

## Uji Aktivitas Antiplatelet Bromelain Secara *In Vitro* Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Lilis Wijayanti<sup>1</sup>, Suryani, Rachmadi Wibowo

<sup>1</sup>UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta, 15419, email korespondensi: lilis.wijayanti@uinjkt.ac.id

Submisi: 6 Juli 2022; Penerimaan: 30 Agustus 2022

### ABSTRAK

Salah satu penyebab beberapa penyakit kardiovaskuler adalah adanya sumbatan pada pembuluh kapiler darah yang disebabkan agregasi platelet dan reaksi aterotrombosis. Akan tetapi, obat-obatan antiplatelet masih memiliki efek samping. Enzim Bromelain dilaporkan memiliki aktivitas antiplatelet yang potensial. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim Bromelain dalam menghambat agregasi platelet secara *in vitro*. Aktivitas antiplatelet ditentukan dengan mengukur persen agregasi platelet dalam Platelet Rich Plasma (PRP) darah manusia setelah diinduksi dengan Adenosin Difosfat (ADP) menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis. Penelitian ini menggunakan akuades sebagai kontrol negatif, asetosal sebagai kontrol positif, dan enzim Bromelain hasil dialisis sebagai sampel uji. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa enzim Bromelain hasil dialisis dapat menghambat agregasi platelet yang diinduksi ADP yaitu sebesar 76,59%.

*Kata kunci: kardiovaskular; bromelain; antiplatelet; asetosal*

### PENDAHULUAN

Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2018 menyatakan bahwa angka kejadian penyakit jantung di Indonesia sebesar 2,78 juta jiwa atau 15 dari 1000 orang. Tingginya angka morbiditas dan mortalitas penyakit kardiovaskular tersebut tentunya memerlukan perhatian khusus melalui pengembangan terapi yang efektif (Rohmah dan Fickri, 2020). Salah satu terapi yang dapat digunakan adalah penggunaan obat antiplatelet.

Platelet merupakan sel darah yang berfungsi pada proses hemostasis (proses penghentian perdarahan secara spontan). Platelet beragregasi membentuk sumbat hemostasis ketika terjadi luka pada pembuluh darah. Sumbat hemostasis dapat berupa bekuan darah yang terbentuk dari agregat-agregat platelet, yang disebut

thrombus. Dalam keadaan normal, pembentukan thrombus berfungsi untuk mencegah perdarahan. Akan tetapi pada pembentukan thrombus patologis, thrombus tetap terbentuk meskipun tidak ada luka pada pembuluh darah. Proses yang tidak normal ini dapat mengakibatkan penyakit kelainan vaskuler seperti infark miokard, stroke, dan penyakit perifer vaskuler (Putri *et al.*, 2014).

Obat antiplatelet berperan dalam menghambat terjadinya agregasi platelet. Asetosal atau aspirin merupakan contoh obat yang digunakan sebagai antiplatelet (Putri *et al.*, 2014). Asetosal sebagai obat antiplatelet memiliki beberapa efek samping yaitu sakit kepala, kram perut, muntah, dan iritasi lambung (Rohmah dan Fickri, 2020). Oleh karena beragam efek samping dari obat antiplatelet sintetik/komersial maka perlu dicari

alternatif obat antiplatelet, salah satunya adalah bromelain. Bromelain dapat dipakai sebagai obat alternatif antiplatelet yang lebih aman dengan efek samping lebih sedikit dibandingkan dengan obat antiplatelet komersial seperti aspirin dan clopidogrel (Sandhy *et al.*, 2018)

Bromelain adalah enzim proteolitik yang dapat diekstraksi dari nanas (*Ananas comosus*). Batangnya memiliki kandungan bromelain tertinggi (Putranto *et al.*, 2018). Bromelain efektif dalam pengobatan penyakit kardiovaskuler karena menghambat agregasi platelet darah, sehingga meminimalkan risiko trombotik arteri (Metzig *et al.*, 1999). Bromelain juga memiliki kemampuan fibrinolitik serum dan menghambat sintesis fibrin, protein yang terlibat dalam pembekuan darah (Pavan *et al.*, 2012). Diketahui bahwa bromelain dapat diserap di usus manusia tanpa degradasi dan kehilangan aktivitas biologis (Fitria *et al.*, 2018). Bromelain adalah enzim proteolitik yang dapat memecah protein menjadi asam amino. Ada beberapa jenis enzim proteolitik. Bromelain adalah sistein (sulfhidril) protease, seperti halnya papain dari pepaya dan ficin dari buah ara (Hassan, A and Othman, 2011).

Kadar toksik pada bromelain juga sangat rendah dengan LD50 lebih dari 10 g/kg pada mencit, tikus, dan kelinci. Hasil tes toksisitas bromelain pada anjing yakni sebesar 750 mg/kg/hari dan bromelain tidak menunjukkan efek toksik setelah enam bulan. Pemberian dosis 1,5 g/kg/hari pada tikus tidak menunjukkan efek karsinogenik atau teratogenik dan tidak memicu perubahan apa pun pada asupan makanan, histologi jantung, pertumbuhan, limpa, ginjal, atau parameter hematologis. Dalam studi tikus, bromelain diserap utuh melalui usus sampai dengan 40% terdeteksi dalam darah setelah pemberian oral. Ekstrak ini mempertahankan aktivitas

protease dalam plasma dan membentuk kompleks dengan  $\alpha$ 2-makroglobulin dan  $\alpha$ 1 antitripsin sebagai PI terpenting dari plasma (Silva-lópez dan Natashe, 2019).

Uji aktivitas antiplatelet secara *in vitro* dilakukan dengan mengukur kekeruhan *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. Semakin besar penurunan serapan platelet plasma, maka semakin besar agregat yang terbentuk (Rohmah dan Fickri, 2020). Sebelum penambahan ADP, transmisi cahaya melalui PRP rendah karena platelet masih tersuspensi homogen dalam PRP. Setelah penambahan ADP, platelet mengalami agregasi lalu mengendap. Akibatnya, plasma menjadi jernih dan transmisi cahaya pun meningkat (Wirawan, 2007). Penggunaan spektrofotometer uv-vis pada pengukuran uji aktivitas antiplatelet karena 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

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antiplatelet isolat enzim bromelain secara *in vitro* menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang dipakai selama penelitian terdiri dari *Platelet Rich Plasma* (PRP) yang dibeli dari Palang Merah

Indonesia (PMI) (PRP diperoleh dari darah manusia yang sehat, bersih dari diabetes, obat-obatan terlarang, alkohol, dan nikotin), isolat enzim bromelain, NaCl, Adenosine Diphosphat (ADP), asetosal (aspirin), dan akuades.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah peralatan gelas seperti gelas beaker, gelas ukur, gelas arloji, dan batang pengaduk. Peralatan lain yaitu mikropipet merk Nichipet EX, mortar, neraca analitik merk AND GH-202, vortex merk Corning LSE, *water bath* merk Advantec TBK 202 DA, dan spektrofotometer UV-Vis merk Hitachi U-2910.

#### **Pembuatan Air Saline 0,9%**

Sebanyak 0,9 g NaCl ditimbang kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL akuades sampai homogen.

#### **Pembuatan ADP 5 µM**

Sebanyak 0,1 mg ADP dilarutkan ke dalam 50 mL akuades hingga homogen.

#### **Pembuatan Asetosal 1 mg/mL**

Asetosal dihaluskan menggunakan mortar lalu ditimbang sebanyak 25 mg. Serbuk asetosal yang telah ditimbang dilarutkan dengan 25 mL akuades.

#### **Penentuan Aktivitas Antiplatelet**

Penentuan aktivitas antiplatelet diawali dengan menambahkan 200 µL PRP (Platelet Rich Plasma) ke dalam tabung reaksi berisi 70 µL enzim dan 3,23 mL air saline. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 menit kemudian dikocok menggunakan vortex dengan kecepatan rendah. Serapan larutan lalu diukur pada panjang gelombang 380 nm menggunakan Spektrofotometer UV-Vis. Setelah diukur, ke dalam larutan enzim ditambahkan 20 µL ADP (Adenosin Diphosphat 5'), diinkubasi

pada suhu 37°C selama 10 menit, dan diukur kembali serapannya pada panjang gelombang 380 nm. Perlakuan yang sama diterapkan pada larutan kontrol dengan larutan asetosal 1 mg/mL sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif.

Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase agregasi dan inhibisi ialah:

$$\%Agregasi\ Platelet = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

A = Absorbansi sebelum penambahan ADP

B = Absorbansi setelah penambahan ADP

$$\%Inhibisi = \frac{\%APN - \%APS}{\%APN} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

%APN = Agregasi platelet kontrol negatif

%APS = Agregasi platelet sampel

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

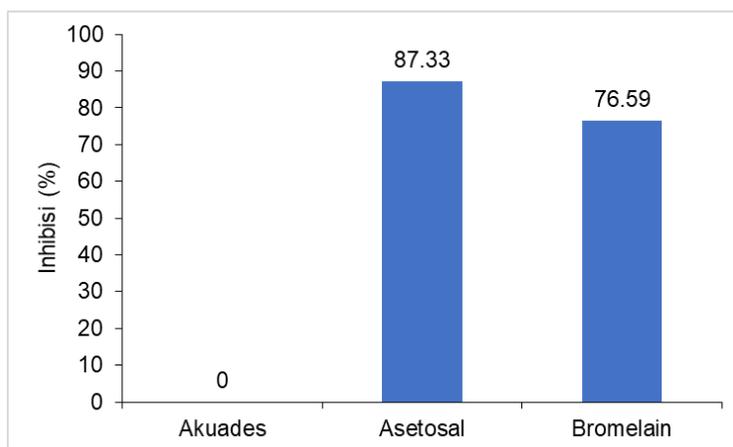
Sampel PRP yang digunakan diperoleh dari Palang Merah Indonesia (PMI) dengan syarat relawan yang bersih dari diabetes, obat-obatan terlarang, alkohol, dan nikotin. Selain itu digunakan pula kontrol positif berupa larutan asetosal 1 mg/mL dan kontrol negatif berupa akuades. Asetosal merupakan obat komersial yang memiliki efek antiplatelet. Asetosal menginaktivasi secara permanen enzim siklo-oksigenase sehingga menurunkan sintesis TXA2 yang berperan penting sebagai agregator platelet (Yunita *et al.*, 2015).

Hasil pengujian aktivitas antiplatelet kontrol negatif (akuades), kontrol positif (asetosal), dan bromelain dapat dilihat pada Gambar 3. Terlihat bahwa fraksi bromelain hasil dialisis memiliki aktivitas

sebagai antiplatelet sebesar 76,59 %. Hasil ini sedikit lebih rendah daripada kontrol positif yaitu asetosal dengan inhibisi sebesar 87,33 %. Hal ini menunjukkan bahwa enzim bromelain hasil isolasi dari buah nanas memiliki potensi untuk digunakan sebagai alternatif obat antiplatelet bagi penderita penyakit kardiovaskular.

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antiplatelet jika suatu senyawa dapat menghambat agregasi platelet (Herfena *et al.*, 2020). Aktivitas antiplatelet

dapat diukur menggunakan persentase agregasi dan inhibisi platelet. Persentase agregasi platelet merupakan pengaruh suatu senyawa terhadap proses pembentukan bekuan platelet dalam darah. Sementara itu, persentase inhibisi trombosit merupakan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat proses agregasi. Apabila persentase agregasi rendah maka persentase inhibisinya tinggi. Hal ini berarti bahwa senyawa tersebut mempunyai kemampuan sebagai agen antiplatelet (W A Hidayani, 2020).



**Gambar 1.** Diagram Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet kontrol negatif (akuades), kontrol positif (asetosal), dan bromelain.

## KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa enzim bromelain memiliki aktivitas antiplatelet sebesar 76,59 %. Hal ini menunjukkan bahwa enzim bromelain hasil isolasi dari buah nanas memiliki potensi untuk digunakan sebagai alternatif obat antiplatelet bagi penderita penyakit kardiovaskular.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kepala Laboratorium Fakultas

Kedokteran dan Kepala Laboratorium fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta atas izin waktu dan tempat yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Fitria, Y. N., Budianto, E., & Setiasih, S. (2018). Encapsulation efficiency and dissolution of bromelain from chitosan-poly(N-vinylpyrrolidone) semi-IPN hydrogel. *AIP Conference Proceedings*, 2049(December). <https://doi.org/10.1063/1.5082436>

- Hassan, A and Othman, Z. (2011). Pineapple [Ananas comosus (L.) Merr. In *Pineapple (Ananas comosus L. Merr.)* (pp. 194–218). Woodhead Publishing Limited. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1658-0\\_23](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1658-0_23)
- 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 Evaluation of in-vitro dissolution profiles of Partially Purified Br. *AIP Conference Proceedings*.
- Hilberg, T., & Gla, D. (2006). The influence of bromelain on platelet count and platelet activity in vitro. *Platelets*, 17(February), 37–41. <https://doi.org/10.1080/09537100500197489>
- Metzig, C., Grabowska, E., Eckert, K., Rehse, K., & Maurer, H. R. (1999). Bromelain proteases reduce human platelet aggregation in vitro, adhesion to bovine endothelial cells and thrombus formation in rat vessels in Vivo. *In Vivo*, 13(1), 7–12.
- Pavan, R., Jain, S., Shraddha, & Kumar, A. (2012). Properties and Therapeutic Application of Bromelain: A Review. *Biotechnology Research International*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/976203>
- Putranto, M. A., Budianto, E., & Hudoyon, S. (2018). Encapsulation and dissolution study of bromelain in chitosan-methyl cellulose semi-IPN hydrogel. *AIP Conference Proceedings*, 2049. <https://doi.org/10.1063/1.5082438>
- Putri, R. R. R. F., Ulfa, E. U., & Riyanti, R. (2014). Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (Brassica oleracea var. capitata L.) Antiplatelets activity of red cabbage ethanolic extract (Brassica oleracea var. capitata L.). *Pustaka Kesehatan*, 2(1), 111–114. <http://jurnal.unej.ac.id/index.php/JPK/article/view/605>
- Rohmah, M. K., & Fickri, D. Z. (2020). Uji Aktivitas Antiplatelet , Antikoagulan , dan Trombolitik Alkaloid Total Daun Pepaya ( Carica papaya L .) secara in Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), 115–125. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.2.115-125.2020>
- Sandhy, P. P., Budianto, E., & Hudiyono, S. (2018). Bromelain encapsulation on hydrogel chitosan-poly(N-vinyl pyrrolidone) full-IPN. *AIP Conference Proceedings*, 2049(December). <https://doi.org/10.1063/1.5082441>
- Silva-lópez, R. E., & Natashe, R. (2019). Therapeutic proteases from plants : biopharmaceuticals with multiple applications. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 6(2), 101–109. <https://doi.org/10.15406/jabb.2019.06.00180>
- W A Hidayani, S. S. and S. H. (2020). Determination of the effect of EDTA and PCMB on purified bromelain activity from pineapple core and in vitro antiplatelet activity. *I O P Conference Science, Materials Science and Engineering*, 763. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/763/1/012054>
- Wirawan, R. (2007). Nilai Rujukan Pemeriksaan Agregasi Trombosit dengan Adenosis Difosfat pada Orang Indonesia Dewasa Normal di Jakarta. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 57(7), 212–219.
- Yunita, E. P., Zulkarnain, B. S., & Aminuddin, M. (2015). Aspirin Resistance in Coronary Artery Disease with Hypertensive Patients. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 4(1), 28–38. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2015.4.1.28>