

## Review Article : UJI AKTIVITAS *IN VIVO* DAN *IN VITRO* ANTI PLATELET BROMELIN TERHADAP PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Utami Budhi Fadilla<sup>1</sup>, Yufri Aldi<sup>2</sup>, Afriwardi<sup>3</sup>, Salman Umar<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Program Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Farmasetik, Fakultas Farmasi, Universitas Andalas, Padang, Indonesia

\*E-mail: [salman@phar.unand.ac.id](mailto:salman@phar.unand.ac.id)

### Abstrak

Penyakit kardiovaskuler atau *Cardiovascular Disease* (CVD) adalah sekumpulan gangguan yang terjadi pada sistem jantung dan pembuluh darah. CVD dapat disebabkan oleh adanya agregasi platelet dalam saluran darah. Penggunaan anti platelet dapat meminimalkan angka kematian terhadap CVD, tetapi beberapa antiplatelet di beberapa individu mengalami resistensi, dan bahkan menyebabkan efek samping lainnya, penggunaan fitomedika dapat menjadi alternatif dalam pengobatan CVD seperti penggunaan enzim bromelin. Enzim ini dapat digunakan untuk membantu mengurangi sensitivitas platelet terhadap ADP (*Adenosine diphosphate*) yang memicu agregasi platelet. Artikel ini merupakan review dari beberapa *Original Research* dan *Review/ Open review* yang diambil 10 tahun terakhir yang menjadi sumber referensi dalam artikel ini. Dari hasil telaah artikel pada sampel bromelin tersebut lebih banyak menggunakan uji *in vitro* dengan menggunakan metode PRP, dengan nilai aktivitas agregasi platelet bromelin berada di atas 40%. Sementara untuk pengujian *in vivo* pada mencit didapatkan dosis 210 µg/kgbb sebagai dosis terbaik dan pada tikus pada dosis 112 mg/kgbb. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bromelin dapat menurunkan agregasi platelet terhadap ADP yang menjadi parameter dalam CVD.

**Kata kunci:** Kardiovaskuler; Antiplatelet; Bromelin; *In Vitro*; *In Vivo*

### Abstract

Cardiovascular disease (CVD) is a collection of disorders that occur in the heart and blood vessel system. CVD can be caused by platelet aggregation in the blood vessels. The use of antiplatelets can minimize the death rate from CVD, but some individuals experience resistance to antiplatelets, and even cause other side effects, the use of phytomedicines can be an alternative in the treatment of CVD such as the use of the enzyme bromelain. This enzyme can be used to help reduce platelet sensitivity to ADP (*Adenosine diphosphate*) which triggers platelet aggregation. This article is a review of several *Original Research* and *Reviews/Open reviews* taken in the last 10 years which are the reference sources in this article. From the results of the article, bromelain samples were mostly used in *in vitro* tests using the PRP method, with bromelain platelet aggregation activity values above 40%. Meanwhile, for *in vivo* testing on mice, a dose of 210 µg/kgBW was obtained as the best dose, and in mice a dose of 112 mg/kgBW. So, it can be concluded that bromelain can reduce platelet aggregation towards ADP which is a parameter in CVD.

**Keywords:** *Cardiovascular*; *Antiplatelet*; *Bromelain*; *In Vitro*; *In Vivo*

## PENDAHULUAN

Penyakit kardiovaskuler atau *Cardiovascular Disease* (CVD) adalah sekumpulan gangguan yang terjadi pada sistem jantung dan pembuluh darah. Penyakit yang termasuk kardiovaskular antara lain penyakit jantung koroner, penyakit jantung kongenital, penyakit jantung rematik, penyakit arteri perifer, trombosis vena,

penyakit serebrovaskular, dan emboli pulmonal. Penyumbatan aliran darah dari jantung ke otak dan jantung, secara akut dapat menyebabkan serangan jantung dan stroke (WHO, 2017).

Penyakit kardiovaskular juga merupakan penyakit penyebab kematian yang terbesar di dunia, dimana angka kematian terhadap penyakit kardiovaskular pada tahun 2016 berkisar 17,9 juta penduduk (WHO,

2017). Sementara rata rata prevalensi penyakit kardiovaskular di Indonesia menginjak angka 1,5% pada tahun 2018. Tercatat ada 11 provinsi dengan angka prevalensi terbanyak di Indonesia, salah satunya Sumatera Barat dengan nilai prevalensi 1,6%. (Riskerdas, 2018). Penyakit kardiovaskular disebabkan oleh beberapa faktor seperti merokok, makanan, obesitas, *life style*, kolesterol, diabetes dan tekanan darah tinggi. Komplikasi kardiovaskuler yang paling banyak dialami pasien adalah penyakit jantung coroner (57,3%), serta kondisi penyerta lainnya seperti hipertensi dan dislipidemia (Ratnasari *et al.*, 2020).

Penyakit kardiovaskular dapat disebabkan oleh adanya agregasi platelet dalam saluran darah. Pada keadaan normal agregasi platelet diharapkan dapat menghambat pendarahan yang terjadi pada tubuh. Tetapi, agregat dapat terbentuk dengan sendirinya meskipun tidak ada inisiasi seperti luka, terutama pada bagian pembuluh darah, agregat seperti ini dapat kita sebut sebagai trombus patologis. Salah satu obat antiplatelet adalah aspirin, pada sejumlah individu ditemukan laporan terjadinya resistensi terhadap penggunaan aspirin sebagai antiplatelet. Selain itu aspirin berakibat apoptosis pada platelet dan berhubungan pada efek samping yaitu *hemorrhagic* (Rakhmawati *et al.*, 2019). Oleh karena itu, pengobatan tradisional diharapkan dapat menjadi alternatif lainnya dalam penyakit kardiovaskular.

Indonesia merupakan negara yang kaya akan tumbuhan maupun tanaman yang memiliki berbagai macam potensi bahan aktif sebagai fitomedika. Salah satu tumbuhan yang sangat bermanfaat dalam aktifitas anti inflamasi adalah nanas. Bromelin merupakan enzim turunan proteolitik dari buah nanas (*Ananas comosus*). Dimana enzim proteolitik merupakan enzim yang dapat mengkatalisasi penguraian protein sehingga dapat menjadi asam amino melalui reaksi hidrolisis (Wiyati & Tjitraresmi., 2018). Enzim ini dapat

digunakan untuk membantu mengurangi sensitivitas platelet terhadap ADP (*Adenosine diphosphate*) yang memicu agregasi platelet. Berdasarkan uraian di atas, artikel ini akan membahas bagaimana pengaruh bromelin dalam penyembuhan penyakit kardiovaskular dan sebagai alternatif dalam penggunaan anti platelet.

## METODE

### Desain Penelitian

Desain Penelitian ini dilakukan dengan metode telaah artikel (*article review*). Article review adalah teori, temuan dan penelitian terdahulu yang dijadikan pokok landasan kegiatan penelitian untuk selanjutnya dalam menyusun kerangka pemikiran dari pokok masalah yang akan ditelaah. Pada tema penelitian yang penulis telaah didapat dari database *Google Scholar*. Jumlah jurnal yang digunakan dalam *review* ini adalah 15 jurnal dengan rentang lima tahun terakhir

### Strategi Pencarian

Strategi pencarian artikel ini yaitu dengan artikel dalam bentuk full-text, berbahasa Indonesia yang diterbitkan dalam rentang 10 tahun terakhir (2013-2023). Penelusuran artikel ini menggunakan *database Google Scholar*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Bromelin memiliki berbagai manfaat dalam aktivitas farmakologinya sebagai obat alternatif antiplatelet yang lebih aman, dengan efek samping yang lebih sedikit dibandingkan obat antiplatelet sintesis seperti asetosal dan clopidogrel. Asetosal dapat bertindak dengan cara menginaktivasi secara permanen enzim siklo-oksigenase, sehingga menurunkan sintesis TXA<sub>2</sub> yang berperan penting sebagai agregator platelet (Astuti, 2015).

Dengan adanya bromelin yang dapat bertindak sebagai antiplatelet maka, Pengujian aktivitas anti-platelet terhadap bromelin dapat dilakukan baik secara *in vitro*

maupun dengan *in vivo*. Pada Tabel 1. Menunjukkan studi review *in vitro* dan *in vivo*

bromelin sebagai anti platelet dalam penyakit kardiovaskular.

**Tabel 1. Studi review *in vitro* dan *in vivo* bromelin sebagai anti platelet dalam penyakit kardiovaskular**

Sampel Uji	Metode	Hasil	Referensi
Fraksi bromelin murni	<i>In Vitro</i> Studi: Spektrofotometer UV-Vis dan <i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP)	Bromelin memiliki aktivitas antiplatelet sebesar 76,59%	(Wijayanti et al., 2022)
Bromelin murni	<i>In Vitro</i> Studi: <i>The Born- Platelet Rich Plasma</i> (PRP)	Aktivitas antiplatelet tertinggi terdapat pada fraksi enzim murni dengan nilai persen agregat sebesar 48,64 %	(Nurhidayat et al., 2018)
Nanopartikel Hydroxypropyl Cellulose–Cysteamine dan Crude Bromelin	<i>In Vitro</i> Studi: <i>light transmission aggregometry</i> (LTA) - <i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP)	uji agregasi platelet menggunakan crude bromelin, persentase inhibisi sebesar $8.00 \pm 1.17\%$ . sedangkan nanopartikel bromelin $48.56 \pm 11.19\%$	(Rahmat et al., 2020)
<i>Bromelin murni yang di enkapsulasi dalam alginate-guar gum</i>	<i>In Vitro</i> Studi: <i>The Born's method</i> : Dengan 1mg/ml aspirin sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif	Pengujian aktivitas antiplatelet menunjukkan persentase inhibisi sebesar 50.6% dan fraksi disolusi sebesar 34,86%	(Irfan et al., 2020)
Bromelin murni yang di enkapsulasi dalam chitosan-guar gum (Fraksi disolusi dan dialisis)	<i>In Vitro</i> Studi: Metode Aggregometry Kontrol positif berupa asetosal, kontrol negative berupa aqua destilat	Persentase inhibisi yaitu fraksi enzim sebesar 46,6% dan larutan disolusi sebesar 41,31% Persentase agregasi tertinggi pada fraksi bromelin disolusi 5,66% dan fraksi dialysis 5,14%	(Pratiwi et al., 2020)
Bromelin murni dalam mikrosfer Kitosan-Glutaraldehyd	<i>In Vitro</i> Studi: <i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP). Asetosal(kontrol positif,) air suling sebagai kontrol negatif. Adenosine 5'Diphosphate (ADP) digunakan sebagai agregator.	Uji <i>In Vitro</i> aktivitas antiplatelet bromelin GCM menunjukkan nilai persentase inhibisi sebesar 71,88%	(Herfena et al., 2020)
<i>Bromelin murni dan fraksi DEAE-Selulosa</i>	<i>In Vitro</i> Studi: <i>The Born- Platelet Rich Plasma</i> (PRP)	Persentase agregasi pada bromelin murni menunjukkan 29,51% dan persentase inhibisi sebesar 68,91%	(Hidayani et al., 2020)
Crude bromelin, (fraksi dialisis and fraksi DEAE-Selulosa)	<i>In Vitro</i> Studi: Spektrofotometer UV-Vis dan <i>Platelet Rich Plasma</i> (PRP)	Fraksi bromelin murni dengan DEAE menunjukkan persentase agregasi terendah sebesar 42.54 % dan persentase tertinggi pada of 83.74 % ditunjukan oleh crude bromelin	(Kurnia et al., 2018)
Fraksi Bromelin dengan etanol	<i>In Vivo</i> Studi: <i>animal test</i> menggunakan studi ddy strain mencit putih jantan	Uji agregasi antiplatelet menunjukkan bahwa fraksi bromelain dengan dosis 70, 140 dan 210 µg/KgBB dapat meningkatkan waktu perdarahan yang berarti.	(Musfiroh et al., 2018)
Bromelin dari Ekstrak kulit nanas	<i>In Vivo</i> Studi: <i>Animal test</i> menggunakan tikus putih jantan Kontrol positif: asetosal 3,7mg/kgbb dan kontrol negative aquadest	Bromelin dari perasan kulit nanas dengan dosis 28mg/kgbb, 56mg/kgbb, 112mg/kgbb dan asetosal 3,7mg/kgbb dapat memperpanjang waktu pendarahan. Dengan dosis efektif pada 112mg/kgbb	(Lupita et al., 2015)

Pengujian *in vitro* beberapa metode dapat digunakan seperti dilakukan dengan mengukur kekeruhan dikenal dengan Platelet Rich Plasma (PRP). Pengukuran dilakukan sebelum dan sesudah diinduksi dengan Adenosine Diphosphat (ADP). Agregat platelet yang terbentuk ditentukan dengan cara membandingkan serapan plasma sebelum dan sesudah penambahan ADP menggunakan spektrofotometer Uv-Vis. Penggunaan spektrofotometer uv-vis pada pengukuran uji aktivitas antiplatelet memiliki beberapa kelebihan, yaitu dapat digunakan untuk menganalisis banyak zat organik dan anorganik, selektif, mempunyai ketelitian yang tinggi dengan kesalahan relatif sebesar 1%-3%, analisis dapat dilakukan dengan cepat dan tepat, mudah dan murah. PRP digunakan dan diperoleh untuk mengetahui agregasi platelet dari sampel uji (Wijayanti *et al.*, 2022)

Pada penelitian Wijayanti *et al.*, (2022) digunakan kontrol positif (asetosal) 1mg/ml dan kontrol negatif (akuades). Hasil pengujian aktivitas antiplatelet dengan menggunakan kontrol negatif (akuades) kontrol positif (asetosal), serta fraksi bromelain hasil dialisis sebagai sediaan uji memiliki aktivitas sebagai anti-platelet 76,59% dengan perbandingan kontrol positif (asetosal) 87,33%. Hal ini menunjukkan fraksi enzim bromelain memiliki potensi sebagai antiplatelet pada penyakit kardiovaskular (Wijayanti *et al.*, 2022).

Selaras dengan penelitian yang dilakukan Nurhidayat *et al.*, (2018) penelitian menunjukkan semua fraksi bromelain dari nanas menunjukkan adanya aktivitas sebagai antiplatelet, namun belum sebaik asetosal. Aktivitas antiplatelet fraksi bromelain meningkat seiring dengan peningkatan kemurnian enzim. Untuk mencapai aktivitas antiplatelet yang lebih baik, maka pemurnian lebih lanjut terhadap bromelain diperlukan dengan metode yang lebih baik. Dari penelitian ini Fraksi bromelain memiliki aktivitas antiplatelet dengan agregasi 48,64%.

(Nurhidayat *et al.*, 2018)

Studi *in vitro* aktivitas antiplatelet lainnya untuk mengetahui metode yang tepat dalam formulasi bromelain sebagai anti platelet yaitu dengan menggunakan fraksi bromelain yang di enkapsulasi. Proses enkapsulasi menggunakan *alginate guar gum hydrogel*. Penggunaan gum ini terlihat bahwa semakin besar konsentrasi glutaraldehid yang ditambahkan maka efisiensi enkapsulasi semakin kecil. Hal ini relevan dengan struktur matriks hidrogel yang semakin padat akibat penambahan glutaraldehid sehingga mengakibatkan bromelain yang terperangkap semakin kecil. Struktur yang kaku ini juga menyebabkan bromelain yang terperangkap tidak mempunyai kesempatan untuk keluar dari matriks ketika diendapkan dalam buffer fosfat, sehingga pelepasannya cenderung menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi glutaraldehid. Efisiensi tertinggi sebesar 88,42 % dimiliki oleh hidrogel tanpa penambahan glutaraldehid (0 %, v/v), namun rasio pengembangan masih terlalu tinggi yang menyebabkan pelepasan besar dalam cairan lambung dan pelepasan yang tidak terkontrol di dalam usus. Oleh karena itu, hidrogel dengan konsentrasi glutaraldehid 1,25 % (v/v) dianggap sebagai variasi terbaik dan dipilih untuk mengenkapsulasi bromelain yang diisolasi. Enkapsulasi bromelain hasil isolasi ke dalam hidrogel alginat-guar gum yang diikat silang dengan konsentrasi glutaraldehid 1,25 % menghasilkan efisiensi sebesar 60,42 %. Kemudian pengujian aktivitas antiplatelet berdasarkan fraksi dialisis sebelum enkapsulasi menunjukkan persentase penghambatan sebesar 50,6% namun setelah dilakukan enkapsulasi, persentase penghambatan berubah yaitu sebesar 36,84%. Karena itu, dapat disimpulkan bahwa metode enkapsulasi cukup baik dalam mempertahankan antiplatelet (Irfan *et al.*, 2020).

Isolasi enzim bromelain dari batang nanas dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi, fraksinasi dengan amonium

sulfat, dan dialisis. Aktivitas spesifik masing-masing fraksi mengalami peningkatan, mulai dari enzim kasar (43,73 U/mg), fraksinasi dengan amonium sulfat (369,01 U/mg), dan dialisis (437,89 U/mg). Enzim bromelain hasil dialisis kemudian dienkapsulasi dalam matriks hidrogel secara post-loading untuk diuji pelarutannya secara *in vitro* pada lingkungan lambung dan usus buatan. Hidrogel yang digunakan adalah kitosan-guar gum dengan konsentrasi glutaraldehid 3% (v/v), dengan rasio pengembangan masing-masing sebesar 75,83% dan 68,39% pada pH 1,2 dan 7,4. Konsentrasi bromelain hasil isolasi divariasikan pada setiap proses enkapsulasi yaitu masing-masing sebesar 20 mg/L, 40 mg/L, dan 60 mg/L sehingga diperoleh efisiensi enkapsulasi optimum sebesar 97,32% pada 20 mg/L. Hasil uji disolusi menunjukkan pelepasan maksimum bromelain relatif tinggi pada lingkungan usus buatan (73,53%) dibandingkan lingkungan lambung (19,11%) dengan aktivitas proteolitik maksimum masing-masing sebesar 0,43 U/mL dan 0,18 U/mL pada lingkungan usus buatan dan lambung. Hasil disolusi kemudian dimasukkan ke dalam model matematika persamaan Higuchi orde ke-0, orde pertama, dan persamaan Korsmeyer-Peppas untuk mengetahui mekanisme disolusi obat secara difusi (Pratiwi *et al.*, 2020).

Berdasarkan fraksi disolusi bromelain mempunyai persentase agregasi lebih tinggi (5,65%) dibandingkan fraksi dialisis bromelain (5,14%) dan kontrol positif asetosal (3,94%), namun lebih rendah dibandingkan air sebagai kontrol negatif (9,63%). Artinya fraksi dialisis bromelain mempunyai kemampuan menghambat agregasi platelet yang lebih rendah (46,60%) dibandingkan asetosal (59,15), namun lebih tinggi dibandingkan disolusi fraksi bromelain (41,30%). Menurunnya persentase penghambatan fraksi disolusi bromelain diduga disebabkan oleh adanya bromelain yang terenkapsulasi yang tertinggal dalam matriks selama proses disolusi (Pratiwi *et al.*,

2020).

Penelitian lainnya yang melakukan proses enkapsulasi bromelin menunjukkan Profil disolusi ditentukan untuk mengevaluasi laju bromelain yang berdifusi keluar dari matriks GCM. Kelarutan bromelain pada cairan lambung buatan selama 2 jam pertama (13,43%) lebih rendah dibandingkan pada lingkungan usus buatan (60,52%) selama 8 jam terakhir. GCM melepaskan bromelain dengan setidaknya 74% bromelain terlarut dalam waktu 10 jam. Pengukuran aktivitas proteolitik, diketahui bahwa bromelain memiliki aktivitas tertinggi pada lingkungan usus buatan pada waktu 480 menit (0,35 U/mL). Hasil disolusi dengan aktivitas proteolitik tertinggi kemudian ditentukan aktivitas antiplateletnya secara *in vitro* (Herfena *et al.*, 2020).

Proses disolusi *in vitro* menyebabkan terkikisnya permukaan mikrosfer dan mengakibatkan lubang-lubang pada 2 jam pertama pelarutan pada cairan lambung buatan dan menjadi lebih besar pada saat GCM direndam dalam lingkungan usus buatan selama 10 jam. Erosi mikrosfer menyebabkan bromelain berdifusi dan lebih banyak melepaskan GCM di lingkungan usus. Fraksi disolusi mempunyai persentase agregasi lebih tinggi (1,63%) dibandingkan fraksi dialisis (1,59%) dan asetosal sebagai kontrol positif (0,8%). Air suling sebagai kontrol negatif mempunyai persentase agregasi tertinggi (5,65%). Sementara itu, terlihat bahwa fraksi disolusi mempunyai kemampuan yang lebih rendah dalam menghambat agregasi platelet (71,20%) dibandingkan fraksi dialisis (71,88%). Hal ini disebabkan adanya bromelain dari fraksi dialisis yang tertinggal di mikrosfer selama proses pelarutan (Herfena *et al.*, 2020).

Aktivitas antiplatelet diukur dengan mengamati persentase agregasi dan inhibisi platelet. Persentase agregasi platelet merupakan pengaruh suatu senyawa terhadap proses pembentukan bekuan platelet dalam darah, sedangkan persentase penghambatan



platelet merupakan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat proses agregasi. Jika persentase agregasinya rendah maka persentase penghambatannya tinggi, hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut semakin aktif serta kemampuan senyawa tersebut sebagai agen antiplatelet (Huang *et al.*, 2023). Fraksi bromelain yang lebih murni mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam menghambat agregasi platelet. Aktivitas antiplatelet tertinggi terdapat pada bromelain dari kromatografi kolom DEAE Selulosa dengan persentase agregasi sebesar 29,51 % dan persentase penghambatan sebesar 68,91 % (Hidayani *et al.*, 2020)

Dari seluruh bromelain yang dimurnikan, fraksi DEAE menunjukkan persen agregasi terendah yaitu 42,54 % sedangkan persentase tertinggi sebesar 83,74 % ditunjukkan oleh ekstrak kasar. Data ini membuktikan kemurnian bromelain mempunyai efek pada aktivitas antiplateletnya. Semakin murni enzim maka semakin baik kemampuannya sebagai agen antiplatelet. Nilai  $IC_{50}$  juga dihitung untuk mengetahui konsentrasi enzim yang dapat menghambat separuh (50%) aggrasi platelet. Untuk fraksi DEAE diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar 31,37  $\mu$ L/mL (Kurnia *et al.*, 2018).

Pengujian lainnya dari *in vitro* dapat menggunakan light agregometri transmisi (LTA) metode ini mengacu pada prinsip turbidimetri, dan alat yang digunakan untuk mengukur kekeruhan adalah spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm sebagai pengganti agregometer. Larutan blanko untuk pengujian mengandung *platelet-poor plasma* (PPP), yang ditambahkan ke HPC-cysteamine sebagai thimer. Plasma darah mengandung albumin, globulin, dan fibrinogen. Untuk memperoleh plasma diperlukan teknik sentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. platelet dapat terdapat dalam komponen plasma karena ukurannya yang kecil. Oleh karena itu, PPP berfungsi sebagai blanko untuk mengkompensasi kekeruhan komponen

plasma. Aktivitas agregasi anti platelet crude bromelin dan nanopartikel dijelaskan dengan persentase hambatan yang dihitung dari penurunan penyerapan kontrol negatif, yang menunjukkan penurunan agregasi platelet. PRP diinkubasi dengan sampel dan agregasinya diinduksi oleh ADP (Rahmat *et al.*, 2020).

Pada keadaan normal, agregasi platelet mencegah perdarahan dalam tubuh. Namun, agregat dapat terbentuk meskipun tidak terdapat cedera pembuluh darah, agregat seperti itu disebut trombus patologis. Enzim bromelain termasuk golongan sulfhidril yang mampu menghidrolisis protein menjadi asam amino dan dapat mereduksi sensitifitas platelet terhadap ADP, Untuk bromelin dengan modifikasi nanopartikel dibandingkan dengan bentuk crude bromelin memiliki persentase inhibisi sebesar  $48.56 \pm 11.19\%$  dan  $8.00 \pm 1.17\%$ , yang menunjukan bahwa bromelin dengan bentuk nanopartikel memiliki efek agregasi platelet yang lebih baik dibandingkan bentuk crude bromelin (Rahmat *et al.*, 2020).

Metode *in vivo* banyak digunakan karena dapat mengetahui gambaran langsung terhadap makhluk hidup. Metode *in vivo* menggunakan *animal test* (Shiba *et al.*, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Musfiroh (2018) menggunakan mencit putih Jantan dengan membagi menjadi lima kelompok yaitu: control positif (asetosal) dan control negative (akuades) dengan dosis uji yaitu: dosis ke-1 (70  $\mu$ g/KgBB), dosis ke-2 (140  $\mu$ g/KgBB), and dosis ke-3 (210  $\mu$ g/KgBB). Dengan waktu pendarahan diukur melalui ekor mencit yang dilukai (dipotong 2 mm), kemudian ekor tersebut ditempelkan pada kertas saring untuk menampung darah yang keluar, perhatikan waktu sampai darah berhenti mengalir (Musfiroh *et al.*, 2018).

Uji *invivo* ini terjadinya perpanjangan waktu perdarahan yang menunjukkan adanya penurunan aktivitas agregasi platelet yang disebabkan oleh penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga menurunkan



sintesis tromboksan A2. Tromboksan A2 merupakan salah satu mediator yang mempengaruhi proses aktivasi trombosit dan vasokonstriksi ketika prosesnya dimediasi oleh hemostasis trombosit. Aktivitas antiplatelet bromelain berhubungan dengan kemampuannya menghidrolisis COX-1 siklooksigenase dan menghentikan sintesis Tromboksan A2 untuk mengurangi agregasi sel trombosit. Hasil uji agregasi antiplatelet dengan parameter waktu perdarahan menunjukkan adanya peningkatan waktu perdarahan mencit secara signifikan sejak hari ke 7 pada semua kelompok ekstrak uji dibandingkan hari ke 0. Namun kenaikannya cenderung berfluktuasi pada setiap pengukuran. Dalam perhitungannya, persentase kenaikan tertinggi ditunjukkan oleh isolat dengan dosis 210 µg/KgBB dalam jumlah  $515,10 \pm 182,23\%$ , jika dibandingkan dengan aspirin ( $231,20 \pm 140,66$ ) nilainya relatif lebih tinggi. Setiap isolat enzim menunjukkan peningkatan waktu perdarahan. Dengan demikian dosis 210 µg/KgBB menunjukan dosis terbaik yang dapat digunakan sebagai anti platelet dibandingkan dosis ke-1 dan ke-2 (Musfiroh *et al.*, 2018).

Penelitian dengan menggunakan *animal test* lainnya dilakukan oleh (Lupita *et al.*, 2015) menggunakan bromelin dari ekstrak kulit nanas. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan tikus jantan. Kelompok dibagi atas kelompok perlakuan dengan variasi dosis perasan kering kulit nanas 28 mg/200 g BB, 56 mg/200 g BB, dan 112 mg/200 g BB, kelompok kontrol positif (asetosal 3,7 mg/200 g BB), dan kelompok kontrol negatif (aquades). Hasil uji antiagregasi platelet menunjukkan bahwa hasil freeze dry kulit nanas yang diberikan secara oral mampu memperpanjang waktu perdarahan dan pembekuan darah pada tikus putih jantan. Perasan kering kulit nanas dengan dosis 112 mg/200 g BB memberikan efek yang paling efektif terhadap perpanjangan waktu perdarahan dan pembekuan darah dengan peningkatan waktu

perdarahan 150,2 detik dan peningkatan waktu pembekuan 105 detik (Lupita *et al.*, 2015).

## KESIMPULAN

Berdasarkan data-data hasil penelitian yang telah di telaah dapat disimpulkan bahwa telah dilakukan pengujian aktivitas anti platelet dalam berbagai bentuk sediaan bromelin dengan menggunakan beberapa metode pengujian baik *in vivo* ataupun *in vitro*. Dari hasil telaah artikel pada sampel bromelin tersebut lebih banyak menggunakan uji *in vitro* dengan menggunakan metode PRP, dengan nilai aktivitas agregasi platelet dari bromelin berada diatas 40%. Sementara untuk pengujian *in vivo* pada mencit didapatkan dosis 210 µg/KgBB sebagai dosis terbaik dan pada tikus pada dosis 112 mg/200 gBB.

## DAFTAR RUJUKAN

- Astuti, P. (2015). Peranan Asetosal Sebagai Anti-Trombotik Terhadap Metabolisme Tromboksan A2 (TXA2) dan Prostasiklin PGI2. *STOMATOGNATIC-Jurnal Kedokteran Gigi*, 7(1), 51-55.
- Herfena, N., Setiasih, S., Handayani, S., & Hudiyono, S. (2020) 'Evaluation of in-vitro dissolution profiles of partially purified bromelain from pineapple cores (*Ananas comosus* [L.] Merr) loaded in glutaraldehyde-crosslinked chitosan microspheres. Pada *AIP Conference Proceedings*, 2243 (1).
- Hidayani, W.A., Setiasih, S. & Hudiyono, S. (2020). Determination of the effect of EDTA and PCMB on purified bromelain activity from pineapple core and in vitro antiplatelet activity. Pada *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 763(1).
- Huang, X., Zhang, T., Gao, X., Huan, X., & Li, Y. (2023). Novel Antiplatelet Activity of Ginsenoside Re Through the Inhibition of High Shear Stress-Induced Platelet Aggregation. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 82(1), pp. 40-51.

- Wiyati, P. I., & Tjitraresmi, A. (2018). Karakterisasi, aktivitas dan isolasi enzim bromelin dari tumbuhan nanas (*Ananas sp.*). *Farmaka jurnal*, 16(2), 179.
- Irfan, A. A., Setiasih, S., & Hudiyono, S. (2020). Dissolution Profile Of Partially Purified Bromelain From Pineapple Core Encapsulated In Alginate-Guar Gum With In Vitro Study Of Antiplatelet Activity. Pada *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 763(1).
- Kurnia, S. D., Setiasih, S., Handayani, S., & Hudiyono, S. (2018). Kinetic studies of partially purified bromelain from Bogor pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr) core with ion exchange chromatography and in vitro evaluation of its antiplatelet activity. Pada *AIP Conference Proceedings*, 2023(2018).
- Lupita, V.B., Saptarini, O., & Susanti, L. (2015). Efek Perasan Kering Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) terhadap Waktu Perdarahan dan Pembekuan Darah pada Tikus Putih Jantan Effect of Pineapple Peel Dried Juice (*Ananas comosus* (L.) Merr) on Bleeding Time and Blood Clotting of Male White Rats, 12(1), pp. 50–59.
- Ratnasari, P. M. D., Kurnianta, P. D. M., & Prasetya, A. A. N. P. R. (2020). Penggunaan Statin dan Antiplatelet Sebagai Pencegahan Sekunder Komplikasi Kardiovaskuler pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 24(2), 42-48.
- Musfiroh, F. F., Setiasih, S., Handayani, S., Hudiyono, S. & Ilyas, N.M. (2018). In Vivo antiplatelet activity aggregation assay of bromelain fractionate by ethanol from extract pineapple core (*Ananas comosus* [L.] merr.). Pada *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 299(1).
- Nurhidayat, I., Setiasih, S., Handayani, S., & Hudiyono, S. (2018). Kinetic Studies Of Bromelain Purified From Palembang Pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr) using gel filtration chromatography and its activity as antiplatelet aggregation. Pada *AIP Conference Proceedings*, 2023(1).
- Pratiwi, B., Setiasih, S., Handayani, S., & Hudiyono, S. (2020). Dissolution Study Of Bromelain Resulting From Partial Purification Of Pineapple Stem (*Ananas comosus* [L.] Merr) encapsulated in chitosan-guar gum and its activity as an antiplatelet. Pada *AIP Conference Proceedings*, 2243(1). AIP Publishing.
- Rahmat, D., Nurhidayati, L., Marcella, M., Sumarny, R., & Laksmiawati, D. R. (2020). In vitro anti-platelet aggregation activity of hydroxypropyl cellulose–cysteamine based nanoparticles containing crude bromelain. *Int J Appl Pharm*, 12(3), 95-8.
- Rakhmawati, N., Paryono, P., & Setyaningsih, I. (2019). Resistensi antiplatelet pada stroke iskemik. *Berkala NeuroSains*, 18(1), 1-7.
- Riskerdas (2018) ‘Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI’, 122(13), pp. 4098–4103.
- Shiba, K., Nursifa, H., Kusumawulan, C. K., & Sopyan, I. (2021). Uji Efektivitas In Vivo dan In Vitro Anti Aging pada Sediaan Kosmetik. *Farmaka*, 20(2), pp. 36–49.
- WHO (2017) ‘Cardiovascular diseases (CVDs)’, p. 2023. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>.
- Wijayanti, L., Suryani, S., & Wibowo, R. (2022). Uji Aktivitas Antiplatelet Bromelain Secara In Vitro Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. *Indonesian Journal of Laboratory*, 5(2), 70-74.