

## Gambaran Hematologi Tikus setelah Pemberian Terapi Gel Ekstrak Kasar Bromelin Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

### Rats Hematological Profile after Treatment with Gel Containing Bromelain Crude Extract of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr) Peel

Anang Setyo Wiyono<sup>1\*</sup>, Ninis Yuliaty<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prodi D3 Anafarma, Fakultas Sains Teknologi dan Analisis, IIK Bhakti Wiyata Kediri  
Jl. KH. Wachid Hasyim No. 65 Kediri 64114, Indonesia

<sup>2</sup> Prodi D3 Teknik Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, IIK Bhakti Wiyata Kediri  
Jl. KH. Wachid Hasyim No. 65 Kediri 64114, Indonesia

\*Corresponding author email: anang.wiyono@iik.ac.id

Received 28-09-2020

Accepted 08-12-2020

Available online 31-12-2020

#### ABSTRAK

Bromelin memiliki aktivitas sebagai anti edematosa, antitrombotik, dan antiinflamasi pada berbagai penelitian in vitro dan in vivo. Ekstrak kasar bromelin kulit nanas didapatkan dari proses isolasi enzim kulit nanas segar yang dilakukan dengan cara sentrifugasi. Ekstrak kasar bromelin kulit nanas dikembangkan menjadi sediaan gel yang ditujukan sebagai anti edematosa atau anti memar dengan melihat profil hematologi pada tikus yang dibuat luka memar. Formulasi gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas menggunakan bahan aktif ekstrak kasar bromelin 450 mg/kg BB dengan perbandingan konsentrasi *gelling agent* dan humektan yang sama besar, serta zat tambahan berupa trietanolamin, metil paraben, dan air. Tikus putih jantan dibagi menjadi empat kelompok perlakuan, yaitu kelompok I sebagai kontrol normal tanpa terapi, kelompok II sebagai kontrol positif, kelompok III sebagai kontrol negatif, dan kelompok IV sebagai kelompok sampel. Tikus dibuat luka memar dengan teknik penjatuhan beban pada punggung tikus. Parameter uji pada penelitian ini meliputi sel darah putih (*white blood cells*, WBC), sel darah merah (*red blood cells*, RBC), *hematocrit* (HCT), dan *platelets* (PLT). Berdasarkan analisis *two way ANOVA*, terdapat perbedaan nilai WBC yang bermakna antar waktu dan kelompok dengan nilai p sebesar 0,008 ( $p < 0,05$ ). Sedangkan nilai p dari RBC, HCT, dan PLT berturut-turut sebesar 0,421, 0,297 dan 0,758, yang menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Kesimpulan pada penelitian ini adalah gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas pada dosis 450 mg/kg BB efektif menurunkan nilai WBC pada jam ke-6 dan jam ke-12, yaitu masing-masing sebesar  $13,33 \pm 2,05$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) dan  $11,80 \pm 1,30$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ).

**Kata kunci:** bromelin, gel, hematologi, kulit nanas.

## ABSTRACT

*Bromelain has been shown various activities, i.e., anti-edematous, antithrombotic, and anti-inflammatory in vitro and in vivo studies. The bromelain crude extract was isolated from fresh pineapple (Ananas comosus (L.) Merr) peel by centrifugation. Crude extract of bromelain was further formulated into a gel preparation indicated for an anti-edematous by evaluating the hematological profile of the rats in this study. The gel formulation used the active ingredient of bromelain crude extract at a doses of 450 mg/kg BW with the equal concentration of gelling agent and humectant as well as other additives including triethanolamine, methyl paraben, and water. The male white rats were divided into four treatment groups, i.e., group I as a normal control group, group II as a positive control, group III as a negative control, and group IV as the treatment group. The rats were bruised using the technique of dropping weights on the rats' backs. The test parameters in this study were white blood cells (WBC), red blood cells (RBC), hematocrit (HCT), and platelet (PLT). Based on the two-way analysis, there was a significant difference in the WBC value between time and groups with a p-value of 0.008. Meanwhile, there was no significant difference in RBC, HCT and PLT, with the p-values of 0.421, 0.297 and 0.758, respectively. The conclusion of this study was the gel containing bromelain crude extract of pineapple peel at a dose of 450 mg/kg BW was effective in reducing WBC values at the 6th and 12th hours by  $13.33 \pm 2.05$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ) and  $11.80 \pm 1.30$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), respectively.*

**Keywords:** bromelain, gel, hematology, pineapple peel.

## Pendahuluan

Bromelin merupakan enzim proteolitik sulfhidril (Manzoor *et al.*, 2016). Bromelin mengandung campuran berbagai endopeptidase tiol dan komponen lain seperti fosfatase, glukosidase, peroksidase, selulase, eskarase, dan beberapa penghambat protease. Studi *in vitro* dan *in vivo* menunjukkan bahwa bromelin menunjukkan berbagai aktivitas fibrinolitik, antiedematous, antitrombotik, dan anti-inflamasi (Kwatra & Labs, 2019; Pavan *et al.*, 2012). Pada penelitian kali ini fokus utamanya adalah pada pemanfaatan limbah yaitu kulit nanas yang diekstrak menggunakan metode sentrifugasi (Herdyastuti, 2006). Hasilnya berupa

ekstrak kasar Bromelin yang dijadikan bahan aktif gel anti memar atau antiedematous. Gel merupakan sistem setengah padat yang terdiri dari suatu disperse yang tersusun baik dari partikel anorganik yang kecil atau molekul organik yang besar dan saling diresapi cairan. Formulasi gel ekstrak kasar bromelin mengikuti formula optimum Wiyono & Mustofani (2019) yaitu menggunakan bahan aktif ekstrak kasar bromelin 450 mg/Kg BB dengan perbandingan konsentrasi *gelling agent* dan humektan yang sama besar serta beberapa zat tambahan antara lain triethanolamin, metil paraben, dan air. Dosis 450 mg/Kg BB memiliki aktivitas daya anti inflamasi yang paling optimal pada formula optimum Wiyono &

Mustofani (2019). Keuntungan gel hidrofilik adalah daya sebar pada kulit baik, efek dingin yang ditimbulkan akibat lambatnya penguapan air pada kulit, tidak menyumbat pori-pori kulit, mudah dicuci dengan air dan memungkinkan pemakaian pada bagian tubuh yang berambut dan pelepasan obatnya baik (Voight, 1995). Keuntungan sediaan gel yang lain adalah waktu kontak yang lama, kadar air dalam gel yang tinggi dan resiko munculnya peradangan dapat ditekan (Lieberman *et al.*, 2005).

Memar atau *ecchymosis*, terjadi jika bagian tubuh terkena benturan dan serat otot serta jaringan ikat di bawahnya hancur tetapi kulit tidak pecah. Memar membutuhkan waktu berhari-hari atau berminggu-minggu untuk pulih dan bisa menjadi bentuk kerusakan sementara. Ketika ini terjadi, darah dari kapiler yang pecah di dekat permukaan kulit keluar dengan keluar di bawah kulit. Karena tidak ada tempat untuk pergi, darah terperangkap, membentuk tanda merah atau keunguan yang lembut saat disentuh (Robin *et al.*, 2015). Pertama, warnanya kemerahan. Warna awal merah pada memar adalah produk pigmentasi alami kulit, warna pigmen dalam darah yang diekstravasasi, dan warna apa pun yang ditambahkan oleh reaksi inflamasi (misalnya kemerahan akibat vasodilatasi), tetapi dengan berjalannya waktu warna memar akan berubah dari warna merah menjadi hitam kebiruan. Kemudian setelah beberapa hari, menjadi agak hijau (setelah 4 sampai 7 hari), kuning atau

coklat (setelah 7 hari) (Robin *et al.*, 2015).

Hematologi merupakan suatu ilmu yang mempelajari tentang pemeriksaan kondisi dari sel-sel darah perifer yang ada pada tubuh dengan melihat kondisi normal dan patologisnya. Profil hematologi mempunyai kegunaan untuk menilai kondisi kesehatan, penyakit dan juga adanya gangguan kerusakan jaringan maupun akibat kondisi geografis (Ihedioha *et al.*, 2012). Nilai hematologi juga berperan penting bagi manusia maupun hewan dan juga dapat mendiagnosa kesehatan makhluk hidup, baik dalam keadaan cedera, terinfeksi ataupun terjadinya proses penurunan fungsi faal tubuh yang diakibatkan karena stress yang terjadi pada manusia maupun hewan (Aiba *et al.*, 2016). Profil hematologi tikus pada penelitian ini meliputi sel darah putih (*white blood cells*, WBC), sel darah merah (*red blood cells*, RBC), *hematocrit* (HCT), dan *platelets* (PLT) ditujukan untuk mengetahui kondisi inflamasi yang terjadi akibat luka memar dan untuk melihat efektivitas pemberian gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas.

WBC merupakan salah satu parameter dari radang. Pada saat terjadi radang jumlah WBC dalam darah akan mengalami peningkatan akibat reaksi radang dan akan mengalami penurunan ketika dalam proses penyembuhan luka (Syafikriatillah *et al.*, 2016). Jumlah WBC dalam darah antara 0,1-0,2% lebih sedikit dari jumlah sel darah merah. Sedangkan dalam jumlah normal WBC mempunyai rentang yang cukup luas

yaitu berkisar antara  $5 \cdot 10^3 - 10^4$ /ml, jika jumlah WBC diatas normal maka dapat dikatakan tubuh kemasukan benda asing dalam jumlah besar yang biasa dalam bentuk infeksi dan peradangan (Sadikin, 2001). RBC berfungsi membawa oksigen dari paru-paru keseluruh tubuh dan membawa karbon dioksida ( $CO_2$ ) dari jaringan tubuh ke paru-paru. RBC mempunyai bentuk bikonkaf, berdiameter 7-8  $\mu$ . RBC tidak mempunyai inti sel tetapi mengandung beberapa organel dalam sitoplasma. Sebagian besar sitoplasma RBC berisi hemoglobin yang memiliki fungsi mengikat oksigen (Kiswari, 2014). Peningkatan jumlah HCT dan PLT dapat disebabkan karena gangguan distribusi dalam tubuh. Peningkatan produksi HCT dan PLT bersifat reaktif misalnya disebabkan oleh infeksi virus dan disebabkan oleh mobilisasi HCT dan PLT dari jaringan sehingga terjadi respon akut sementara terhadap stress, seperti trauma berat atau infark miokard (Bain, 2014)

### Metode Penelitian

#### Alat dan bahan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Solida dan Farmakologi, Fakultas Farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Waktu Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-September 2020. Bahan yang digunakan adalah kulit buah nanas segar matang yang diperoleh dari lereng Gunung Kelud Kecamatan Wates Kabupaten Kediri, buffer fosfat pH 7, natrium metabisulfite 0,2 %, carbopol 940, triethanolamin, gliserin, metil

paraben, aquadest, alkohol 70%. Peralatan yang digunakan adalah blender, pisau, kain kasa, sentrifus, spatel, ayakan, timbangan analitik, cawan, oven, pipet tetes, gelas ukur, mortir, stamper, beaker glass, tabung reaksi, wadah gel, viskometer rion VT-04F, lempeng gelas, keping kaca, pH meter, timbangan hewan, pipa paralon diameter 2,6 mm, beban 300 gram dan *Haematology Analyzer Sysmex KX-21*.

#### Jalannya penelitian

##### 1. Prosedur ekstraksi

Kulit nanas yang telah dibersihkan, dipotong kecil-kecil, kemudian diblender dengan buffer fosfat pH 7. Preparat halus disaring untuk mendapatkan sari yang selanjutnya disimpan dalam lemari es selama 24 jam. Endapan yang muncul disentrifus dengan kecepatan 3.500 rpm selama 15 menit, sehingga diperoleh tiga lapisan. Lapisan pertama yaitu lapisan atas berupa cairan, lapisan kedua yaitu berupa koloid yang mengandung enzim bromelain dan lapisan ketiga berupa pati. Selanjutnya koloid tersebut ditambahkan natrium metabisulfite 0.2 % sebanyak tiga kali berat koloid yang diperoleh, kemudian koloid ini dikeringkan pada suhu  $\pm 55$  °C selama lebih kurang 7 jam hingga di peroleh ekstrak kering. Kemudian ekstrak kering digerus dan diayak dengan ayakan *mesh* 48 (Herdyastuti, 2006).

##### 2. Pembuatan gel

Formulasi sediaan gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas mengikuti

formula optimum Wiyono & Mustofani (2019) dapat dilihat pada Tabel 1.

Pembuatan gel dilakukan dengan cara carbopol dimasukkan ke dalam mortir yang berisi air, ditunggu sampai mengembang dan digerus sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan triethanolamin sedikit demi sedikit ke dalam mortir yang berisi carbopol, digerus sampai homogen dan terbentuk massa gel. Gliserin dan ekstrak kasar ditambahkan ke dalam mortir yang berisi massa gel, digerus sampai homogen. Metil paraben dilarutkan dengan air panas dan dimasukkan ke dalam mortir yang berisi massa gel, lalu diaduk sampai homogen. Kemudian dimasukkan sediaan ke dalam wadah (Wiyono & Mustofani, 2019).

### 3. Uji mutu fisik gel

Uji organoleptis gel dilakukan dengan cara mengamati tekstur, warna, dan bau secara visual. (Voight, 1995).

Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan gel pada dua keping kaca. Sediaan harus menunjukkan homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Voight, 1995).

Uji pH gel dilakukan menggunakan pH meter. Alat terlebih dahulu dikalibrasi dengan larutan dapar standart pH 4 dan 7 sebelum digunakan untuk uji pH gel (Voight, 1995).

**Tabel 1.** Formulasi gel

Nama bahan	Formula (gram)
Ekstrak kasar	0,45
Carbopol 940	1
TEA	0,2
Gliserin	1
Metil paraben	0,02
Air add	10

Uji daya sebar gel dilakukan dengan cara menimbang gel ekstrak kasar bromelin kulit buah nanas sebanyak 500 mg, gel ekstrak kasar bromelin kulit buah nanas diletakkan di atas pusat antara 2 lempeng gelas. Lempeng gelas bagian atas sebelumnya ditimbang kemudian letakkan di atas gel selama 1 menit, Lempeng gelas bagian atas diberi beban dan dibiarkan selama 1 menit (Voight, 1995).

Uji viskositas gel dilakukan dengan cara menyiapkan sampel dalam viskometer rion VT-04F hingga spindle terendam. Spindle dan kecepatan yang akan digunakan kemudian diatur. Viskometer rion VT-04F dijalankan, kemudian viskositas dari gel akan terbaca (Voight, 1995).

### 4. Uji efektivitas gel

Sebelum dibuat luka memar, seluruh tikus dilakukan pembiusan terlebih dahulu menggunakan kloroform. Rambut di area yang akan dilukai dicukur terlebih dahulu dan kulit didesinfeksi dengan alkohol 70%. Pembuatan luka memar pada punggung tikus menggunakan beban 300 g yang dijatuhkan secara vertikal melalui pipa paralon diameter 26 mm

dengan ketinggian 70 cm (McBrier *et al.*, 2009). Pengukuran profil hematologi meliputi WBC, RBC, HCT, dan PLT, dilakukan dengan menggunakan *haemato analyzer Sysmex KX-21* dan diamati pada jam ke-1, jam ke-6, dan jam ke-12.

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan berat 200-300 gram. Kelompok perlakuan dibagi sebagai berikut:

- a. Kelompok I (kontrol normal): Hanya diberi makan dan minum tanpa dibuat luka memar dan tanpa terapi.
- b. Kelompok II (kontrol positif): Luka memar diolesi heparin gel.
- c. Kelompok III (kontrol negatif): Luka memar dibiarkan tanpa terapi.
- d. Kelompok IV (kelompok perlakuan sampel): Luka memar diolesi gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas dosis 450 mg/KgBB.

Pemberian sediaan gel dilakukan segera setelah penjatuhan beban dengan cara dioleskan pada luka memar secukupnya secara merata sebanyak satu kali pengolesan. Pengambilan darah sampel dilakukan pada jam ke-1, ke-6 dan ke-12 setelah pembuatan luka memar.

## Hasil dan Pembahasan

### *Ekstrak kasar bromelain*

Proses ekstraksi kulit nanas dengan menggunakan metode

sentrifugasi seperti yang dilakukan oleh Herdyastuti (2006) menghasilkan rendemen yang kurang maksimal. Dari 2 kg kulit nanas yang diekstrak menghasilkan 1,316 g ekstrak kasar bromelin kulit nanas sehingga rendemen yang didapatkan hanya sebesar 0,066%. Sedangkan hasil ekstraksi Herdyastuti (2006) sebesar 0,138%. Hal ini dipengaruhi oleh berbagai macam faktor diantaranya kondisi suhu dan pH. Kestabilan suhu pada kisaran 4 derajat celcius dan pH 7 adalah kondisi optimal dalam mempertahankan enzim bromelin (Masri & Musa, 2014).

### *Mutu fisik gel*

Hasil pemeriksaan organoleptis menunjukkan bahwa ekstrak kasar Bromelin kulit buah nanas berbentuk serbuk, berwarna putih kekuningan, dan berbau khas nanas. Hal ini sama dengan hasil penelitian Wiyono & Mustofani (2019). Hasil organoleptis gel dipengaruhi dari warna ekstrak yang ditambahkan yaitu berwarna putih kekuningan. Bau yang dihasilkan yaitu bau khas kulit nanas yang merupakan bahan aktif yang digunakan dalam formulasi. Sedangkan tekstur gel menunjukkan gel yang kental. Hal ini karena pengaruh pemakaian *gelling agent* carbopol 940 dan humektan gliserin yang dibuat dengan perbandingan sama banyak yaitu masing-masing 1 g. Mengacu pada penelitian Wiyono & Mustofani (2019) bahwa perbandingan carbopol 940 dan gliserin yang optimal terjadi pada perbandingan yang sama banyak yaitu masing-masing 1 g. Pemilihan carbopol

940 sebagai *gelling agent* dikarenakan tidak beracun dan non iritan (Rowe *et al.*, 2009).

Daya sebar gel dimaksudkan untuk mengetahui kemampuan gel menyebar saat dioleskan pada kulit (Ulviani & Khaerati, 2016). Daya sebar yang dihasilkan dari ketiga replikasi sediaan sebesar  $6.5 \pm 0,057$  cm sesuai dengan penelitian Wiyono & Mustofani (2019) sebesar  $6.5 \pm 0,152$  cm telah memenuhi kriteria daya sebar yang baik untuk sediaan gel yaitu antara 5 - 7 cm (Sayuti, 2015). Semakin kecil konsentrasi carbopol 940 dan semakin besar konsentrasi gliserin menghasilkan nilai daya sebar yang tinggi. Sebaliknya, semakin besar konsentrasi carbopol 940 dan semakin kecil konsentrasi gliserin menghasilkan nilai daya sebar yang rendah (Wiyono & Mustofani, 2019). Penurunan daya sebar terjadi melalui meningkatnya ukuran unit molekul karena telah mengabsorpsi pelarut sehingga cairan tersebut tertahan dan meningkatkan tahanan untuk mengalir dan menyebar (Sukmawati, 2014). Dan semakin tinggi daya sebar suatu sediaan

maka luas permukaannya semakin besar, mengakibatkan kecepatan difusi suatu obatpun semakin meningkat (Ulviani & Khaerati, 2016).

Hasil uji homogenitas gel ekstrak kasar kulit nanas menunjukkan homogen yaitu tidak ada butiran kasar atau partikel pada sediaan yang terlihat pada obyek glass dan tercampur rata. Hal ini sesuai dengan penelitian Wiyono & Mustofani (2019). Pengujian homogenitas merupakan pengujian terhadap ketercampuran bahan-bahan dalam sediaan gel yang menunjukkan susunan yang homogen dan tidak terlihat adanya butiran kasar (Depkes, 1995).

Hasil pengujian pH menunjukkan bahwa nilai rata - rata pH yang dihasilkan gel ekstrak kasar kulit buah nanas adalah  $6,10 \pm 0,10$ . Sedangkan rata-rata nilai pH pada penelitian Wiyono & Mustofani (2019) sebesar  $6,13 \pm 0,152$ . Hasil ini menunjukkan bahwa pH gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas aman digunakan sebab berada dalam rentang pH kulit yaitu antara 4,5 - 6,5 (Ulviani & Khaerati, 2016).

**Tabel 2.** Hasil uji mutu fisik gel

	Hasil uji mutu fisik	Hasil uji mutu fisik penelitian sebelumnya	Nilai yang dipersyaratkan
<b>Organoleptis gel</b>	Bentuk kental, warna putih kekuningan, bau khas	Bentuk kental, warna putih kekuningan, bau khas	Bentuk kental
<b>Daya sebar gel (cm)</b>	$6.5 \pm 0,057$	$6.5 \pm 0,152$	05-Jul
<b>Homogenitas gel</b>	Homogen	Homogen	Homogen
<b>pH Gel</b>	$6,10 \pm 0,10$	$6,13 \pm 0,152$	4,5 - 6,5
<b>Viskositas Gel (dPa·s)</b>	$163,34 \pm 7,64$	$160 \pm 10$	50-1000

Formula gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas menggunakan carbopol 940 dan gliserin dengan perbandingan sama besar berguna untuk menjaga pH ini pada rentang yang dikehendaki untuk pemakaian di kulit yaitu pada rentang 4,5-6,5. Semakin banyak konsentrasi carbopol 940 yang digunakan, semakin asam sediaan (Wiyono & Mustofani, 2019). Kriteria ini dipilih karena pH yang terlalu asam pada sediaan dapat mengiritasi kulit dan pH yang terlalu basa dapat membuat kulit bersisik (Naibaho *et al.*, 2013).

Viskositas merupakan tahanan untuk mengalir, dimana semakin besar viskositasnya maka sediaan tersebut semakin kental, demikian juga sebaliknya (Wiyono & Mustofani, 2019). Hasil pengujian viskositas, diperoleh hasil yang bervariasi pada tiap replikasi. Nilai rata-rata viskositas adalah sebesar  $163,34 \pm 7,64$  dPa.s. Rata-rata viskositas pada penelitian Wiyono & Mustofani (2019) sebesar  $160 \pm 10$  dPa.s. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai viskositas gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas sesuai dengan nilai yang dipersyaratkan yaitu berkisar antara 50-1000 dPa.s (Nurahmanto *et al.*, 2017). Nilai viskositas berbanding lurus dengan tahanannya (Sinko, 2011). Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui konsistensi suatu sediaan yang berpengaruh pada penggunaan secara topikal. Semakin tinggi konsentrasi carbopol 940, semakin meningkat viskositas gel karena carbopol dapat mengembang ketika terdispersi dalam air membentuk suatu koloid (Wiyono & Mustofani, 2019). Namun,

viskositas sediaan tidak boleh terlalu tinggi maupun terlalu rendah, karena viskositas yang terlalu tinggi akan membuat gel semakin kental yang mengakibatkan pada semakin sulit obat terlepas dari sediaan gel, sedangkan jika viskositas terlalu rendah maka akan menurunkan lama waktu gel tinggal di kulit saat digunakan (Sukmawati, 2014).

#### Hematologi

Darah menjadi komponen penting dalam penilaian kondisi fisiologis karena berfungsi sebagai pengedar substansi yang masuk ke dalam tubuh maupun yang dihasilkan tubuh dari proses metabolisme (Ihedioha *et al.*, 2008). Kondisi fisiologis tubuh yang baik akan ditandai profil darah yang baik dan komponen darah yang berada dalam kisaran normal (Rahman & Yang, 2018). Pada penelitian ini pengaruh pemberian gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas diamati dengan melihat profil darah tikus pada jam ke-1, ke-6 dan ke-12 seperti tampak pada Tabel 3. Profil darah tikus yang diamati meliputi WBC, RBC, HCT dan PLT.

Berdasarkan analisis *two way ANOVA* pada pemeriksaan WBC menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada uji beda antar waktu dan uji beda antar kelompok dengan nilai  $p$  sebesar 0,008 atau nilai  $p < 0,05$ . Sedangkan pada pemeriksaan RBC, HCT dan PLT nilai  $p > 0,05$ . Hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada uji beda antar waktu dan uji beda antar kelompok dengan nilai  $p$  berturut-turut sebesar 0,421, 0,297 dan 0,758.

**Tabel 3.** Nilai WBC, RBC, HCT dan PLT selama 12 jam dan hasil analisis *two way ANOVA*

Parameter	Perlakuan	N	Jam Ke-1	Jam Ke-6	Jam Ke-12
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	K0 <sup>ab</sup>	9	6,93 $\pm$ 0,15	6,90 $\pm$ 0,26	6,93 $\pm$ 0,15
	K1 <sup>b</sup>	9	9,40 $\pm$ 1,10	13,70 $\pm$ 2,00	7,77 $\pm$ 1,95
	K2 <sup>a</sup>	9	9,13 $\pm$ 0,85	16,00 $\pm$ 2,65	15,57 $\pm$ 4,31
	K3 <sup>bc</sup>	9	9,07 $\pm$ 1,51	13,33 $\pm$ 2,05	11,80 $\pm$ 1,30
RBC ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	K0 <sup>cd</sup>	9	7,08 $\pm$ 0,26	7,60 $\pm$ 0,88	6,66 $\pm$ 1,03
	K1 <sup>d</sup>	9	7,05 $\pm$ 0,44	7,72 $\pm$ 0,31	6,37 $\pm$ 0,90
	K2 <sup>c</sup>	9	7,06 $\pm$ 0,31	7,57 $\pm$ 2,22	7,29 $\pm$ 0,29
	K3 <sup>cd</sup>	9	7,50 $\pm$ 0,49	6,96 $\pm$ 0,26	7,82 $\pm$ 0,25
HCT (%)	K0 <sup>cd</sup>	9	44,37 $\pm$ 2,21	46,57 $\pm$ 3,10	36,70 $\pm$ 2,51
	K1 <sup>d</sup>	9	44,33 $\pm$ 1,90	34,50 $\pm$ 3,00	37,07 $\pm$ 3,81
	K2 <sup>c</sup>	9	44,40 $\pm$ 2,70	44,47 $\pm$ 3,06	41,77 $\pm$ 2,08
	K3 <sup>cd</sup>	9	46,40 $\pm$ 2,00	40,75 $\pm$ 1,95	44,50 $\pm$ 2,92
PLT ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ )	K0 <sup>cd</sup>	9	278,00 $\pm$ 2,75	729,00 $\pm$ 1,21	722,67 $\pm$ 4,96
	K1 <sup>d</sup>	9	280,00 $\pm$ 3,63	674,67 $\pm$ 2,51	564,33 $\pm$ 3,91
	K2 <sup>c</sup>	9	286,67 $\pm$ 3,70	415,33 $\pm$ 2,94	551,00 $\pm$ 3,51
	K3 <sup>cd</sup>	9	600,00 $\pm$ 3,62	599,00 $\pm$ 3,00	835,00 $\pm$ 1,39

Keterangan: K0 = kontrol normal (tikus model hanya diberi makan dan minum tanpa dibuat luka memar dan tanpa terapi), K1 = kontrol positif (tikus model dengan luka memar diolesi Heparin gel). K2 = kontrol negatif (tikus model dengan luka memar tanpa terapi), K3 = kelompok sampel (tikus model dengan luka memar diolesi gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas 450 mg/kg BB). <sup>a</sup> = ada perbedaan bermakna dengan kontrol positif, <sup>b</sup> = ada perbedaan bermakna dengan kontrol negative, <sup>c</sup> = tidak ada perbedaan bermakna dengan kontrol positif, <sup>d</sup> = tidak ada perbedaan bermakna dengan kontrol negatif

Berdasarkan Tabel 3 diatas dapat diartikan bahwa pembuatan luka memar pada jam ke-1 pada semua kelompok perlakuan berhasil dilakukan. Nilai WBC pada tabel 3 menunjukkan bahwa kontrol normal dengan semua kelompok perlakuan memiliki perbedaan secara bermakna. Perbedaan nilai WBC pada kontrol normal dengan semua kelompok perlakuan juga terlihat pada Gambar 1. Kenaikan nilai WBC pada semua kelompok perlakuan ini diduga berkaitan dengan adanya luka memar yang dibuat. Kenaikan nilai WBC Ini merupakan respon akibat inflamasi yang terjadi (Hale *et al.*, 2002; Duerkop, 2008; Ghasemzadeh & Hosseini, 2015). Luka memar yang terjadi menyebabkan

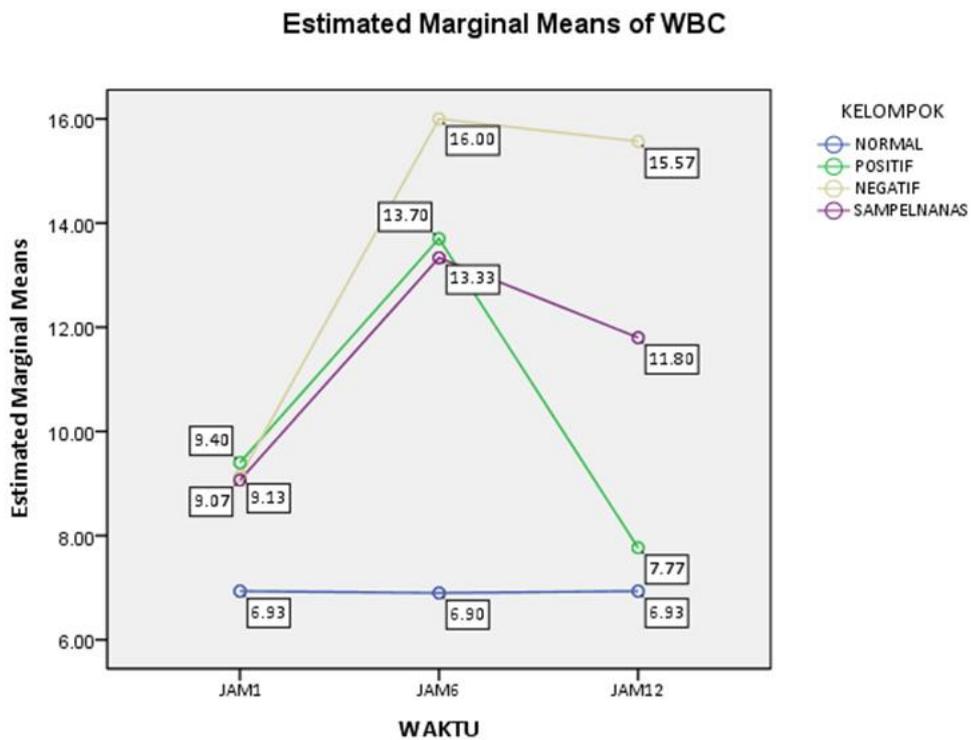
edema. Edema yang terjadi menyebabkan adanya pengeluaran cairan dari pembuluh darah yang mempengaruhi kenaikan nilai WBC (Febram *et al.*, 2010). Hal ini terjadi karena pada saat inflamasi terjadi perekrutan WBC ke trombus yang mendukung interaksi sel yang mengarah pada peningkatan fungsi pro-koagulan dan respons pro-inflamasi di lokasi cedera vaskular (Ghasemzadeh & Hosseini, 2015).

Profil nilai WBC pada gambar 1 menunjukkan bahwa pada jam ke-1, kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok sampel mengalami peningkatan nilai WBC. Hal ini berkaitan dengan infiltrasi inflamasi sel. Takamiya

*et al.*, (2005), Randeberg *et al.*, (2007) dan (Barington & Jensen, 2015) menggambarkan kehadiran paling awal dari neutrofil yang merupakan bagian dari WBC adalah setelah jam ke-1, jam ke-4,5 dan jam ke-8 (Barington & Jensen, 2015). Randeberg *et al.*, (2007) melaporkan banyak neutrofil di sekitar kapiler di lemak subkutan dari luka memar berusia 4,5 jam. Sedangkan sel makrofag sudah bisa diamati pada memar tikus setelah 3 jam (Takamiya *et al.*, 2005).

Sedangkan, pada jam ke-12 menunjukkan tidak ada perbedaan yang

bermakna pada kelompok sampel dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok sampel mampu menurunkan nilai WBC sama baiknya dengan kontrol positif yang diolesi gel heparin yang berperan dalam proses angiogenesis, epitelisasi dan penyembuhan luka (Asparini, 2012). Hal ini selaras dengan penelitian (Maurer, 2001; Gaspani *et al.*, 2002; Sudjarwo, 2005; Dighe *et al.*, 2010; Errasti *et al.*, 2013; Soheilifar *et al.*, 2018; Wiyono & Mustofani, 2019) yang menyatakan bahwa bromelin memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi.



**Gambar 1.** Profil nilai WBC tikus setelah mendapat terapi gel ekstrak kasar bromelain kulit nanas selama 12 jam dengan analisis *two way ANOVA*

Hasil analisis statistik pada jam ke-6, nilai WBC kontrol positif dan kelompok sampel menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan nilai kontrol negatif. Kontrol positif dan kelompok sampel pada jam ke-6 mampu mengontrol kenaikan nilai WBC.

Parameter hematologi selain WBC yang diamati pada penelitian ini adalah nilai RGB, PLT dan HCT atau hematokrit. Selain tanda awal sebuah cedera, seperti edema di dekat perdarahan mengakibatkan pembesaran septa fibrosa, yaitu RGB di luar pembuluh darah mengaktifkan respon inflamasi tubuh (Kostadinova *et al.*, 2017). Nilai RGB kontrol normal dengan semua kelompok perlakuan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Adanya dehidrasi dan pendarahan dapat menaikkan nilai hematokrit (Christianty, T *et al.*, 2017). Namun pada penelitian ini tidak ditemukan adanya kenaikan hematokrit. Hal ini diduga akibat pengaruh lama waktu penyimpanan mulai dari pengambilan darah sampai proses pengujian sampel menggunakan *haemato analyser*. Seiring bertambahnya waktu penyimpanan, jumlah HCT (hematokrit) mengalami penurunan (Fitria *et al.*, 2016).

Kesulitan dan hambatan yang dihadapi pada penelitian ini adalah dalam mempertahankan kondisi hewan coba atau tikus agar tetap stabil tidak stres dan sehat. Dalam penelitian ini ditemukan beberapa hewan coba yang sakit dan tidak mau makan. Akibatnya nilai WBC kontrol normal pada jam ke-6

mengalami penurunan walaupun tidak signifikan. Oleh karena itu, perawatan hewan coba yang baik selama penelitian sangat dibutuhkan untuk menjaga kestabilan kondisi hewan coba termasuk didalamnya kondisi lingkungan tempat hewan coba dirawat. Kesulitan yang lain adalah dalam pembuatan luka memar yang seragam. Dengan metode penjatuhan beban pada punggung tikus di penelitian ini, peneliti menemukan kekurangan misalnya hewan coba bergerak gerak kurang bisa statis yang menyebabkan beban yg dijatuhkan bergeser dari lokasi yang diinginkan sehingga kedepan bisa dipertimbangkan metode lain untuk membuat luka memar yang lebih seragam misalnya dengan menggunakan induksi darah ke bawah kulit.

### Kesimpulan

Gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas dosis 450 mg/kg BB efektif menurunkan nilai WBC pada jam ke-6 sebesar  $13,33 \pm 2.05 (x10^3/\mu L)$  dan menurunkan nilai WBC pada jam ke-12 sebesar  $11.80 \pm 1.30 (x10^3/\mu L)$ .

### Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada RISTEK-BRIN atas pendanaan penelitian skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) Tahun 2020 Nomor: 083/SP2H/LT/DRPM/2020. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri yang telah memberikan fasilitas Laboratoriumnya untuk digunakan dalam penelitian ini.

#### Daftar Pustaka

- Aiba, S., Manalu, W., Suprayogi, A., & Maheshwari, H. 2016. Gambaran Nilai Hematologi Tikus Putih Betina Dara pada Pemberian Tombong Kelapa. *Acta VETERINARIA Indonesiana*, 4(2), 74–81. <https://doi.org/10.29244/avi.4.2.74-81>
- Asparini, R.R. 2012. Peran Heparin Dalam Angiogenesis, Epitelialisasi Dan Penyembuhan Luka Bakar. In *Saintika Medika* (Vol. 7, Issue 1). <https://doi.org/10.22219/sm.v7i1.1083>
- Bain Barbara Jane. 2014. Hematologi Kurikulum Inti. Jakarta : EGC.
- Barrington, K., & Jensen, H.E. 2015. Experimental animal models of bruises in forensic medicine - A review. In *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*.
- Christianty, T.D.R., Rahardjo, B.B., Sidharta, L. F. 2017. Profil Hematologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar pada Uji Toksisitas Oral Subkronis Filtrat Buah Luwangan (*Ficus hispida* L.f.) Hematologic. <http://e-journal.uajy.ac.id/id/eprint/12600>
- David J. Fitzhugh, M.D., Siqing Shan, M.D., Mark W. Dewhirst, D.V.M. Ph.D., and Laura P. Hale, M. D. P. . 2008. Bromelain Treatment Decreases Neutrophil Migration to Sites of Inflammation. *Bone*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>
- Dighe, N. S., Pattan, S. R., Merekar, A. N., Laware, R. B., Sanjay, B., Nirmal, S. N., Gaware, V. M., Hole, M. B., Musmade, D.S. 2010. Newsletter Bromelain A Wonder Supplement : A Review Newsletter. *Pharmacologyonline Newsletter Dighe et Al*, 18, 11–18.
- Errasti, M. E., Caffini, N. O., Pelzer, L. E., & Rotelli, A. E. 2013. Anti-inflammatory Activity of Bromelia hieronymi: Comparison with Bromelain. *Planta Medica*, 79(3-4), 207–213. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1328201>
- Febtram, B., Wientarsih, I., & Pontjo, D. B. 2010. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) Dalam Proses Persembuhan Luka Pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah Obat Tradisional*, 15(3), 2010.
- Fitria, L., Illiy, L. L., & Dewi, I. R. 2016. Pengaruh Antikoagulan dan Waktu Penyimpanan terhadap Profil Hematologis Tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) Galur Wistar. *Biosfera Vol 33, No 1: 22-30* DOI: 10.20884/1.mib.2016.33.1.321
- Gaspani, L., Limiroli, E., Ferrario, P., & Bianchi, M. 2002. In vivo and in vitro effects of bromelain on PGE2 and SP concentrations in the inflammatory exudate in rats. *Pharmacology*, 65(2), 83–86. <https://doi.org/10.1159/000056191>
- Ghasemzadeh, M., & Hosseini, E. 2015. Intravascular leukocyte migration

- through platelet thrombi: Directing leukocytes to sites of vascular injury. *Thrombosis and Haemostasis*, 113(6), 1224–1235. <https://doi.org/10.1160/TH14-08-0662>
- Hale, L. P., Greer, P. K., & Sempowski, G. D. 2002. Bromelain treatment alters leukocyte expression of cell surface molecules involved in cellular adhesion and activation. *Clinical Immunology*, 104(2), 183–190. <https://doi.org/10.1006/clim.2002.5254>
- Herdyastuti, N. 2006. Isolasi dan karakterisasi ekstrak kasar enzim bromelin dari batang nanas (*Ananas comosus* L. merr). *Journal of Biological Researches*, 12(1), 75–77. <https://doi.org/10.23869/bphjbr.12.1.200613>
- Ihedioha, J. I., Okafor, C., & Ihedioha, T. E. 2008. The Haematological Profile Of The Sprague-Dawley Outbred Albino Rat In Nsukka, Nigeria. *Animal Research International*, 1(2). <https://doi.org/10.4314/ari.v1i2.40755>
- Ihedioha, J. I., Ugawuja, J. I., Moel-Uneke, O., Udeani, I. J., & Daniel-Igawe, G. 2012. Reference Values for the Haematology Profile of Conventional Grade Outbred Mice (*Mus musculus*) in Nsukka Eastern Nigeria. *Animal Research International*, 9(92), 1601–1612. [www.zoo-unn.org](http://www.zoo-unn.org)
- Kiswari Rukman. 2014. Hematologi & Transfusi. Jakarta : Erlangga.
- Kostadinova, P.I., Mitevska, E., Janeska, B. 2017. Histological Characteristics of Bruises with Different Age. *Open Access Maced J Med Sci*. 2017 Dec 15; 5(7):813-817. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2017.207>
- Kwatra, B., & Labs, I. 2019. a Review on Potential Properties and Therapeutic. 8(11), 488–500. <https://doi.org/10.20959/wjpps201911-14941>
- Manzoor, Z., Nawaz, A., Mukhtar, H., Haq, I., & Nawaz, A. 2016. Bromelain: Methods of Extraction, Purification and Therapeutic Applications Human and Animal Health. *Brazilian Archives of Biology and Technology. Biol. Technol.* v, 59(December), 1–16. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150010>
- Masri, M., & Musa, M. 2014. Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin dari Ekstrak Kasar Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) pada Variasi Suhu dan pH. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 2(2), 119–125. <https://doi.org/10.24252/bio.v2i2.478>
- Maurer, H. R. 2001. Bromelain: Biochemistry, pharmacology and medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(9), 1234–1245. <https://doi.org/10.1007/PL00000936>
- McBrier, N. M., Neuberger, T., Okita, N., Webb, A., & Sharkey, N. 2009. Reliability and validity of a novel muscle contusion device. *Journal of Athletic Training*, 44(3), 275–278.

- Naibaho, O. H., Yamlean, P. V. Y., & Wiyono, W. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*) Pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 2(02), 27–34.
- Nurahmanto D., Mahrifah I.R., Firda R., Imaniah N. dan Rosyidi V.A. 2017. Formulasi Sediaan Gel Dispersi Padat Ibuprofen : Studi *Gelling agent* dan Senyawa Peningkat, *Ilmiah Manuntung*, 3 (1), 96–105.
- 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>
- Rahman, M. M., & Yang, D. K. 2018. Effects of *Ananas comosus* leaf powder on broiler performance, haematology, biochemistry, and gut microbial population. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47. <https://doi.org/10.1590/rbz4720170064>
- Randeberg, L. L., Winnem, A. M., Langlois, N. E., Larsen, E. L. P., Haaverstad, R., Skallerud, B., Haugen, O. A., & Svaasand, L. O. 2007. Skin changes following minor trauma. *Lasers in Surgery and Medicine*, 39(5), 403–413. <https://doi.org/10.1002/lsm.20494>
- Robin, S., Courderot-Masuyer, C., Tauzin, H., Harbon, S., Chavagnac-Bonneville, M., Cadars, B., Jourdan, E., Trompezinski, S., & Humbert, P. 2015. Use of a Model of a Blood-Induced Bruise for the Evaluation of Formulations on Bruising. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 05(01), 7–14. <https://doi.org/10.4236/jcdsa.2015.51002>
- Rowe, R.C, Paul J.S, dan Marian, 2009. Handbook Of Pharmaceutical Science 6th Edition. New York
- Sadikin Mohammad. 2001. *Biokimia Darah*. Jakarta : Widya Medika.
- Sayuti, N. A. 2015. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Gel Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 74–82. <https://doi.org/10.22435/jki.v5i2.4401.74-82>
- Soheilifar, S., Bidgoli, M., Hooshyarfard, A., Shahbazi, A., Vahdatinia, F., & Khoshkooie, F. 2018. Effect of Oral Bromelain on Wound Healing, Pain, and Bleeding at Donor Site Following Free Gingival Grafting: A Clinical Trial. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)*, 15(5), 309–316. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30833977> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC6397736>
- Sudjarwo, S. A. 2005. Anti-inflammatory and analgesic effect of bromelain in mice and rats. *Universa Medicina Oktober-Desember*, 24(4), 155–160.
- Sukmawati. 2014. Pengaruh Variasi Konsentrasi PVA, HPMC, dan Gliserin terhadap Sifat Fisika Masker Wajah Gel Peel-Off Ekstrak Etanol 96% Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L.*). *Jurnal*

- Farmasi Udayana*, Vol. 2(No. 3), 35–42.
- Syafikriatillah, A. R., Darwis, D., Abbas, B., Maheshwari, H., Erwin, Noviana. D. 2016. *Profil Darah Putih Tikus Sprague Dawley Pascaimplantasi Tandur Tulang DFDBX Dan Membran Nata De Coco pada Defek Tulang Kalvaria. Prosiding KIVNAS ke-14, ICE-BSD City. (22-25 September 2016). Tangerang.*
- Takamiya, M., Saigusa, K., Kumagai, R., Nakayashiki, N., & Aoki, Y. 2005. Studies on mRNA expression of tissue-type plasminogen activator in bruises for wound age estimation. *International Journal of Legal Medicine*, 119(1), 16–21. <https://doi.org/10.1007/s00414-004-0453-4>
- Ulviani, F., & Khaerati, K. 2016. Pengaruh Gel Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*). *Galenika Journal of Pharmacy*, 2(10), 103–110.
- Voight. 1995. *Buku Ajar Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: UGM Press.
- Wiyono, A.S., Mustofani, D. 2019. Efektivitas gel ekstrak kasar bromelin kulit nanas (*Ananus comosus* L. merr ) hasil optimasi formula pada tikus yang dibuat luka memar. *As-Syifaa Jurnal Farmasi*, 11(02), 112–123. <https://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/as-syifaa/article/view/>