



Cardioprotective activity of Apples Juice on Isoproterenol-Induced Myocardial Infarction in Rat

Neng F. Kurniati¹, Yuthika R. Nadhirah¹

¹Kelompok Keilmuan Farmakologi-Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha No.10
 Bandung 40116

Submitted 16 August 2022; Revised 13 February 2023; Accepted 21 February 2023; Published 30 October 2023

*Corresponding author: nfkurniati@fa.itb.ac.id

Abstract

Myocardial infarction was local necrosis of heart tissue due to reduced oxygen supply because of the occlusion of coronary arteries. Fruits could reduce the risk of developing obesity and CVDs. Several studies have shown that apples had a strong cardioprotective effect. This study aimed to understand the cardioprotective activity of two variants of apples, e.g., Fuji and Malang, on isoproterenol-induced male Wistar rats. The cardioprotective activity test was carried out for 14 days, all testing group except negative control, was induced by isoproterenol. The results of testing cardioprotective activity showed that Fuji Apple juice and Apel Malang juice had the same capability to inhibit increasing cardiac biomarkers value (CK and CK-MB) with the highest inhibition was 79,56% and 73,08% for Fuji Apples, 69,18% and 43,04% for Apel Malang. The result of the cardiac histopathology examination showed that both Apples could prevent cardiac tissue damage. All juice Apple doses had the same cardioprotective activity.

Keywords: cardioprotective, myocardial infarction, isoproterenol, Fuji Apple, Apel Malang.

Aktivitas Kardioprotektif Jus Apel Pada Tikus Infark Miokard yang Diinduksi Isoproterenol

Abstrak

Infark miokard merupakan nekrosis pada jaringan jantung yang disebabkan oleh kurangnya asupan oksigen akibat oklusi yang terjadi di arteri koroner. Konsumsi banyak buah dapat mengurangi perkembangan obesitas dan penyakit jantung. Dalam beberapa studi menunjukkan bahwa apel memiliki efek kardioprotektif yang kuat. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas kardioprotektif dari 2 varian apel yaitu Apel Fuji dan Apel Malang pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi isoproterenol. Pada pengujian aktivitas kardioprotektif dilakukan selama 14 hari, semua kelompok uji selain kelompok kontrol negatif diinduksi menggunakan isoproterenol. Hasil pengujian aktivitas kardioprotektif menunjukkan bahwa jus Apel Fuji dan jus Apel Malang memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat peningkatan biomarker jantung (CK dan CK-MB) dengan persentase hambatan terbesar 79,56% dan 73,08% untuk Apel Fuji serta 69,18% dan 43,04% untuk Apel Malang. Hasil histopatologi jantung menunjukkan bahwa kedua Apel tersebut dapat mencegah kerusakan pada jaringan jantung. Semua dosis jus Apel yang diberikan memiliki aktivitas kardioprotektif yang sama.

Kata Kunci: kardioprotektif, infark miokard, isoproterenol, Apel Malang, Apel Fuji

1. Pendahuluan

Penyakit kardiovaskular merupakan penyebab utama kematian secara global. Diperkirakan sebanyak 17,9 juta orang meninggal pada tahun 2019 disebabkan oleh penyakit kardiovaskular, sebesar 85% orang yang meninggal disebabkan oleh serangan jantung dan stroke.¹ Di *United States* dan *United Kingdom*, terdapat 650.000 dan 180.000 pasien yang mengalami infark miokard akut pertahunnya. Di seluruh dunia, lebih dari 3 juta orang mengalami STEMIs dan 4 juta orang mengalami NSTEMI.²

Dari data yang dilaporkan oleh *American Heart Association* pada tahun 2015, didapatkan bahwa laju mortalitas pasien dengan infark miokard berada dalam rentang 7,8% - 11,4%.² Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar atau Riskesdas tahun 2018 prevalensi penduduk Indonesia pada semua umur pada semua provinsi dengan penyakit jantung terdapat 1.017.290 orang.

Infark miokard atau serangan jantung merupakan nekrosis lokal pada jaringan jantung yang disebabkan oleh terganggunya transportasi darah ke jantung.³ Dalam beberapa studi menunjukkan bahwa buah seperti anggur, *blueberry*, delima, apel dan alpukat memiliki efek kardioprotektif yang kuat. Mekanisme kardioprotektif dari buah-buahan tidak ditemukan secara jelas, namun buah memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan penangkal radikal bebas.⁴

Apel merupakan buah-buahan kedua yang paling banyak dikonsumsi, pada studi epidemiologi terbaru menunjukkan bahwa mengonsumsi apel berkaitan dengan penurunan kejadian penyakit kardiovaskular.⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Ahmad et al.³ menunjukkan bahwa Apel Fuji memiliki efek profilaksis dan protektif terhadap kardiotoxik pada tikus yang disebabkan oleh isoprenaline. Pada suatu studi lain, ditemukan bahwa konsumsi banyak apel menunjukkan penurunan resiko *stroke* trombolitik ketika dibandingkan dengan orang yang mengonsumsi sedikit apel. Apel mengandung flavonoid dan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan.³

Indonesia memiliki jenis apel yang

khass yaitu Apel Malang. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas kardioprotektif jus Apel Fuji (*Malus pumila* Mill.) dan jus Apel Malang (*Malus sylvestris*.) pada tikus yang diinduksi infark miokard menggunakan isoproterenol.

2. Metode

2.1. Alat

Kandang tikus berukuran 40cm x 20cm x 20 cm, *blender*, alat saring atau kertas saring, *beaker glass* Herma, gelas ukur Herma, timbangan elektronik, kertas timbang, batang pengaduk, mortar, *pestle*, pipet, tabung reaksi Iwaki, rak tabung reaksi, kaca objek, *cover glass*, mikrotom, mikropipet DragonLab, tip mikropipet *Onemed*, *tweezers*, *vial*, sonde oral, jarum 26 G *Onemed*, *syringe*, alat sentrifugasi, mikroskop, dan *photometer Microlab 300*.

2.2. Bahan

Kit uji enzimatis ALT, CK, CK-MB yang diperoleh dari Greiner, kit uji enzimatis LDH yang diperoleh dari DiaSys *Diagnostic*, kit uji enzimatis AST yang diperoleh dari *Glory Diagnostic*, Apel Fuji, Apel Malang, tablet atenolol 50 mg, isoproterenol, larutan NaCl 0,9%, Na-CMC, FeCl₃, formaldehid, NaOH, gelatin, magnesium, HCl pekat, amil alkohol, natrium asetat, kalium iodida, bismuth nitrat, HgCl₂, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, eter, kloroform, Aquades, etanol 70%, etanol 80%, etanol 90%, etanol 96%, etanol absolut, toluene, xylol, paraffin, *buffer* formalin, dan zat pewarna hematoksilin-eosin. Apel Fuji dan Apel Malang telah dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan FMIPA UNPAD (No.12/HB/01/2022 dan No.13/HB/01/2022).

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Bahan Uji

Apel Fuji (263 g) dan Apel Malang (129 g) tanpa tangkai dicuci menggunakan air mengalir kemudian dipotong-potong kedalam bentuk yang lebih kecil. Potongan apel tersebut diblender tanpa menggunakan air atau pelarut apa pun. Apel diblender dalam beberapa menit hingga hancur,

kemudian diperas menggunakan kain saring hingga didapatkan hanya airnya saja, yaitu sebanyak 155 ml jus Apel Fuji dan 60 mL jus Apel Malang. Jus apel yang sudah jadi di masukkan ke dalam wadah lalu disimpan dalam lemari pendingin dalam suhu -20°C selama 14 hari. Penyimpanan jus apel dalam suhu rendah dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada suhu rendah degradasi polifenol dapat diperlambat dan dapat terjadi selama 150 hari.⁵

2.3.2. Hewan Uji

Hewan yang digunakan merupakan Tikus galur Wistar jantan berumur sekitar 2 bulan dengan berat 200 – 280 g. Tikus diperoleh dari Laboratorium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung (SITH ITB). Pengujian dengan hewan ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penggunaan Hewan Percobaan dengan nomor 09/KEPHP-ITB/11-2021.

2.3.3. Pengelompokkan Hewan Uji

Hewan uji dikelompokkan ke dalam 9 kelompok secara acak, dalam satu kelompok terdiri atas 3 ekor tikus sehingga total tikus yang terlibat pada percobaan ini adalah 27 ekor. Sembilan kelompok uji tersebut terdiri atas kontrol positif, kontrol negatif, pembanding, dan 6 kelompok uji. Tikus pada kelompok kontrol negatif diberikan Na-CMC 0,05% oral dan tidak diinduksi infark miokard, sedangkan tikus pada kelompok kontrol positif diberikan Na-CMC 0,05% oral dan diinduksi infark miokard. Tikus pada kelompok pembanding diberikan Atenolol (9 mg/kgBB) oral dan diinduksi infark miokard. Tiga kelompok dari 6 kelompok uji diberikan jus Apel Fuji dengan dosis masing-masing kelompok 5 mL/kgBB; 10 mL/kgBB; 15 mL/kgBB tikus, dan tiga kelompok yang tersisa diberikan jus Apel Malang dengan dosis masing-masing kelompok 5 mL/kgBB; 10 mL/kgBB; 15 mL/kgBB tikus. Dosis yang diberikan pada tiap tikus disesuaikan dengan kelompok uji dari tikus tersebut. Kemudian tikus-tikus pada kelompok uji diinduksi infark miokard dengan pemberian isoproterenol 85 mg/kgBB intraperitoneal.

2.3.4. Penapisan Fitokimia

Pemeriksaan flavonoid, dilakukan dengan menyiapkan 2,5 mL jus apel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,05 g serbuk magnesium, 0,5 mL asam klorida pekat, dan 5 mL amil alkohol. Campuran larutan tersebut dikocok dan dibiarkan memisah. Kemudian diamati warna dari campuran larutan tersebut.⁶

Pemeriksaan tanin dilakukan dalam tiga bagian dimana Jus apel dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi dengan volume masing-masing 2,5 mL. Pada tabung pertama ditambahkan 0,5 mL besi (III) klorida 5% lalu diamati perubahan warna menjadi biru kehitaman pada tabung reaksi. Tabung kedua ditambahkan 0,1 mL gelatin 10%, lalu diamati terbentuk atau tidaknya endapan berwarna putih. Sementara tabung ketiga ditambahkan 0,5 mL pereaksi Stiasny lalu dipanaskan, lalu diamati ada atau tidaknya endapan berwarna merah. Pemeriksaan tanin galat dilakukan dengan menyaring filtrat dari pemanasan larutan campuran Stiasny dengan larutan uji, kemudian filtrat tersebut ditambahkan 0,5 mL natrium asetat 1 M lalu ditambahkan 0,5 mL besi (III) klorida 5%, diamati ada atau tidaknya perubahan warna menjadi biru kehitaman.⁶

Pemeriksaan kuinon, dilakukan dengan menyiapkan 2,5 mL jus apel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 tetes NaOH 1 N. Diamati ada atau tidak endapan berwarna merah.⁶

Pemeriksaan saponin, dilakukan dengan menyiapkan 10 mL jus apel lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dikocok secara vertikal dengan kuat selama 10 detik hingga terbentuk buih stabil setinggi 1-10 cm selama 10 menit. Diamati terbentuknya buih dan kestabilan dari buih setelah diberikan beberapa tetes asam klorida 2 N.⁶

Pemeriksaan Alkaloid, dilakukan dengan beberapa tahapan. Sebanyak 1 mL jus apel lalu ditambahkan dengan 10 mL HCl 2 N, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 5 mL amonia 25% dan diekstraksi cair-cair dengan 20 mL kloroform. Lapisan kloroform diambil dan sebagian diteteskan pada kertas saring dan direaksikan dengan pereaksi

Dragendorff lalu diamati apakah terbentuk warna jingga pada kertas saring. Sisa lapisan kloroform diekstraksi cair-cair dengan 10 mL HCl 2 N dan lapisan air dipisahkan dari lapisan kloroform. Sebanyak 5 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi untuk diuji menggunakan pereaksi Mayer, kemudian diamati ada atau tidaknya endapan berwarna putih. Sebanyak 5 mL lapisan air dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diuji menggunakan pereaksi Dragendorff, diamati ada atau tidaknya endapan berwarna merah bata yang bertahan selama 15 menit.⁶

Pemeriksaan steroid, dilakukan dengan menyiapkan kurang lebih 0,5 – 0,8 mL jus apel lalu ditambahkan 20 mL eter dan digerus di dalam mortar, lalu disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam cawan penguap dan dibiarkan menguap. Kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Liebermann-Burchard. Kemudian, diamati terbentuknya warna hijau-biru atau merah-ungu.⁶

2.3.5. Pengujian Aktivitas Kardioprotektif

Tikus diaklimatisasi selama 14 hari sebelum pengujian dimulai. Pengujian dimulai dengan pemberian sediaan sesuai dengan kelompok uji selama 14 hari. Pada hari ke-13 dan ke-14 semua kelompok, kecuali kelompok kontrol negatif diinduksi dengan isoproterenol 85 mg/kgBB secara intraperitoneal. Setelah 24 jam dari pemberian terakhir isoproterenol, tikus dikorbankan dengan dimasukkan ke dalam *chamber* yang dialirkan gas CO₂. Pengambilan sampel uji berupa darah tikus melalui rute intrakardiak dan organ jantung dilakukan segera setelah hewan mati.

2.3.6. Pengumpulan Sampel Darah

Darah diambil melalui rute intrakardiak pada saat tikus setengah sadar, kemudian darah tersebut disentrifugasi pada 12000 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum. Serum yang didapatkan disimpan pada suhu -20°C hingga diperlukan untuk penentuan kadar AST, ALT, CK, CK-MB, dan LDH dalam satuan U/I. Nilai atau kadar AST, ALT, CK, CK-MB, dan LDH yang didapatkan diinterpretasikan untuk mengevaluasi

aktivitas kardioprotektif dari Jus Apel Malang dan Jus Apel Fuji.

2.3.7. Pengujian Histopatologi Jantung

Jantung diambil setelah hewan dikorbankan, kemudian direndam dalam alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut, kemudian direndam dalam toluot untuk dehidrasi jantung. Setelah dilakukan dehidrasi, jantung disematkan dalam paraffin dan dipotong dengan ketebalan 5 µm. Potongan jantung tersebut diwarnai menggunakan haematoxylin dan eosin, kemudian dilakukan pengamatan mikroskopik menggunakan mikroskop *fluorescence* pada pembesaran 40x. Photomicrographs diambil menggunakan kamera *handphone* dan dilakukan pemeriksaan histopatologi.

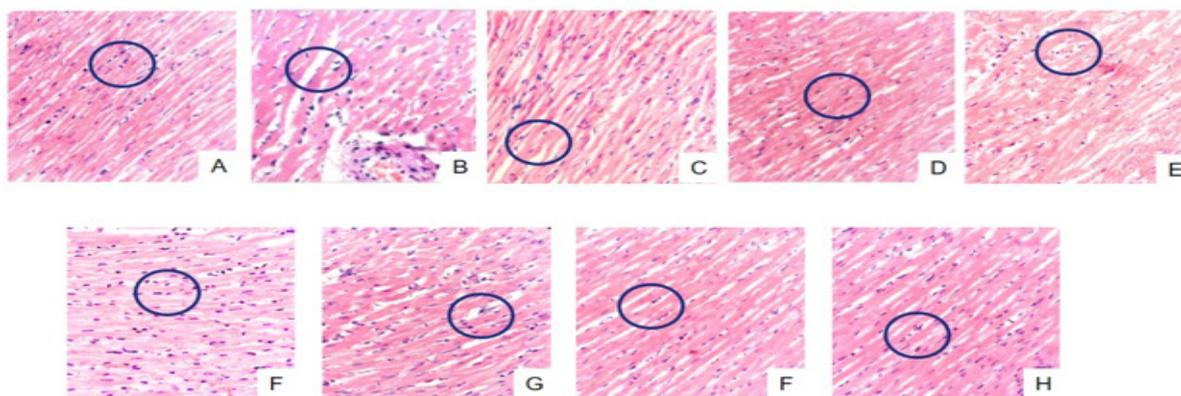
2.3.8. Analisis Statistika

Parameter pengujian dianalisis menggunakan metode statistik *One-way ANOVA* ($p < 0,05$) dengan *post hoc* LSD dengan *software* SPSS.

3. Hasil

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam jus Apel Fuji dan jus Apel Malang yang dapat berpengaruh dalam aktivitas kedua jus tersebut sebagai kardioprotektif. Pada tabel 1, hasil pemeriksaan fitokimia menunjukkan bahwa jus Apel Fuji dan jus Apel Malang mengandung senyawa flavonoid, fenol, tannin katekat, dan steroid. Berdasarkan laporan yang telah ada, pada jus Apel Malang terkandung senyawa flavonoid, tanin, dan polifenol.⁷ Sedangkan, pada Apel Fuji terkandung senyawa fenolik, seperti asam galat, asam kafeat, asam klorogenat, dan asam protokatekat.⁸

Pada Tabel 2 pada semua *biomarker* jantung, kecuali ALT menunjukkan peningkatan nilai yang signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pada parameter ALT terlihat adanya peningkatan nilai pada kontrol positif dibandingkan dengan kontrol negatif walaupun tidak signifikan. Maka dapat disimpulkan bahwa



Gambar 1. Histopatologi Jantung tikus menggunakan pewarnaan H&E dengan perbesaran 40x10. a) kelompok kontrol negatif, b) kelompok kontrol positif, c) kelompok pembanding (atenolol), d) Apfel Fuji 5 mL/kgBB, e) Apfel Fuji 10 mL/kgBB, f) Apfel Fuji 15 mL/kgBB, g) Apfel Malang 5 mL/kgBB, h) Apfel Malang 10 mL/kgBB, i) Apfel Malang 15 mL/kgBB.

pemberian isoproterenol 85mg/kgBB melalui rute intraperitoneal selama 2 hari berturut-turut berhasil menginduksi infark miokard pada seluruh subjek hewan. Pada penelitian ini digunakan atenolol sebagai pembanding karena atenolol merupakan obat-obatan golongan *beta-blocker* yang memiliki mekanisme berlawanan dengan isoproterenol yang bekerja sebagai beta adrenergik, namun dalam penelitian ini atenolol tidak menunjukkan hasil yang baik dalam menghambat peningkatan nilai *biomarker*. Maka, sampai saat ini belum ada obat yang dapat dijadikan pembanding untuk model hewan infark miokard.

Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa atenolol memiliki penurunan nilai AST yang signifikan ($p < 0,05$) terhadap kelompok positif. Hal ini menunjukkan bahwa atenolol dapat menghambat peningkatan aktivitas AST pada serum akibat induksi isoproterenol. Semua dosis untuk Apfel Fuji dan Apfel Malang tidak menunjukkan penurunan nilai AST yang

signifikan ($p > 0,05$) terhadap kontrol positif. Walaupun begitu nilai AST untuk kelompok yang diberi Apfel Fuji 10mL/kgBB, Apfel Fuji 5mL/kgBB, Apfel Malang 10mL/kgBB, dan Apfel Malang 5mL/kgBB memiliki nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positif.

Jantung tikus yang tidak diinjeksikan isoproterenol menunjukkan struktur dan bentuk normal dari jaringan jantung (Gambar 1). Pada kontrol positif, yaitu jantung tikus yang diinjeksikan isoproterenol menunjukkan terjadinya kerusakan struktur dan pemisahan jaringan jantung (Gambar 1). Pada penelitian yang dilakukan oleh Jain et al.⁹ isoproterenol dapat menyebabkan kerusakan struktur dan bentuk dari sel jantung dengan peningkatan infiltrasi *neutrophil* dan udem pada jaringan jantung. Selain, itu juga terlihat adanya pemisahan pada jaringan otot jantung dan inflamasi pada sel.

Pada jantung hewan yang diberikan jus Apfel Fuji dan Jus Apfel Malang (Gambar

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Pada Jus Apfel Fuji dan Jus Apfel Malang

| Penapisan Fitokimia | Apfel Fuji | Apfel Malang |
|------------------------|------------|--------------|
| Flavonoid | + | + |
| Senyawa Fenolik | + | + |
| Senyawa Golongan Tanin | + | + |
| Tanin Katekat | + | + |
| Tanin Galat | - | - |
| Kuinon | - | - |
| Alkaloid | - | - |
| Steroid | + | + |
| Saponin | - | - |

Keterangan: tanda (+) = menunjukkan hasil positif; tanda (-) = menunjukkan hasil negatif

Tabel 2. Efek Pemberian Jus Apel Terhadap Kadar *Biomarker* Jantung pada Hewan Infark Miokard yang Diinduksi dengan Isoproterenol

| Kelompok Uji | Biomarker Jantung (U/I) | | | | |
|--------------------------|-------------------------|-------------|---------------|---------------|-------------|
| | CK | CK-MB | LDH | AST | ALT |
| Negatif | 76,7±10,8 | 206,4±18,2 | 688,3±398,7 | 142,98±6,7 | 76,9±11,7 |
| Positif | 231,1±46,7# | 312,9±38,3# | 1309,5±388,3# | 175,427±17,7# | 93,1±12 |
| Pembanding | 111,9±20,7* | 244,4±54,5 | 1004,32±177,5 | 117,65±16,2* | 112,2±30,6# |
| Apel Fuji 5mL/ kgBB | 49,3±12* | 129,8±37,7* | 1443,8±121,4# | 171,2±8,6 | 86,6±8,24 |
| Apel Fuji 15mL/ kgBB | 81,7±34,9* | 84,2±54,6* | 962,49±311,9 | 236,31±79,1 | 93,3±4,3 |
| Apel Malang 5mL/kgBB | 95,3±10,7* | 365,9±63# | 1158,18±380,2 | 167,205±21,8 | 89,93±12,6 |
| Apel Malang 10mL/kgBB | 71,2±16,4* | 178,2±65,9* | 1113,6±616,6 | 154,21±65,1 | 93,6±22,5 |
| Apel Malang 15mL/kgBB | 94,8±34,4* | 183,1±65,8* | 944,146±266,4 | 190,64±80 | 102,4±36,3 |

Keterangan: *berbeda signifikan dengan kelompok positif ($p < 0,05$); # = berbeda signifikan dengan negatif ($p < 0,05$).

1) tidak menunjukkan terjadinya inflamasi, infiltrasi neutrofil, dan kerusakan struktur jantung yang cukup parah. Pada penelitian yang dilakukan oleh Ahmad et al.³, hasil histopatologi jantung teramati bahwa pemberian jus Apel Fuji (3 mL/kgBB p.o.) pada tikus yang diinduksi isoproterenol memiliki sedikit nekrosis jaringan jantung, hampir tidak menunjukkan adanya inflamasi pada sel jantung, pengurangan vakuola pada endocardium dan fagositosis jaringan jantung.

4. Pembahasan

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam jus Apel Fuji dan jus Apel Malang yang dapat berpengaruh dalam aktivitas kedua jus tersebut sebagai kardioprotektif. Pada pemeriksaan fitokimia yang dilakukan menunjukkan bahwa jus Apel Fuji dan jus Apel Malang mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, dan steroid. Pada jus Apel Malang terdapat kandungan senyawa flavonoid, tanin, dan polifenol.⁶ Sedangkan, pada Apel Fuji terkandung senyawa fenolik, seperti asam galat, asam kafeat, asam klorogenat, dan asam protokatekat.⁸

Pada pengujian aktivitas kardioprotektif, digunakan tikus galur Wistar jantan sebagai subjek uji. Tikus yang digunakan berusia sekitar 2 bulan dengan bobot badan berkisar

210-280 gr. Tikus yang digunakan berjumlah 3 ekor untuk setiap kelompoknya. Sediaan uji yang diberikan adalah Jus Apel Fuji dan Apel Fuji dengan dosis masing-masing adalah 15 mL/kgBB; 10 mL/kgBB; 5 mL/kgBB tikus. Dosis ini diperoleh dari konversi konsumsi satu buah apel perhari pada manusia terhadap tikus. Satu buah Apel Fuji tanpa bagian tengah dengan berat 263 g menghasilkan 155 mL jus, sedangkan sebuah Apel Malang tanpa bagian tengah dengan berat 129 gr menghasilkan 70 mL jus.

Pada penelitian ini, digunakan pembanding, yaitu atenolol. Atenolol yang digunakan berasal dari tablet Farnormin yang mengandung 50 mg atenolol. Dosis atenolol diperoleh dari konversi dosis harian atenolol (100 mg /hari) pada manusia terhadap tikus. Pengujian *biomarker* jantung menggunakan serum darah jantung tikus yang telah disimpan didalam *freezer* -20°C.

Isoproterenol merupakan agonis beta-adrenergik yang sangat kuat, zat tersebut menghasilkan radikal bebas yang dapat meningkatkan terjadinya peroksidasi asam lemak rantai ganda pada membran sehingga menyebabkan kerusakan pada integritas struktural dan fungsional dari jaringan jantung bersamaan dengan perubahan dalam permeabilitas membran.⁹ Ketika sel jantung rusak karena kekurangan asupan oksigen atau

glukosa, dapat menyebabkan membran sel jantung pecah sehingga enzim didalamnya dapat keluar.¹⁰

Creatine kinase (CK) merupakan enzim yang banyak ditemukan di beberapa jaringan, terutama pada jaringan skelet dan miokardium.¹¹ Peningkatan kadar CK tidak spesifik hanya pada jantung, namun menunjukkan adanya kerusakan pada otot. Ketika terjadi infark miokard akut akan terjadi peningkatan enzim CK sekitar empat hingga sembilan jam setelahnya, dan mencapai puncak setelah 24 jam, kemudian kembali ke kadar awal setelah 48 hingga 78 jam.¹⁰

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *One Way ANOVA* didapatkan perbedaan rata-rata nilai CK yang signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok uji. Pada tabel 2 dapat dilihat terdapat penurunan nilai CK yang signifikan antara kelompok positif dengan kelompok pembanding dan kelompok bahan uji. Hal ini menunjukkan bahwa Atenolol, jus Apel Fuji, dan jus Apel Malang, ketiganya memiliki kemampuan dalam melemahkan peningkatan aktivitas CK pada serum akibat induksi isoproterenol.

CK merupakan enzim yang mengkatalis perubahan *creatine* dan ATP menjadi *creatine phosphate* dan ADP. CK berperan pada mitokondria dan sitosol pada sel otot. Enzim dimer dari CK terdiri dari 2 subunit M dan B, yang menghasilkan tiga isoenzim, yaitu CK-BB, CK-MB, dan CK-MM.¹² CK-MB merupakan isoenzim yang dapat ditemukan di jantung, otot skelet, usus kecil, diafragma uterus, lidah, dan prostat. CK-MB mencapai nilai tertinggi dalam 24 jam setelah kerusakan jaringan jantung, dan peningkatannya dimulai sejak 4 hingga 9 jam setelah terjadinya kerusakan. Kemudian, kembali pada kadar normal setelah 48 hingga 78 jam. Jumlah kadar CK dan CK-MB berkaitan dengan ukuran infark.¹³

Lactate dehydrogenase (LDH) merupakan enzim pada jalur glikolisis yang mengkatalis oksidasi dari L-laktat menjadi piruvat.¹⁴ Pada penelitian yang dilakukan oleh Wroblewski dan LaDue menunjukkan adanya peningkatan dalam aktivitas LDH dalam serum pada pasien dengan infark miokard

akut (AMI). LDH akan meningkat dalam darah 5 – 10 jam setelah infark miokard akut dan kembali ke nilai normal dalam 12 hari.¹⁵

Pada *biomarker* LDH, hewan yang diberikan jus Apel Fuji dosis 15 mL/kgBB dan 10 mL/kgBB menunjukkan terdapat peningkatan LDH yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Pada penelitian ini, tidak terdapat penurunan nilai LDH yang signifikan antara seluruh kelompok bahan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Namun, nilai LDH pada kelompok pembanding (atenolol), Apel Fuji dosis 15 mL/kgBB, dan seluruh dosis Apel Malang menunjukkan nilai yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Aspartate aminotransferase (AST) merupakan *biomarker* yang diidentifikasi untuk mendiagnosis infark miokard akut. Peningkatan kadar ST dalam sirkulasi dapat disebabkan oleh kerusakan jaringan dan iskemia miokard atau nekrosis sel miokard.¹⁶ Kadar AST akan meningkat dalam darah 3-4 jam setelah terjadi infark miokard dan mencapai nilai maksimum dalam darah dalam 15-28 jam lalu kembali mencapai nilai normal dalam waktu 5 hari. Walaupun AST memiliki sensitivitas yang tinggi untuk infark miokard akut, AST merupakan *biomarker* non-spesifik dari jaringan jantung karena peningkatan aktivitasnya dapat disebabkan oleh kondisi lainnya seperti kongesti hepatis *sekunder*; *myocarditis*, perikarditis, *tachyarrythmias*, *pulmonari embolism*, dan *shock*.¹⁴

Alanine aminotransferase (ALT) merupakan enzim yang paling banyak berada di hepatosit dan epitelium tubulus ginjal. Namun, aktivitasnya juga dapat ditemukan di otot skelet dan otot jantung.¹⁷ Ketika terjadi infark miokard akut, aktivitas metabolik dan laju perfusi pada hati akan meningkat dan terjadi perubahan sirkulasi akut yang secara langsung akan mempengaruhi aliran darah hepatis. Kegagalan dalam sirkulasi dapat memicu mekanisme kompensasi pada hati yang menyebabkan disfungsi hepatoselular dan peningkatan AST/ALT.¹⁸

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata nilai

ALT yang signifikan ($p > 0,05$) pada semua kelompok uji. Pada tabel 2 dapat dilihat bahwa peningkatan nilai ALT pada kelompok kontrol positif tidak signifikan ($p > 0,05$) terhadap kelompok kontrol negatif. Sehingga induksi dari isoproterenol dapat dikatakan tidak dapat meningkatkan aktivitas ALT dalam serum. Walaupun begitu, nilai ALT pada kelompok kontrol negatif tetap lebih rendah dari kelompok kontrol positif. Apel Fuji dosis 10 mL/kgBB menunjukkan peningkatan nilai ALT yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan juga memiliki peningkatan ALT yang lebih tinggi dibandingkan kontrol positif.

Evaluasi aktivitas kardioprotektif dari Apel Fuji dan Apel Malang dilakukan dengan melihat kemampuan kedua apel tersebut dalam menghambat peningkatan *biomarker* jantung dibandingkan dengan kelompok kontrol positif yang dapat dilihat pada tabel 3. Pada parameter CK, kemampuan tertinggi untuk menghambat peningkatan CK dibandingkan dengan kontrol positif terlihat pada kelompok yang diberi jus Apel Fuji dosis 10 mL/kgBB (79,57%), diikuti dengan Apel Fuji dosis 5 mL/kgBB (78,65%), Apel Malang dosis 10 mL/kgBB (69,18%), Apel Fuji Dosis 15 mL/kgBB (64,61%), Apel Malang dosis 15 mL/kgBB (58,99%), Apel Malang dosis 5 mL/kgBB (58,75%), dan atenolol (51,59%). Dengan rata-rata persentase penghambatan peningkatan CK pada hewan yang diberikan Apel Fuji sebesar 74,27% dan 62,31% pada hewan yang diberikan Apel Malang.

Pada parameter CK-BM, kemampuan tertinggi untuk menghambat peningkatan CK-MB dibandingkan dengan kontrol positif terlihat pada kelompok yang diberi jus Apel Fuji dosis 15 mL/kgBB (73,08%), diikuti dengan Apel Fuji Dosis 5 mL/kgBB (58,52%), Apel Fuji dosis 10 mL/kgBB (48,36%), Apel Malang dosis 10 mL/kgBB (41,47%), Apel Malang dosis 15 mL/kgBB (43,04%), dan atenolol (21,87%). Rata-rata persentase penghambatan peningkatan CK-MB pada hewan yang diberikan Apel Fuji sebesar 59,98% dan 26,68% pada hewan yang diberikan Apel Malang.

Pada parameter LDH, kemampuan

tertinggi untuk melemahkan peningkatan LDH dibandingkan dengan kontrol positif terlihat pada kelompok yang diberi Apel Malang 15 mL/kgBB (27,90%) diikuti dengan Apel Fuji 15 mL/kgBB (26,49%), atenolol (pembanding) (23,31%), Apel Malang 10 mL/kgBB (14,96%), dan Apel Malang 5 mL/kgBB (11,56%). Apel Fuji dosis 10 mL/kgBB dan 5 mL/kgBB tidak menunjukkan kemampuan dalam menghambat peningkatan LDH.

Pada parameter AST, Atenolol menunjukkan kemampuan tertinggi untuk melemahkan peningkatan AST dibandingkan dengan kontrol positif (41,93%), diikuti dengan Apel Malang dosis 10 mL/kgBB (12,09%), Apel Fuji dosis 10 mL/kgBB (7,92%), Apel Malang dosis 5 mL/kgBB (4,67%), dan Apel Fuji dosis 5 mL/kgBB (2,4%). Sedangkan untuk Apel Fuji dan Apel Malang dosis 15 mL/kgBB tidak menunjukkan kemampuan dalam menghambat peningkatan AST.

Pada parameter terakhir, yaitu ALT, hampir semua kelompok bahan uji tidak menunjukkan kemampuan dalam melemahkan peningkatan ALT. Hanya Apel Fuji dan Apel Malang dosis 5 mL/kgBB yang menunjukkan penurunan nilai ALT dibandingkan dengan kontrol positif yaitu sebesar 6,98% dan 3,4%. Hasil analisis statistik menggunakan T-Test pada nilai persentase penghambatan untuk semua parameter uji (CK, CK-MB, LDH, AST, dan ALT) antara kelompok yang diberi Apel Fuji dengan kelompok yang diberi Apel Malang pada semua dosis tidak menunjukkan hasil yang signifikan ($p > 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa Apel Fuji dan Apel Malang memiliki kemampuan yang sama dalam menghambat peningkatan nilai *biomarker* jantung akibat induksi isoproterenol.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ahmad et al.³ menunjukkan bahwa pemberian jus Apel Fuji dapat menghambat peningkatan biomarker AST, ALT, LDH, dan CK pada tikus yang diinduksi isoproterenol. Sejauh ini, belum ada penelitian lain yang menguji efek pemberian jus Apel Malang terhadap tikus yang diinduksi isoproterenol.

Evaluasi aktivitas kardioprotektif pada jus Apel Fuji dan jus Apel Malang juga dilihat dari hasil histopatologi dari jantung hewan setiap kelompok uji. Pemberian isoproterenol sebagai penginduksi infark miokard dapat menyebabkan terbentuknya ROS melalui reaksi auto-oksidasi, ROS dapat menstimulasi peroksidasi lipid dan menginisiasi proses kerusakan membran sel.⁸

Dalam jus Apel Fuji dan jus Apel Malang terkandung flavonoid banyak digunakan sebagai antioksidan. Berdasarkan Ullah et al.¹⁹ menunjukkan bahwa ekstrak kulit apel kaya akan flavonoid yang dapat menghambat asetilkolinesterase secara *in vitro* sehingga dapat menjadi agen antihipersensitif yang efektif. Kuersetin pada apel berperan sebagai antioksidan, aktivitas antioksidan ini dapat menghambat peroksidasi lipid. Selain itu kuersetin dalam bentuk konjugasinya ketika terdapat dalam peredaran darah dapat meningkatkan kesehatan vaskular dan mengurangi resiko penyakit kardiovaskular.²⁰ Senyawa fenolik dan flavonoid dapat mengurangi ROS dan mencegah penyakit yang dimediasi oleh ROS. Potensi senyawa fenolik dan flavonoid sebagai antioksidan dapat melalui beberapa mekanisme diantaranya dengan memecah peroksida dan mengkelat ion logam yang dapat mengkatalis proses oksidasi.¹⁹ Maka kemampuan Apel Fuji dan Apel Malang dalam menghambat peningkatan pelepasan biomarker jantung (CK, CK-MB, LDH, AST, ALT) ke dalam darah dapat disebabkan oleh kandungan flavonoid dan senyawa fenolik dalam kedua apel tersebut.

Keterbatasan dalam penelitian ini adalah penelitian hanya dilakukan pada Tikus jantan, tidak melakukan penelitian lanjutan terkait golongan flavonoid dalam jus Apel Fuji dan jus Apel Malang yang berperan dalam aktivitas kardioprotektif. Kandungan flavonoid dalam jus Apel Fuji dan jus Apel Malang yang diperkirakan berperan dalam aktivitas kardioprotektif pada kedua jus apel tersebut perlu dibuktikan dengan penelitian lanjutan terkait aktivitas isolat dari Apel Fuji dan Apel Malang yang berperan sebagai kardioprotektif, selain itu diperlukan

penelitian lanjutan terkait efek kardioprotektif jus Apel Fuji dan jus Apel Malang terhadap manusia untuk melihat efeknya secara klinis. Dalam kehidupan sehari-hari, dapat disarankan untuk mengonsumsi sebuah Apel Fuji atau lebih dari satu buah Apel Malang per harinya sebagai upaya penurunan resiko infark miokard.

5. Kesimpulan

Konsumsi Apel Fuji dan Apel Malang dapat menurunkan resiko terjadinya infark miokard karena memiliki aktivitas sebagai kardioprotektif dengan mencegah terjadinya kerusakan pada jaringan jantung. Apel Fuji dan Apel Malang dapat menghambat peningkatan biomarker CK dan CK-MB akibat induksi isoproterenol dengan persentase hambatan terbesar Apel Fuji 79,56% dan 73,08% serta Apel Malang 69,18% dan 43,04%. Tidak terdapat perbedaan aktivitas kardioprotektif pada tiap dosis jus Apel yang diberikan.

Referensi

1. Cardiovascular Diseases [Internet]. WHO. 2021. Available from: <https://www.who.int/health-topics/cardiovascular-diseases>
2. Kingma JG. Myocardial Infarction: An Overview of STEMI and NSTEMI Physiopathology and Treatment. *World J Cardiovasc Dis.* 2018;08(11):498–517.
3. Ahmad S, Mahmood T, Kumar R, Bagga P, Ahsan F, Shamim A, et al. Comparative evaluation of cardioprotective activity of Gala and Fuji apple juice against isoprenaline-induced cardiotoxicity in rats. *J Complement Integr Med.* 2021;
4. Zhao CN, Meng X, Li Y, Li S, Liu Q, Tang GY, et al. Fruits for prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Nutrients.* 2017;9(6):1–29.
5. Gou X, Tian Y, Yang X, Sun L, Guo Y, Freezing Point Temperature Is In Favor Of Not-From Concentrate Apple Juice Storage. *Food Science And Nutrition.* 2019;7(7): 2242–2251.
6. Farnsworth N. Biological and Phytochemical Screening of Plant. *Science (80-).* 1966;151(3712):874–5.
7. Murni MA, Santoso BSA. Skrining

- Fitokimia Jus Apel Manalagi dari Daerah Puntan Kota Batu Phytochemical screening of Manalagi Apple Juice Obtained from Puntan Region of Batu City. 2018; Available from: <http://repository.pimedu.ac.id/id/eprint/272/>
8. Ahmad, Shoab; Mahmood, Tarique; Kumar, Ranjan; Bagga, Paramdeep; Ahsan, Farogh; Shamim, Arshiya; Ansari, Abdullah; Shariq MPS. A Contrastive Phytopharmacological Analysis of Gala dan Fuji Apple. *J Pharm adn Tech* [Internet]. 2020;13(3):1527–37. Available from: https://rjptonline.org/HTML_Papers/Research_Journal_of_Pharmacy_and_Technology__PID__2020-13-3-83.html
 9. Jain PG, Mahajan UB, Shinde SD, Surana SJ. Cardioprotective role of FA against isoproterenol induced cardiac toxicity. *Mol Biol Rep* [Internet]. 2018;45(5):1357–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-018-4297-2>
 10. Khalil MI, Ahmmed I, Ahmed R, Tanvir EM, Afroz R, Paul S, et al. Amelioration of Isoproterenol-Induced Oxidative Damage in Rat Myocardium by Withania somnifera Leaf Extract. *Biomed Res Int*. 2015;2015(Cvd).
 11. Mythili, Sabesa. Malathi,N. Diagnostic Markers of Acute Myocardial Infarction (Review). *Biomedical Reports*. 2015; 3:743- 748.
 12. Zoltani, Csaba K. Biomarkers in Toxicology [Internet]. Academic Press; 2014. Chapter 11, Cardiovascular toxicity biomarkers. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124046306000117>
 13. Aydin, Suleyman; Ugur, Kader; Aydin, Suna; Sahin, Ibrahim; Yardin M. Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vasc Health Risk Manag* [Internet]. 2019;15:1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6340361/>
 14. Jialal I, Sokoll LJ. Clinical utility of lactate dehydrogenase: A historical perspective. *Am J Clin Pathol*. 2015;143(2):158–9.
 15. Danese, Montagnana. An Historical Approach To The Diagnostic Biomarkers Of Acute Coronary Syndrome. *Annals Of Translational Medicine*. 2016;4(10).
 16. Ndrepepa, G. Aspartate Aminotransferase And Cardiovascular Disease-A Narrative Review. *Journal of Laboratory And Precision Medicine*. 2021;6(8):6-6.
 17. Lofthus DM, Stevens SR, Armstrong PW, Granger CB, Mahaffey KW. Pattern of liver enzyme elevations in acute ST-elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis*. 2012;23(1):22–30.
 18. Gao M, Cheng Y, Zheng Y, Zhang W, Wang L, Qin L. Association of serum transaminases with short- and long-term outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *BMC Cardiovasc Disord* [Internet]. 2017;17(1):1–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12872-017-0485-6>
 19. Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, et al. Important Flavonoids and Ther Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 2020;25(22):5243.
 20. Patocka J, Bhardwaj K, Klimova B, Nepovimova E, Wu Q, Landi M, Kuca K, Valis M, Wu W. *Malus Domestica* : A Review on Nutritional Features, Chemical Composition, Traditional And Medicinal Value. *Plants*. 2020; 9(11):1-19.