *et al.*, 2011 & Oliver 2011).

4. Diagnosis Klinik dan Klasifikasi IM

Diagnosis klinis IM berdasarkan pada peningkatan kadar troponin jantung yang diikuti dengan nyeri dada yang berkepanjangan, tes EKG atau adanya tanda iskemia dengan onset baru serta terdeteksi adanya trombus arter. Biomarker jantung memainkan peranan penting dalam IM. Biomarker jantung digunakan untuk mendiagnosa dan mengevaluasi keberhasilan terapi pada pasien IM. Biomarker jantung yang digunakan sebagai penanda klinis IM yaitu Creatine kinase-MB (CK-MB), troponin T jantung (cTnT), troponin I jantung (cTnI), mioglobin, homosistein dan protein C-reaktif (CRP) (Rashid *et al.*, 2017).

Berdasarkan patofisiologinya, IM diklasifikasikan menjadi 5 sub tipe yang berbeda (Michaud *et al.*, 2020).

IM tipe 1 adalah IM yang disebabkan oleh aterotrombosis pada arteri koroner yang dipicu oleh gangguan plak aterosklerosis (pecah atau erosi). IM tipe 2 merupakan cedera iskemik yang disebabkan karena ketidaksesuaian suplai-permintaan oksigen miokard, yang tidak disebabkan oleh aterotrombosis koroner. IM tipe 3 yaitu kondisi ketika pasien dicurigai IM karena terjadi perubahan EKG baru atau fibrilasi

vertikal dan meninggal sebelum dilakukan pemeriksaan biomarker. IM tipe 4 pasien telah didiagnosis IM dengan peningkatan biomarker jantung secara signifikan dan terjadi cedera iskemik < 48 jam setelah prosedur PCI. IM tipe 5 disebabkan oleh cedera iskemik yang terkait dengan pencangkokan bypass arteri koroner (CABG) dalam waktu 48 jam setelah prosedur. Hal ini berkaitan dengan prosedur, aliran rendah, dan kerusakan reperfusi (Michaud *et al*, 2020 & Janguard *et al.*, 2017)

5. Faktor Resiko

Ada berbagai faktor risiko yang dapat menyebabkan IM, diantaranya dapat dimodifikasi dan tidak dapat dimodifikasi. Berikut factor resiko terjadinya IM (Massberg, 2018 & Scheen, 2018)

a. Faktor resiko yang tidak dapat di modifikasi:

- Jenis kelamin
- Umur
- Riwayat keluarga

b. Faktor resiko yang dapat dimodifikasi

- Merokok
- Dislipidemia
- Diabetes mellitus
- Hipertensi
- Obesitas
- Penyakit pembuluh darah perifer

c. Faktor lain

- Trauma
- Vasculitis
- Penggunaan obat (kokain)
- Anemia & hipertiroid
- Gangguan arteri koroner
- Diseksi aorta

B. Paliasa

1. Morfologi dan Taksonomi

Paliasa merupakan salah satu tumbuhan tropis yang tersebar di seluruh wilayah Indonesia. Paliasa memiliki pohon yang berukuran pendek hingga sedang dengan tinggi sekitar 5-20 m. batang palisa

memiliki warna kelabu, dengan rating berwarna abu-abu kehijauan. Daunnya memiliki tangkai yang berukuran 3-5 cm x 5-10 cm. Daun palisa berbentuk jantung lebar dan memiliki ukuran 4,5-27 x 3-24 cm serta bertulang dengan daun menjari. Bunga paliasa berada dalam satu untaian yang terdapat pada ujung ranting. Bunga paliasa memiliki lima kelopak yang berbentuk lanset dan memiliki ukuran 6-19 mm serta berwarna merah muda (eFloras, 2016).

Klasifikasi *Kleinhovia hospita* L adalah sebagai berikut (USDA, 2016):

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dillenidae
Ordo : Malvales
Famili : Sterculiaceae
Genus : *Kleinhovia* L.
Spesies : *Kleinhovia hospita* L

2. Kandungan Biokimia

Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) mengandung beberapa senyawa aktif seperti eleutherol dan kaempferol 3-glukosida yang berfungsi sebagai zat antioksidan (Enos, 2012). Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun paliasa mengandung alkaloid (2,83 %), flavonoid (19,78%) dan saponin (14,23%). Beberapa senyawa telah berhasil diisolasi dari paliasa, diantaranya daun memiliki kandungan senyawa asam lemak dengan cincin siklopropenilik (scopoletin, kaempferol dan kuersetin), pentasiklik triterpenoid, steroid C29, sikloartane triterpenoid alkaloid (Kleinhospitines A, B, C, D), dan eleutherol. Kulit batang dan akar memiliki kandungan 2,3- dihidroksi-12-oleanen-28-oat dan 2-hidroksi-12- oleanen-28-oat (Dini & Darminto, 2012; Paramita, 2016; Zhou *et al*, 2013). (Yunita *et al.*, 2009). Ekstrak metanol daun Paliasa menunjukkan adanya efek antioksidan yang kuat jika dibandingkan dengan vitamin C melalui metode 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Arung *et al.*, 2009).

Sebagian besar senyawa bioaktif yang terdapat pada daun paliasa menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat dan sitotoksitas terhadap sel kanker serta memberikan efek hepatoprotektif (Arung *et al.*, 2012 & mon *et al.*, 2014) Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa daun paliasa memiliki efek sebagai hepatoprotektor dan kardioprotektor pada hewan yang telah diinduksi dengan doxorubicin (Djabir *et al.*, 2017).

3. Manfaat Penggunaan Daun Paliasa

Kleinhovia hospita L merupakan salah satu tumbuhan yang ditemukan di Indonesia. Masyarakat Sulawesi selatan biasanya menyebut tanaman ini dengan paliasa, sedangkan masyarakat Kalimantan timur mengenal tanaman ini dengan nama tahongai dan timoho untuk masyarakat jawa. Secara empiris, paliasa memiliki banyak aktivitas farmakologi hepatoprotektif, antihipertensi, antikanker, antidiabetes, antioksidan dan antimalaria. Selain itu, daun paliasa juga dipercaya masyarakat melindungi rambut dari kutu dan mampu mengobati penyakit kuning atau hepatitis (Djabir *et al.*, 2021).

C. Isoproterenol

Isoproterenol adalah golongan agonis β -adrenergik dan katekolamin sintetik. Pemberian ISO dengan dosis berlebih dan secara terus menerus dapat menginduksi terjadinya infark miokard pada hewan coba/tikus. Pemberian ISO menginduksi terjadinya stress oksidatif pada sel miokard yang dapat menyebabkan hilangnya permeabilitas miokard, inflamasi, defisiensi oksigen, overload kalsium dan produksi stress oksidatif yang berlebih (Adameova *et al.*, 2018)

Pengaruh pemberian isoproterenol

1. ISO memediasi stress oksidatif

Stress oksidatif memiliki peranan penting dalam perubahan struktur dan fungsi jantung. Stress oksidatif dihasilkan karena adanya *Reactive oxygen species* (ROS) dan mekanisme pertahanan antioksidan yang tidak seimbang dalam tubuh (Bagatini *et al.*, 2011). ROS yang diinduksi oleh ISO mengakibatkan perubahan sinyal, apoptosis, biosintesis matriks ekstraseluler dan hipertropi jantung (Remondino *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2007). Selain itu, meingkatnya

ROS menyebabkan peningkatan monoaldehid jantung dan pembentukan diena terkonjugasi dan menurunkan kadar superoksida dismutase (SOD) katalase dan glutathion peroksidase (Tappia *et al.*, 2001; Dhalla *et al.*, 2000). ISO meningkatkan pelepasan sitokrom-c dan aktivasi c-Jun NH2-terminal kinase (JNK), dan aktivitas kinase yang diatur sinyal ekstraseluler yang selanjutnya menghasilkan ROS dan menginduksi apoptosis (Remondino *et al.*, 2003; Saadane *et al.*, 1999).

2. ISO memediasi overload kalsium

Beberapa penelitian melaporkan bahwa over aktivasi reseptor β -adrenergik dapat menyebabkan peningkatan konsentrasi cAMP sehingga menyebabkan perubahan persinyalan seluler dan mengakibatkan peningkatan konsentrasi kalsium intraseluler di jantung. Peningkatan Ca^{2+} intraseluler menyebabkan terjadinya nekrosis sel dan kerusakan pada permeabilitas membrane, selain itu, peningkatan kadar kalsium juga menyebabkan peningkatan kontraktibilitas jantung, peningkatan kebutuhan oksigen dan penurunan ATP. Hal tersebut, yang menjadi faktor terjadinya cedera pada otot jantung. (Mann *et al.*, 1992; Iwase *et al.*, 1996; Geng *et al.*, 1999; Tokgozoglul, 2009).

3. ISO memediasi Inflamasi

Inflamasi memiliki kaitan dengan beberapa penyakit yaitu hipertensi, hiperkolesterolemia, hiperhomosisteinemia, deposisi lipid, diabetes dan merupakan salah satu penyebab penyakit kardiovaskular. Aktivasi NF- κ B bergantung pada β -2AR dan memerlukan pensinyalan yang melibatkan subunit protein G heteromer (G_i), Phosphatidylinositol-4,5-bisfosfat 3-kinase (PI3K), Protein kinase B (Akt) dan IKK. NF- κ B adalah faktor transkripsi yang berfungsi sebagai mediator penting dari respon inflamasi. proses. Faktor NF- κ B menginduksi produksi berbagai gen pro-inflamasi, termasuk yang mengkode sitokin seperti TNF- α dan IL-6, dan IL-1B. Sitokin pro-inflamasi dan jalur pensinyalan inflamasi ini dapat mengaktifkan apoptosis sel miokard dan mendorong perkembangan infark miokard (Jin *et al.*, 2016; ma *et al.*, 2017; zhang, 2018; Niessen *et al.*, 2003).

4. ISO memediasi peroksidasi lipid

ISO menginduksi peroksidasi lipid dalam membran mitokondria (Tappel, 1973). Saat radikal bebas ini menyerang PUFA dan membentuk

radikal peroksid, maka radikal ini dapat menyerang asam lemak yang berdekatan, sehingga menyebabkan 26 reaksi berantai peroksidasi lipid (LPO). Produk akhir lipid hidroperoksida ini berbahaya, dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kerusakan jaringan, yang akhirnya mengarah pada perkembangan kardiomiopati

D. Creatinin Kinase Myocardial band (CK-MB)

Terdapat 3 enzim isoenzim yang terdapat pada sirkulasi tubuh manusia yaitu CK-MM (CK-1) yang ditemukan pada otot rangka, CK-MB (CK-2) yang ditemukan pada otot jantung dan CK-BB (CK-3) yang ditemukan pada otak. Otot jantung memiliki kadar CK-MB paling besar (25 – 30%) dibandingkan di otot rangka (1%). CK-MB adalah enzim jantung yaitu creatinine kinase (CK) yang disusun oleh subunit M dan/atau B. CK berperan dalam menyediakan energi di otot sehingga dapat digunakan sebagai sumber energi dalam melakukan berbagai aktivitas. Secara umum, CK berperan sebagai perantara ikatan fosfat berenergi tinggi melalui kreatinin fosfat dari mitokondria ke sitoplasma. Sehingga, CK-MB terdapat pada jaringan yang membutuhkan energi yang besar seperti di tubulus ginjal dan otot jantung (Camp *et al.*, 2004; Ahmad, 2012; Ruseva, 2005; Mythili, 2012).

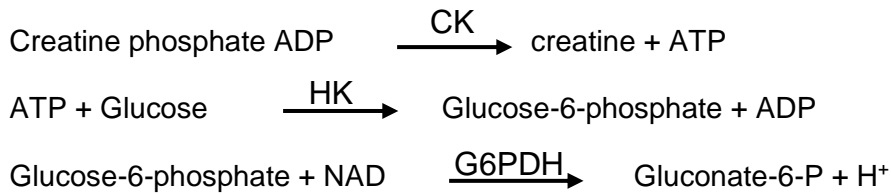
Nilai normal CK-MB yaitu ≤ 24 U/L dan ketika terjadi cedera pada miokardium maka kadar CKMB akan meningkat ≥ 24 U/L. Kadar CK-MB meningkat 4 hingga 9 jam setelah onset IM dan mencapai kadar puncak pada 12 hingga 24 jam dan kembali pada kadar normal pada 48 hingga 72 jam. Pengukuran CK-MB, fraksi CK-MB atau rasio CK-MB digunakan sebagai biomarker untuk Infark miokard akut. Selain CKMB, troponin juga digunakan sebagai biomarker penanda IM. Namun, CKMB memiliki kelebihan dibandingkan troponin yaitu pembersihan awal CK-MB memberikan informasi tambahan mengenai infark (Camp *et al.*, 2004; Ahmad, 2012; Ruseva, 2005; Mythili, 2012).

Prinsip Pengujian:

Pengukuran CK-MB adalah tes spesifik untuk mendeteksi kerusakan otot kardiak dan oleh karena itu digunakan untuk diagnosis dan pemantauan infark miokard.

kreatine kinase-MB terdiri dari subunit M dan B yang sama, aktivitas terukurnya adalah 50 persen yang ditemukan tanpa adanya antibodi.

Aktivitas monomer kreatine kinase-B kemudian ditentukan dalam urutan reaksi berikut



Dalam reaksi, kreatin kinase-B mengkatalisis transfer gugus fosfat dari substrat kreatin fosfat ke ADP. Pembentukan ATP selanjutnya diukur melalui penggunaan dua reaksi gabungan yang dikatalisis oleh heksokinase (HK) dan glukosa-6-fosfat dehidrogenase dari NADP. NADPH yang terbentuk sebanding dengan aktivitas CK-MB.

E. Lactate Dehydrogenase (LDH)

Lactate Dehydrogenase (LDH) adalah enzim yang mentransfer hidrida dari satu molekul ke molekul lain. LDH berperan dalam mengkatalisis interkonversi laktat menjadi piruvat dan mengubah NAD^+ ke NADH dan sebaliknya (Parsanathan, 2019). Nilai LDH digunakan untuk melihat beberapa kondisi penyakit seperti miokarditis, kongesti hepatic dengan gagal jantung, leukimia, syok berat, anemia, anoreksia, hemolisis, nekrosis hati dan penyakit ginjal (Yeluri, 2018).

Terdapat 5 jenis LDH yaitu LDH-1 dan LDH-2 yang terdapat pada miokardium, eritrosit dan ginjal. LDH 4 dan LDH 5 dominann pada hati dan otot rangka. LDH 3 dan LDH 4 terdapat pada paru-paru, limfa, kelenjar endokrin dan kelenjar getah bening. Otot jantung kaya akan LDH 1 dan LDH 2, sehingga saat terjadi IM kadarnya akan meningkat dan aktivitas isoenzim H4 juga akan meningkat 5 sampai 10 kali dari kadar awal (Yeluri, 2018).

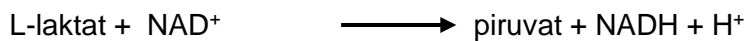
Pemeriksaan LDH saat IM memiliki sensitivitas sekitar 90% dan spesifitasnya 90-99% (Hutcheson & Rocic, 2012). Pada kondisi IM kadar serum LDH 1 akan lebih tinggi disbanding kadar serum LDH 2 karena ketika terjadi kerusakan pada jaringan jantung maka LDH 1 akan terlepas ke sirkulasi (Parsanathan, 2019). LDH 1 akan meningkat dalam waktu 10 sampai 12 jam setelah IM, mencapai kadar puncak pada 72 sampai 144 jam dan akan kembali pada kadar normal dalam jangka waktu 10 hari. Saat

pengambilan darah untuk pengukuran LDH, hindari hemolisis karena kadar LDH akan 100-150 kali lebih banyak di dalam RBC dibandingkan plasma. Sehingga, dapat memberikan hasil positif palsu (Manna & Jain, 2015).

LDH merupakan enzim yang digunakan untuk mendiagnosis kerusakan otot miokardium atau otot rangka. Selain itu, dapat digunakan sebagai data pendukung enzim jantung lain saat terjadi infark miokard.

Prinsip Pemeriksaan:

Laktat dehidrogenase (LDH) mengkatalisis konversi L-laktat menjadi piruvat. Dalam prosesnya, β -nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) di deoksidasi menjadi NADH. Perubahan absorbansi ini berbanding lurus dengan aktivitas LDH dalam sampel.



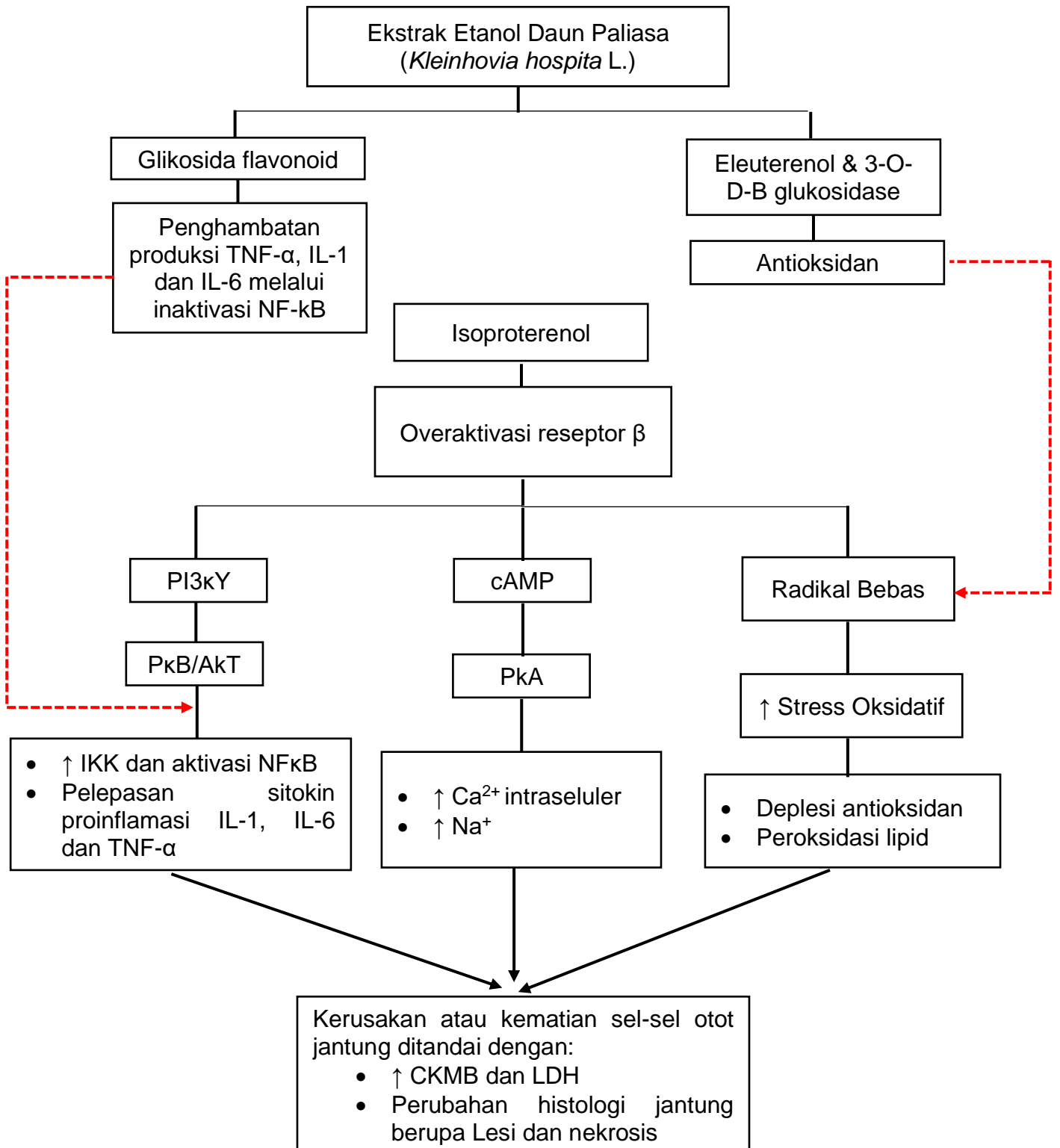
F. Pemeriksaan Histologi

Pemeriksaan histopatologi merupakan pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui perubahan abnormal yang terjadi pada tingkatan jaringan. Histopatologi dilakukan dengan mengamati jaringan atau sampel yang sudah dipersiapkan dalam bentuk slide. Pemeriksaan histologi memiliki banyak fungsi penting salah satunya untuk mendeteksi ataupun memeriksa suatu penyakit berdasarkan gambaran jaringan suatu organ. Pemeriksaan histologi jantung dilakukan oleh seorang profesional yang memiliki pengetahuan tentang gambaran histologi jaringan baik gambaran jaringan normal maupun jaringan abnormal.

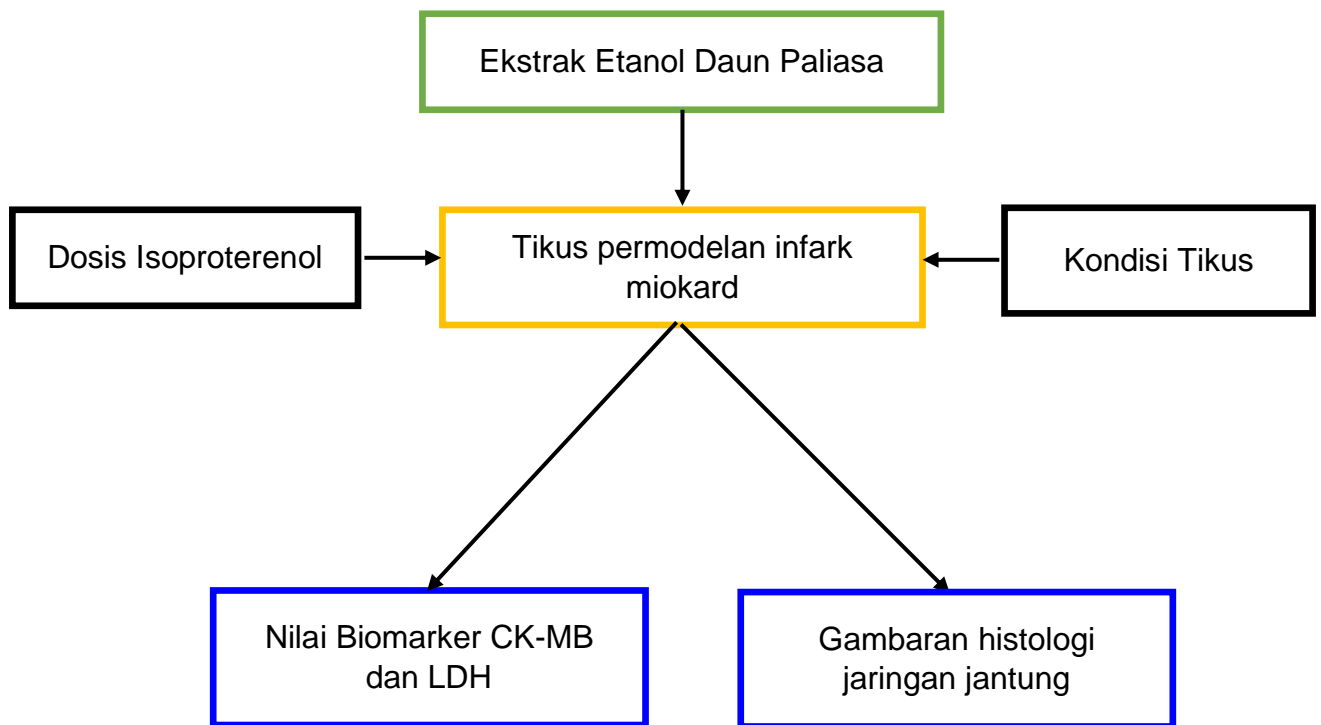
Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan membuat preparate atau slide kecil dari sel atau jaringan dari organ tubuh yang akan diamati. Preparat tersebut selanjutnya akan dibekukan dengan menggunakan blok parffin dan selanjutnya akan dipotong lagi menjadi lebih kecil. Potongan tersebut, kemudian disimpan keatas object glass dan kemudian dilakukan pewarnaan sesuai yang dibutuhkan salah satunya dengan menggunakan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Setelah dilakukan pewarnaan selanjutnya untuk mendapatkan hasil histopatologi preparate diamati dibawah mikroskop electron. Hasil preparate histologi akan menunjukkan tanda spesifik yang terlihat dari jaringan sel dan struktur jaringan yang normal maupun abnormal (Spector,1993).

Pewarnaan hematoxylin dan eosin (H&E) adalah pewarnaan yang paling sering digunakan untuk melihat suatu sampel jaringan dibawah mikroskop. Pewarnaan ini biasa digunakan untuk melihat abnormalitas atau normalitas dari suatu jaringan. Hematoxylin merupakan pewarna yang akan menempel pada DNA atau nukles dari sel dan akan merubahnya menjadi warna biru maupun ungu. Sedangkan, eosin merupakan pewarna yang akan menempel pada protein maupun bagian sel yang lain dan merubahnya menjadi warna merah maupun merah muda. Kombinasi Hematoxylin dan eosin banyak digunakan karena dapat membedakan berbagai jenis sel dan bagian sel yang berbeda dalam satu sel yang sama, sehigga memudahkan dalam melihat perbedaan antara sel yang sehat dan tidak sehat. Sehingga dapat mendeteksi terjadinya suatu penyakit (Pham *et al.*, 2014).

G. Kerangka teori



H. Kerangka Konsep



Keterangan:

- : Variabel Independent
- : Variabel Kontrol
- : Variabel Antara
- : Variabel Dependent