

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN
(*Physalis angulata*) DAN EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas
comosus*) TERHADAP AKTIVASI PLATELET
BERDASARKAN PARAMETER CD62P DAN CD41**

**EFFECT OF COMBINED EXTRACTS OF CIPLUKAN
(*Physalis angulata*) LEAF AND PINEAPPLE (*Ananas
comosus*) ON PLATELET ACTIVATION BASED ON
CD62P AND CD41 PARAMETERS**

**WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA
N011 19 1006**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN
(*Physalis angulata*) DAN EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas
comosus*) TERHADAP AKTIVASI PLATELET
BERDASARKAN PARAMETER CD62P DAN CD41**

**EFFECT OF COMBINED EXTRACTS OF CIPLUKAN
(*Physalis angulata*) LEAF AND PINEAPPLE (*Ananas
comosus*) ON PLATELET ACTIVATION BASED ON
CD62P AND CD41 PARAMETERS**

**WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA
N011 19 1006**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP AKTIVASI PLATELET BERDASARKAN PARAMETER CD62P DAN CD41

EFFECT OF COMBINED EXTRACTS OF CIPLUKAN (*Physalis angulata*) LEAF AND PINEAPPLE (*Ananas comosus*) ON PLATELET ACTIVATION BASED ON CD62P AND CD41 PARAMETERS

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

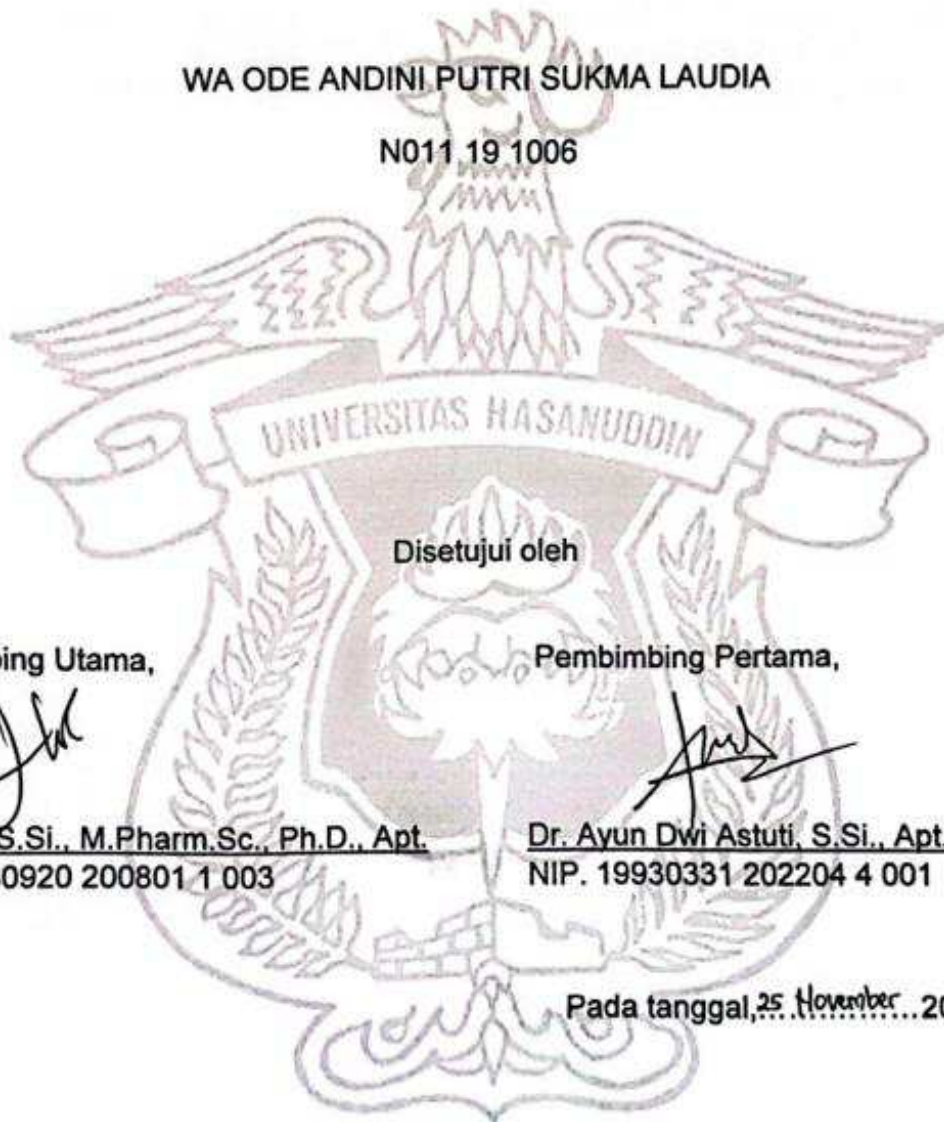
**WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA
N011 19 1006**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP AKTIVASI PLATELET BERDASARKAN PARAMETER CD62P DAN CD41

WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA


N011 19 1006




Disetujui oleh

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,


Habibe, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP.19830920 200801 1 003


Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001

Pada tanggal, 25 November...2023

SKRIPSI

PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*Physalis angulata*) DAN EKSTRAK BUAH NANAS (*Ananas comosus*) TERHADAP AKTIVASI PLATELET BERDASARKAN PARAMETER CD62P DAN CD41

EFFECT OF COMBINED EXTRACTS CIPLUKAN (*Physalis angulata*) LEAF AND PINEAPPLE (*Ananas comosus*) ON PLATELET ACTIVATION BASED ON CD62P AND CD41 PARAMETERS

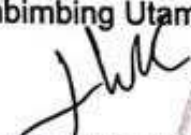
Disusun dan diajukan oleh :

**WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA
N011 19 1006**

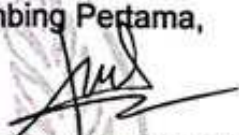
telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 16 November 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat


Menyetujui,

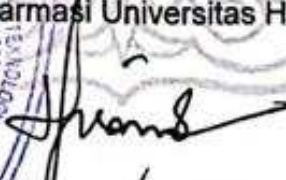
Pembimbing Utama,


Habibie, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP.19830920 200801 1 003

Pembimbing Pertama,


Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt.
NIP. 19930331 202204 4 001


Ketua Program Studi S1 Farmasi,
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin


Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.
NIP. 19860116 201012 2 009

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Wa Ode Andini Putri Sukma Laudia
Nim : N011 19 1006
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya dengan judul "Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata*) dan Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Aktivasi Platelet Berdasarkan Parameter CD62P dan CD41" adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain. Bahwa skripsi yang saya tulis benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 2A November 2023

Yang menyatakan,



Wa Ode Andini Putri Sukma Laudia

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah subhanahu wa ta'ala atas berkat dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata*) dan Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus*) Terhadap Aktivasi Platelet Berdasarkan Parameter CD62P dan CD41” dengan baik.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari terdapat berbagai hambatan dan rintangan, namun berkat bantuan dari berbagai pihak meliputi doa, dukungan moril, materil, serta semangat yang selalu diberikan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dengan ketulusan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

1. Bapak Habibie, S.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Dr. Ayun Dwi Astuti, S.Si., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah ikhlas dan sabar meluangkan waktu dan tenaga, serta memberikan ilmu dan arahan dalam penelitian dan membimbing penulis dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Usmar, S.Si., M.Si., Apt. dan Ibu Yayu Mulsiani Evary, S.Si., M.Pharm.Sci., Apt. selaku tim penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran yang membangun dalam penyusunan skripsi ini.

3. Bapak Muh. Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh menjalani studi.
4. Dekan dan para Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas ilmu, motivasi, bantuan, dan segala fasilitas yang diberikan kepada penulis selama menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.
5. Bapak Prof. Muhaimin Rifa'i, S.Si., Ph.D.Med.Sc selaku dosen Immunologi, Departemen Biologi, Universitas Brawijaya dan Ibu Dr. Noviana Dwi Lestari, S.Si., M.Si. atas segala ilmu dan arahan selama penulis melakukan penelitian di Laboratorium Fisiologi, Struktur dan Pengembangan Hewan.
6. Teman-teman semasa SMP, SMA hingga bangku kuliah yakni Wa Ode Zohra Azzura Nasiru, Ega Fadila, Seli Lisnayati dan Izzatin Rumaisha Zahra yang telah menjadi pendengar, pemotivasi dan penyemangat selama selama proses penelitian serta dalam penyusunan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan, sehati, sejiwaku, yakni Mutiara Fatimah Ar-Rozan, Kania Meliani Kaharuddin, Julianti Citra Rahayu, Fitriani, Destia Risnovianti dan Aulia Karimah yang selalu memberikan dukungan dan semangat, serta menjadi tempat meluangkan keluh-kesah, suka maupun duka selama proses perkuliahan dan dalam penyusunan skripsi ini.

8. Teman-teman yang turut membantu penulis dalam melakukan penelitian di Universitas Brawijaya yakni Sofia Nur Cahyani, Tammara Fira Hamda Zulpa, Rif'atul Hawani, Nabila Shafa Yumna Salsabila dan Nur Aydiatining Purnama.

Ucapan terima kasih tak hentinya penulis sampaikan kepada Ayahanda yang luar biasa, Bapak La Ode Nasaruddin, S.Si., Apt. dan Ibunda yang tangguh, Ibu Susy Laksmi Wardhani, S.KH untuk semua doa, dukungan, energi positif, dan hangatnya kasih sayang yang diberikan kepada penulis. Kepada kakanda hebat, Dimas Kurnia Eko Putro yang selalu menjadi pendukung pertama penulis dalam segala hal.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun tanggapan dari berbagai pihak sehingga dapat menjadikan skripsi ini ke arah yang lebih baik.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat dipergunakan dengan sebaik-baiknya dalam pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, _____2023

Wa Ode Andini Putri Sukma Laudia

ABSTRAK

WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA. *Pengaruh Kombinasi Ekstrak Daun Ciplukan (*Physalis angulata*) dan Ekstrak Buah Nanas (*Ananas Comosus*) Terhadap Aktivasi Platelet Berdasarkan Parameter CD62P dan CD41 (dibimbing oleh Habibie dan Ayun Dwi Astuti).*

Platelet merupakan faktor yang terlibat langsung dalam patologi penyakit jantung koroner. Ketika terjadi kerusakan endotel, platelet akan merespon menuju dengan lokasi cedera dan memicu terjadinya aktivasi platelet. Ketika aktivasi platelet berlebihan maka dapat mengakibatkan penyumbatan pembuluh darah. Aktivasi platelet ditandai dengan adanya peningkatan penanda aktivasi platelet yakni CD41⁺CD62P⁺. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap parameter aktivasi platelet yang diinduksi oleh κ -karagenan. Hewan uji yang digunakan yakni mencit sebanyak 21 ekor yang dibagi menjadi 7 kelompok yaitu kontrol sehat (pakan standar), kontrol negatif (κ -karagenan), ekstrak ciplukan 65 mg/kgBB, ekstrak buah nanas 65 mg/kgBB, dan kombinasi ekstrak ciplukan dan nanas (1:1, 1:3 dan 3:1) yang diberikan selama 25 hari dan diinduksi dengan κ -karagenan pada hari ke-22 secara intraperitoneal. Dilakukan isolasi platelet yang dilanjutkan dengan pengukuran jumlah sel platelet yang *double positive* CD41 dan CD62P menggunakan *flow cytometer*. Hasil yang diperoleh menunjukkan pemberian kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) dapat menghambat terjadinya aktivasi platelet berdasarkan jumlah relatif CD41⁺CD62P⁺ dan perbandingan kombinasi ekstrak yang paling bagus adalah kombinasi 1:3.

Kata kunci : *Physalis angulata*, *Ananas comosus*, karagenan (*kappa*), trombosis, CD41, CD62P.

ABSTRACT

WA ODE ANDINI PUTRI SUKMA LAUDIA. Effect of Combined Extracts of Ciplukan (*Physalis angulata*) Leaf and Pineapple (*Ananas comosus*) on Platelet Activation Based on CD62P and CD41 Parameters (Supervised by Habibie and Ayun Dwi Astuti).

Platelets are directly involved in the pathology of coronary heart disease. When endothelial damage occurs, platelets move to the injury site and activate platelets. Excessive platelet activation can lead to blood vessel blockage. The increase in platelet activation markers such as CD41+ and CD62P+ indicates platelet activation. This study aimed to determine the effect of a combination of ciplukan (*Physalis angulata*) leaf and pineapple (*Ananas comosus*) extracts on platelet activation parameters induced by κ -carrageenan. Twenty-one mice were used in the study and divided into seven groups: healthy control (standard diet), negative control (κ -carrageenan), ciplukan leaf extract 65 mg/kg body weight, pineapple extract 65 mg/kg body weight, a combination of ciplukan leaf and pineapple extracts (1:1, 1:3, and 3:1) for 25 days, and induced intraperitoneally on day 22 with κ -carrageenan. Platelets were isolated, and a flow cytometer was used to count the CD41 and CD62P double-positive platelet cells. The results indicate that combined extracts of ciplukan leaf (*Physalis angulata*) and pineapple (*Ananas comosus*) can inhibit platelet activation based on the relative number of CD41+CD62P+ cells and the best combination ratio of extracts is the combination of 1:3.

Keyword : *Physalis angulata*, *Ananas comosus*, carrageenan (κ), thrombosis, CD41, CD62P.

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Ciplukan (<i>Physalis angulata</i>)	4
II.1.1 Taksonomi Tumbuhan	4
II.1.2 Deskripsi Tumbuhan	4
II.1.3 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan	5
II.2 Nanas (<i>Ananas comosus</i>)	6
II.2.1 Taksonomi Tumbuhan	6
II.2.2 Deskripsi Tumbuhan	6
II.2.3 Kandungan dan Manfaat Tumbuhan	7

II.3 Karagenan	8
II.4 Platelet	8
II.4.1 Definisi Platelet	8
II.4.2 Mekanisme aktivasi platelet	10
II.4.3 Biomarker Aktivasi Platelet	11
II.5 <i>Flow cytometer</i>	13
II.5.1 Definisi	13
II.5.2 Prinsip Instrumen	13
II.5.3 Analisis Data <i>Flow cytometer</i>	14
II.5.3.1 <i>Gating</i>	14
II.5.3.2 Tampilan Data	16
BAB III METODE PENELITIAN	18
III.1 Alat dan Bahan	18
III.2 Cara Kerja	18
III.2.1 Penyiapan Sampel	18
III.2.2 Pembuatan Sediaan Uji	19
III.2.2.1 Pembuatan Larutan NaCMC 0,5%	19
III.2.2.2 Pembuatan Suspensi K-karagenan	19
III.2.2.3 Pembuatan Suspensi Kombinasi Bahan Uji	20
III.2.3 Uji <i>In vivo</i>	20
III.2.3.1 Penyiapan Hewan Uji	20
III.2.3.2 Perlakuan Pada Hewan Uji	21
III.2.4 Isolasi Platelet	22

III.2.5	Prosedur Analisis dengan <i>Flow cytometer</i>	23
III.2.6	Pembahasan dan Analisis Data	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		25
IV.1	Hasil Ekstraksi <i>Physalis angulata</i> dan <i>Ananas comosus</i>	25
IV.2	Hasil Induksi Trombosis Ekor dengan K-karagenan	26
IV.3	<i>Gating</i> dan Analisis Hasil <i>Flow cytometer</i>	28
IV.4	Pengaruh Induksi Karagenan Terhadap Jumlah Sel CD41 ⁺ CD62P ⁺	30
IV.5	Pengaruh Kombinasi Ekstrak Terhadap Jumlah Sel CD41 ⁺ CD62P ⁺	32
BAB V PENUTUP		36
V.1	Kesimpulan	36
V.2	Saran	36
DAFTAR PUSTAKA		37
LAMPIRAN		42

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan pembuatan kombinasi ekstrak	20
2. Rancangan pembagian kelompok perlakuan	22
3. Hasil rendemen ekstrak <i>Physalis angulata</i> dan <i>Ananas comosus</i>	25
4. Hasil <i>gating</i> pengukuran <i>flow cytometer</i>	32
5. Persentase sel teraktivasi dan tidak teraktivasi	32
6. Nilai <i>gate</i> hasil <i>flow cytometer</i> semua mencit pada kelompok perlakuan	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Physalis angulata</i>	4
2. Gambar skematik platelet	9
3. Reseptor dan ligan utama yang terlibat dalam adhesi, aktivasi, dan agregasi platelet	10
4. Antigen permukaan platelet	12
5. Cara kerja <i>flow cytometer</i>	14
6. Dot plot FSC dan SSC <i>flow cytometer</i>	15
7. Visualisasi histogram dan dot plot <i>flow cytometer</i>	16
8. Hasil induksi karagenan setelah 48 jam pada ujung ekor mencit	27
9. <i>Gating flow cytometer</i> dan dot plot <i>flow cytometer</i>	29
10. Dot plot <i>flow cytometer</i> karagenan	31
11. Penyiapan hewan uji	54
12. Aklimatisasi hewan uji	54
13. Proses penimbangan bahan	54
14. Pembuatan larutan NaCMC 0,5%	54
15. Suspensi kombinasi ekstrak	54
16. Pemberian kombinasi ekstrak secara oral hewan uji	54
17. Induksi karagenan secara intraperitoneal	55
18. Pengukuran panjang trombosis pada ekor	55
19. Pembedahan hewan uji	55

20. Pengambilan darah melalui tusukan jantung	55
21. Penyiapan alat dan bahan isolasi platelet	55
22. Proses isolasi platelet	55
23. Proses penambahan pewarna antibodi CD41 dan CD62P	56
24. Persiapan analisis dengan <i>flow cytometer</i>	56
25. Analisis CD41+C62P ⁺ menggunakan <i>flow cytometer</i>	56
26. Alat <i>flow cytometer</i>	56
27. <i>Gating flow cytometer</i>	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Ekstraksi <i>Physalis angulata</i> dan <i>Ananas comosus</i>	42
2. Pembuatan suspensi NaCMC 0,5%	43
3. Pembuatan suspensi k-karagenan	43
4. Skema kerja umum	44
5. Isolasi Platelet	45
6. Pengukuran CD41 dan CD62P	46
7. Tabel nilai <i>gate</i> seluruh hasil <i>flow cytometer</i> semua mencit pada kelompok perlakuan	47
8. Perhitungan	48
9. Data hasil analisis statistika	52
10. Dokumentasi penelitian	54
11. Surat Persetujuan Kode Etik	57

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit jantung merupakan penyebab utama kematian yang terjadi di seluruh dunia. Pada tahun 2016, *World Health Organization* (WHO) menyatakan bahwa 73% kematian di Indonesia disebabkan oleh penyakit tidak menular dan sebesar 35% disebabkan oleh penyakit jantung (WHO, 2018). Penyakit jantung yang menyebabkan kematian terbanyak adalah penyakit jantung koroner (Sianturi & Kurniawaty, 2019). Penyakit jantung koroner terjadi dikarenakan adanya penyumbatan pembuluh darah yang terbentuk dari platelet yang saling berikatan (Elfi *et al.*, 2021; Wahab *et al.*, 2021).

Platelet merupakan faktor yang terlibat langsung dalam patologi penyakit jantung koroner. Platelet akan merespons kerusakan endotel lalu dengan cepat mengubah bentuknya dan menuju ke lokasi cedera. Hal inilah yang memicu terjadinya aktivasi dan agregasi platelet lebih lanjut. Aktivasi platelet memiliki peran dalam membantu mengendalikan dan membatasi kehilangan darah. Namun, aktivasi berlebihan dapat mengakibatkan penyumbatan pada pembuluh darah (Yan *et al.*, 2015; Kannan *et al.*, 2019). Terjadinya aktivasi platelet ditandai dengan meningkatnya ekspresi penanda platelet. Penanda aktivasi platelet yang

umum yaitu CD62P (*p-selectin*) dan CD41 yang ditemukan meningkat pada berbagai penyakit (Kannan *et al.*, 2019).

Salah satu pengobatan yang digunakan dalam terapi penyakit jantung koroner adalah dengan menggunakan obat antiplatelet seperti aspirin, clopidogrel, vorapaxar dan aggrastat. Namun, obat ini kemungkinan dapat mengalami resistensi terhadap aktivitas platelet dan menyebabkan aterotrombotik serta adanya risiko pendarahan. Selain itu, efek samping lainnya adalah ruam kulit, gatal dan sakit perut. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian obat antiplatelet alternatif salah satunya berasal dari bahan alam yang lebih efektif (Hsu *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2022; Moscou & Snipe, 2018).

Menurut penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, dua tumbuhan yang dapat menghambat aktivasi platelet dan agregasi platelet yaitu tumbuhan ciplukan dan buah nanas (Hsu *et al.*, 2014; Lim, 2012). Tumbuhan ciplukan (*Physalis angulata*) kaya akan senyawa sekunder dan *physalin B* yang dapat menghambat aktivasi platelet dan agregasi platelet (Hsu *et al.*, 2014). Pada buah nanas (*Ananas comosus*) terdapat suatu enzim protease utama atau enzim proteolitik yaitu bromelain. Bromelain memiliki peran dalam mengurangi kemampuan darah untuk menggumpal dan mengurangi faktor risiko untuk serangan jantung berulang (Lim, 2012). Namun, penelitian yang mengkombinasikan daun ciplukan dan buah nanas terhadap aktivasi platelet belum dilakukan sebelumnya. Oleh

karena itu, kedua tumbuhan tersebut dikombinasi untuk meningkatkan khasiatnya dalam pengobatan alternatif sebagai antiplatelet.

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kombinasi dari ekstrak daun ciplukan dan ekstrak buah nanas terhadap aktivasi platelet yang diukur berdasarkan parameter CD62P dan CD41.

I.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana pengaruh dari kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) pada aktivasi platelet berdasarkan parameter CD62P dan CD41?
2. Berapa perbandingan konsentrasi kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) yang dapat menghambat aktivasi platelet berdasarkan parameter CD62P dan C641?

I.3 Tujuan penulisan

1. Mengetahui pengaruh dari kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) pada aktivasi platelet berdasarkan parameter CD62P dan CD41.
2. Mengetahui berapa perbandingan konsentrasi dari kombinasi ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata*) dan ekstrak buah nanas (*Ananas comosus*) yang dapat menghambat aktivasi platelet berdasarkan parameter CD62P dan CD41.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Ciplukan (*Physalis angulata*)

II.1.1 Taksonomi tumbuhan

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Subdivision	: Angiospermae
Class	: Dicotyledonae
Order	: Solanales
Family	: Solanaceae
Genus	: <i>Physalis</i>
Species	: <i>Physalis angulata</i> L (Sutrisna, 2016).

II.1.2 Deskripsi tumbuhan



Gambar 1. *Physalis angulata* (Ramakrishna et al, 2022)

Physalis angulata adalah tanaman obat dari keluarga Solanaceae yang tersebar luas terutama di Afrika, Amerika, dan Asia. Di Indonesia, tanaman ini dikenal dengan nama “ciplukan” atau “ceplukan”. Secara tradisional tanaman ciplukan dapat digunakan untuk mengobati sakit tenggorokan, sakit perut, sebagai analgesik dan antirematik, Senyawa kimia yang terdapat di dalam ciplukan yang berpotensi sebagai aktivitas

antiinflamasi dan antinoseptif yaitu physalin B, D, F dan G (Kusumaningtyas *et al.*, 2015 ; Rajendra *et al.*, 2021). *Physalis angulata* atau ciplukan merupakan tanaman semak yang memiliki tinggi sekitar 30-100 cm dengan batang tegak, lunak dan berwarna hijau. Daun ciplukan berbentuk elips dengan ujung yang runcing serta panjang 5-15 cm dan lebar 2-10 cm. Bunga ciplukan berwarna keunguan sementara buah ciplukan terdapat dalam kelopak dan berwarna hijau kekuningan (Sutrisna, 2016).

II.1.3 Kandungan dan manfaat tumbuhan

Physalis angulata mengandung banyak metabolit primer dan sekunder seperti karbohidrat, mineral, vitamin, lipid, dan fitosterol. Pada bagian daun ciplukan mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Angela *et al.*, 2023). Seluruh bagian tumbuhan mengandung berbagai lakton steroid yang termasuk dalam physalin, dan withanolide seperti physalin A-I, physagulin A-G, withangulatin A, dan withanolide T. serta mengandung glikosida flavonoid seperti quercetin, dan kaempferol (Ramakrishna *et al.*, 2022 ; Tuan *et al.*, 2021). Beberapa senyawa aktif di dalam ekstrak *Physalis angulata* dengan menggunakan pelarut air mengandung senyawa Physalin B, Physalin D, Physalin G, Physalin A, Physalin F, Physalin E dan Physalin H (Da Silva *et al.*, 2015).

Physalis angulata digunakan dalam banyak aktivitas terapi seperti anti alergi, anti asmaatik, anti leishmanial, anti malaria dan immunomodulator.

Selain itu telah digunakan masyarakat untuk mengobati penyakit diabetes, radang dan saluran pernapasan (Ramakrishna *et al.*, 2022 ; Musa *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hsu *et al.* (2014), bahwa physalin B, dapat menghambat aktivasi dan agregasi platelet tanpa melemahkan faktor koagulasi. Kedua aktivitas ini menjadikan physalin B sebagai obat potensial dalam mencegah aterosklerosis dan terapi kardiovaskular.

II.2 Nanas (*Ananas comosus*)

II.2.1 Taksonomi tumbuhan

Kingdom	: Plantae
Division	: Spermatophyta
Class	: Angiospermae
Order	: Farinosae
Family	: Bromeliaceae
Genus	: Ananas
Species	: <i>Ananas comosus</i> (Riswanda <i>et al.</i> , 2023)

II.2.2 Deskripsi tumbuhan

Ananas comosus merupakan tumbuhan herbal yang tergolong dalam famili Bromeliaceae dan dapat hidup dalam berbagai musim. Tumbuhan ini memiliki fase pertumbuhan yang sangat lambat di awal namun setelah beberapa lama menjadi lebih cepat, rata-rata pertumbuhannya mencapai 1-2 meter. Memiliki daun yang tumbuh dan bagian batang menyerupai susunan bentuk spiral dengan lebar daun 6 cm dan panjang 90 cm.

Bentuk ujung daun memanjang dan runcing serta memiliki warna hijau pada permukaan daun sedangkan bagian bawah daun berwarna keabuan. Batang nanas cukup pendek dengan bentuk gada dengan panjang antara 20-30 cm, memiliki bentuk akar yang lebih pipih dan melingkar membelit batang. Selain itu buah nanas dapat dipanen sekitar 5-6 bulan setelah berbunga dan pada bagian atasnya terdapat mahkota yang dapat digunakan untuk memperbanyak jumlah tanaman (Riswanda *et al.*, 2023).

II.2.3 Kandungan dan manfaat tumbuhan

Ananas comosus memiliki beberapa kandungan kimia seperti flavonoid, asam kumarat, asam elagik, asam ferulat, asam klorogenat, dan mikronutrien serta serat makanan (Arampath & Dekker, 2020 ; Rosas *et al.*, 2018). Selain itu beberapa fitokimia secara farmakologis di dalam tumbuhan ini yaitu ananasate, beta-sitosterol, naringenin, vitamin A, B, dan C, serta mengandung bromelain. Pemanfaatan dari tumbuhan nanas antara lain sebagai anti diare, kardio protektif, anti diabetes, anti oksidatif, serta memiliki efek rekonstruktif pada metabolisme hati (Saxena & Panjwani, 2014).

Bromelain merupakan enzim protease utama yang ditemukan di dalam *Ananas comosus*. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa bromelain memiliki manfaat farmakologis diantaranya aktivitas proteolitik, aktivitas anti kanker, penghambatan agregasi platelet, aktivitas fibrinolitik, anti inflamasi (Lim, 2012).

II.3 Karagenan

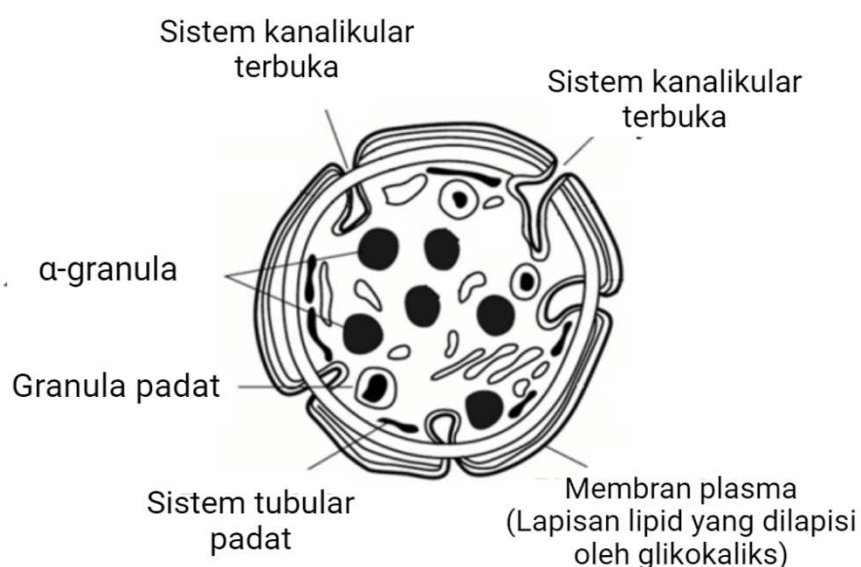
Karagenan merupakan polimer polisakarida yang diekstraksi dari salah satu famili rumput laut merah. Fungsi karagenan dalam farmasi dan industri makanan yaitu sebagai agen pengental dan pembentuk gel. Tiga jenis karagenan industri utama antara lain κ (*kappa*), ι (*iota*) dan λ (*lambda*). K-karagenan adalah trombogen yang paling kuat diantara lainnya yang dapat digunakan untuk menginduksi radang jaringan dan trombosis ekor pada hewan pengerat. Ketika κ -karagenan disuntik secara intraplantar, hal itu menginduksi trombosis ekor dengan mengamati daerah berwarna anggur di ekor setelah 6 jam (Arslan *et al.*, 2011). Hewan pengerat yang disuntikan κ -karagenan secara intraperitoneal terlihat mengalami trombosis setelah 4 jam dan meningkat seiring dengan waktu. Namun, beberapa penelitian menunjukkan trombosis terjadi setelah 24 jam atau dua hari karena trombosis stabil pada 24 jam. Oleh karena itu, 24 jam dijadikan sebagai titik waktu untuk keberhasilan pembuatan model trombosis pada hewan coba berhasil dibuat (Ma *et al.*, 2015 ; Chen *et al.*, 2022).

II.4 Platelet

II.4.1 Definisi platelet

Platelet merupakan sel berinti memiliki ukuran kecil sekitar 2-4 μm dan berumur pendek yaitu 8-10 hari. Sebagian besar platelet beredar dalam aliran darah secara terpisah dalam keadaan diam, bentuk diskoid dan tanpa berinteraksi dengan dinding pembuluh darah tetapi terus menerus

memantau lingkungan sekitar di dalam pembuluh darah melalui berbagai reseptor dan adhesi molekul dan pada akhirnya dibersihkan dari darah. Karena hal ini, platelet diproduksi secara terus menerus untuk mempertahankan jumlah normalnya yaitu $150-1400 \times 10^9/L$ pada orang dewasa yang sehat (Scridon, 2022).

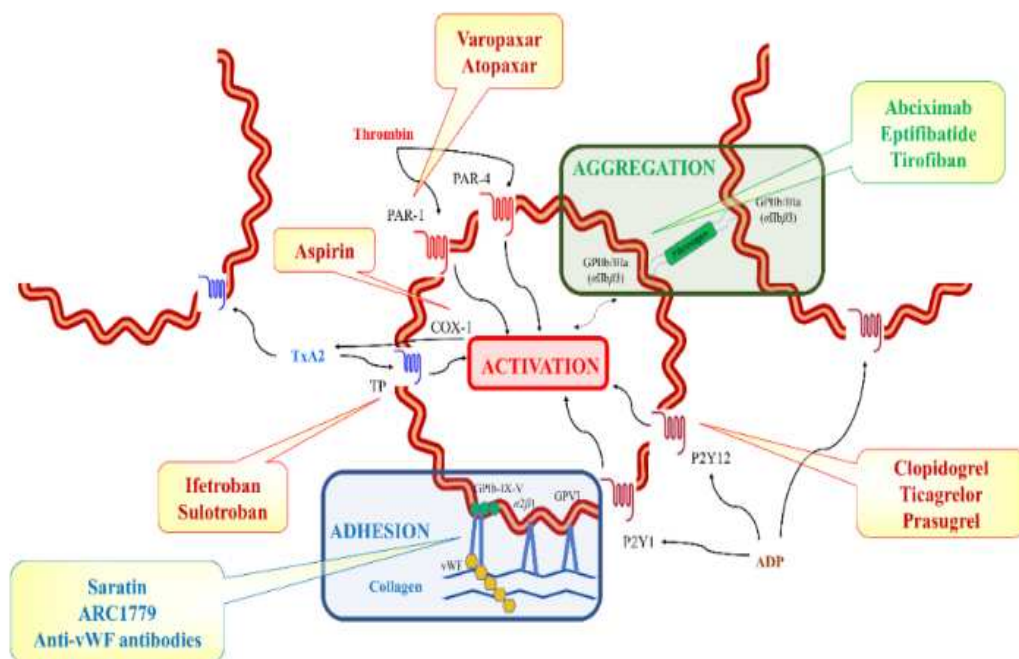


Gambar 2. Gambar skematik platelet (Scridon, 2022).

Platelet α-granul mengekspresikan reseptor yang memfasilitasi adhesi dengan sel pembuluh darah lainya dan melepaskan berbagai macam mediator yang berpartisipasi dalam mengatur fungsi seperti kemotaksis, migrasi sel, proliferasi dan diferensiasi, inflamasi dan masih banyak lagi. Setelah dilepaskan molekul ini bertindak untuk memulihkan integritas dinding pembuluh darah yang terluka untuk angiogenesis dan untuk pertumbuhan pembuluh darah baru di area jaringan yang terluka (Scridon, 2022).

II.4.2 Mekanisme aktivasi platelet

Platelet merupakan faktor yang terlibat langsung dalam beberapa kondisi patologis salah satunya penyakit jantung koroner. Ketika terjadi kerusakan endotel maka platelet dengan cepat mengubah bentuknya menuju ke lokasi cedera. Hal inilah yang memicu terjadinya aktivasi dan agregasi platelet lebih lanjut. Aktivasi platelet memiliki peran dalam membantu mengendalikan dan membatasi kehilangan darah. Namun, aktivasi berlebihan dapat mengakibatkan penyumbatan pada pembuluh darah (Yan *et al.*, 2015; Kannan *et al.*, 2019). Akumulasi platelet serta aktivasinya memainkan peran kunci dalam proses pembentukan trombus pada pembuluh darah (Chen *et al.*, 2022).



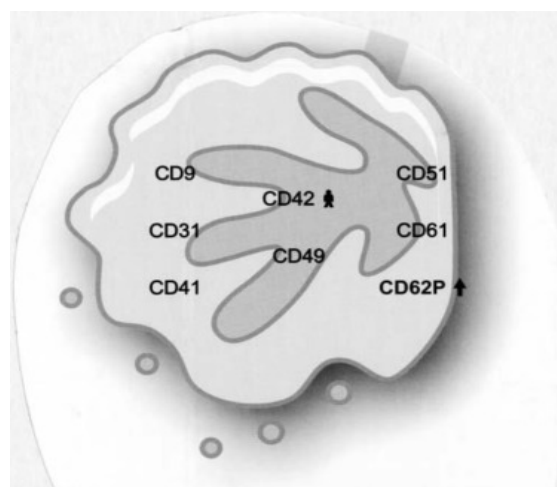
Gambar 3. Reseptor dan ligan utama yang terlibat dalam adhesi, aktivasi, dan agregasi platelet. Kotak-kotak menunjukkan beberapa contoh terapi antiplatelet yang sudah ada atau yang sedang berkembang. ADP-adenosin difosfat; COX-1-siklooksigenase-1; GP-glikoprotein; Reseptor yang diaktifkan oleh PAR-protease; Reseptor tromboksan TP; TxA2-tromboksan A2; faktor vWF-von Willebrand. (Scridon, 2022).

Proses aktivasi platelet melibatkan berbagai langkah termasuk adhesi, agregasi dan sekresi molekul perantara. Adhesi platelet yang bersirkulasi ke sub-endotel pembuluh darah difasilitasi oleh Faktor *Von Willebrand* (VWF), yang merupakan kunci untuk memulai pengendapan trombosit dan pembentukan trombus. Glikoprotein membran, GPIb α , konstituen kompleks GPIb-IX-V berikatan dengan VWF dan memediasi proses adhesi trombosit. GPIb platelet terdiri dari dua subunit, α dan β , di mana subunit α menunjukkan tempat pengikatan untuk VWF yang memfasilitasi proses awal adhesi trombosit pada sub endotel yang terluka. Mekanisme terjadinya platelet yang teraktivasi sampai agregasi platelet adalah dengan melepaskan kandungan granular adenosine difosfat (ADP) yang berikatan dengan reseptor P2Y1 dan P2Y12, kemudian mensintesis tromboksan yang berikatan dengan reseptor yang diaktifkan oleh protease (PAR). Setelah itu menghasilkan tromboksan A2 (TXA2) yang pada akhirnya, melalui reseptor berpasangan G protein (GPCR), mengaktifkan reseptor integrin GPIIb/IIIa (α IIb β 3). Akhirnya, reseptor integrin yang teraktivasi berikatan dengan fibrinogen yang menghasilkan agregasi platelet (Kannan *et al.*, 2019).

II.4.3 Biomarker aktivasi platelet

Indikator dari aktivasi platelet ditandai dengan adanya peningkatan ekspresi molekul penanda platelet teraktivasi pada permukaan platelet. Penan aktivasi platelet yang umum seperti P-selectin atau CD62P dan bentuk teraktivasi dari α IIb β 3 atau CD41 (Kannan *et al.*, 2019). CD

(*Cluster of differentiation*) merupakan penanda antigen pada permukaan sel. Dengan menggunakan kombinasi mAbs yang berbeda dimungkinkan untuk memetakan imunofenotipe permukaan sel dari sub-populasi sel (Cruse, 2004). CD41 (rantai $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$) digunakan sebagai pengenalan platelet, karena hanya diekspresikan pada platelet dan tidak ada sel darah yang bersirkulasi lainnya. Keberadaan CD41⁺ yang merupakan penanda sel platelet untuk menunjukkan agregasi platelet pada permukaan sel sedangkan CD62P⁺ merupakan marker aktivasi platelet yang biasanya disimpan dalam granul platelet dan badan Weibel-Palade sel endotel (Iwaszko-Simonik *et al.*, 2015 ; Hegazy *et al.*, 2021). Dalam kondisi normal, CD62P⁻ tidak diekspresikan di permukaan sel platelet namun pada saat aktivasi platelet, granul platelet dilepaskan dan CD62P⁺ diekspresikan pada permukaan sel dan akan mengalami peningkatan, hal inilah yang memainkan peran penting dalam inisiasi, pembentukan dan perluasan trombus (Shen *et al.*, 2020).



Gambar 4. Antigen permukaan platelet, terdapat CD41 dan CD62P

Ekspresi berbagai penanda pada permukaan platelet, setelah teraktivasi, isi granul disekresikan dengan fusi bersamaan dari membran granul ke membran plasma. Salah satu protein granul itu adalah P-Selectin (CD62P) yang diekspresikan pada permukaan platelet yang teraktivasi. Mendeteksi GPIIb-IIIa atau P-Selectin yang diaktivasi dengan metode *flow cytometry* merupakan ukuran yang sangat penting dari aktivasi trombosit dalam kondisi klinis (Page C, 1995).

II.5 Flow Cytometer

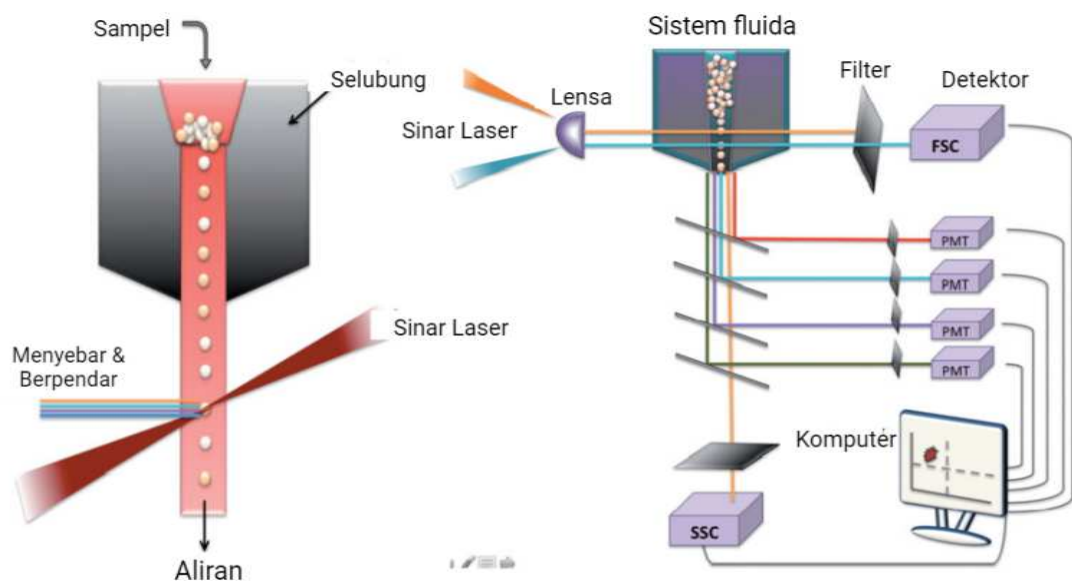
II.5.1 Definisi

Flow cytometer merupakan suatu alat yang digunakan untuk analisis sel yang memungkinkan penentuan karakterisasi morfologi seperti ukuran sel, granulasi, ekspresi target molekuler, kandungan DNA atau RNA, penghitungan sel, dan penentuan viabilitas, dan lain-lain (Bajgelman, 2019). Instrumen ini bersifat multi parameter yang dapat merekam beberapa pengukuran pada setiap sel sehingga memungkinkan mengidentifikasi sub populasi homogen dalam populasi yang heterogen sehingga *flow cytometer* lebih disukai daripada instrumen lainnya seperti spektrofluorometer yang pengukurannya didasarkan pada analisis seluruh populasi (Marcey, 2007).

II.5.2 Prinsip instrumen

Prinsip yang mendasari *flow cytometer* terkait dengan hamburan cahaya dan emisi fluoresensi, yang terjadi sebagai cahaya dari sumber eksitasi (biasanya sinar laser) yang mengenai partikel yang bergerak

(Adan *et al*, 2017). Fotodetektor menangkap sinyal yang memungkinkan untuk mengevaluasi ukuran sel, granularitas, dan ekspresi target molekuler. Sinyal-sinyal dari sel individual ini diproses dan dianalisis secara grafis, seperti histogram atau dot plot, untuk mengidentifikasi dan mengukur populasi sel, atau bahkan untuk menilai ekspresi gen target. Protein ekstraseluler juga dapat dikomplekskan dengan partikel yang sesuai dan dilabeli dengan probe fluoresen atau antibodi, sehingga memungkinkan kuantifikasinya (Bajgelman, 2019).



Gambar. 5. Cara kerja *flow cytometer* (Bajgelman, 2019).

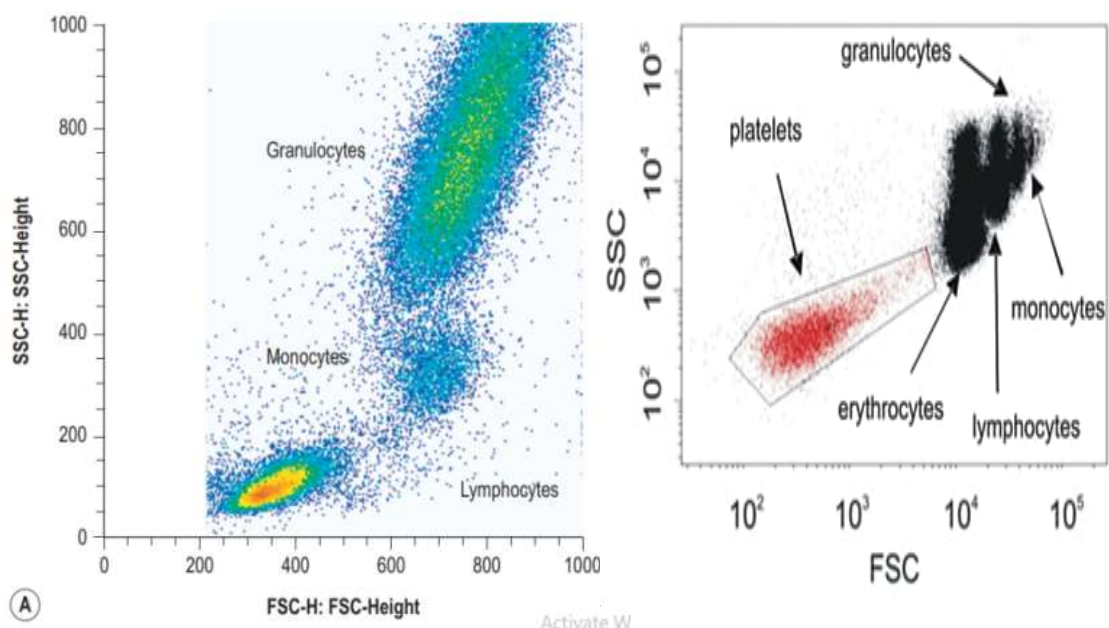
II.5.3 Analisis data *flow cytometer*

II.5.3.1 *Gating*

Pendekatan penilaian dari jenis sel spesifik tertentu dalam campuran memerlukan identifikasi awal. Secara praktis imunofenotipe yang berfokus pada sel tertentu memerlukan minimalis sel spesifik tersebut dan sel non

spesifik dalam hal ini dilakukan dengan *gating* sel. Beberapa penulis merujuk *gating* ini pada wilayah analisis yang secara virtual sel akan dipisahkan satu sama lain untuk mengidentifikasi atau menilai tingkat ekspresi penanda spesifik pada subset dalam sel (Staats *et al.*, 2019 ; Rich *et al.*, 2012).

Tanpa *gating*, data dapat dipengaruhi secara negatif oleh ekspresi bersama antigen permukaan pada garis keturunan sel lain. *Gating* awal untuk fokus pada populasi sel tertentu biasanya melibatkan penggunaan dua parameter non-fluoresen, sebaran ke depan (FSC) dan sebaran samping (SSC). FSC (*forward scatter*) merupakan refleksi dari luar penampang sel yang berhubungan langsung dengan ukuran sel, sedangkan SSC (*side scatter*) merupakan indikasi dari granularitas sel (Rich *et al.*, 2012).

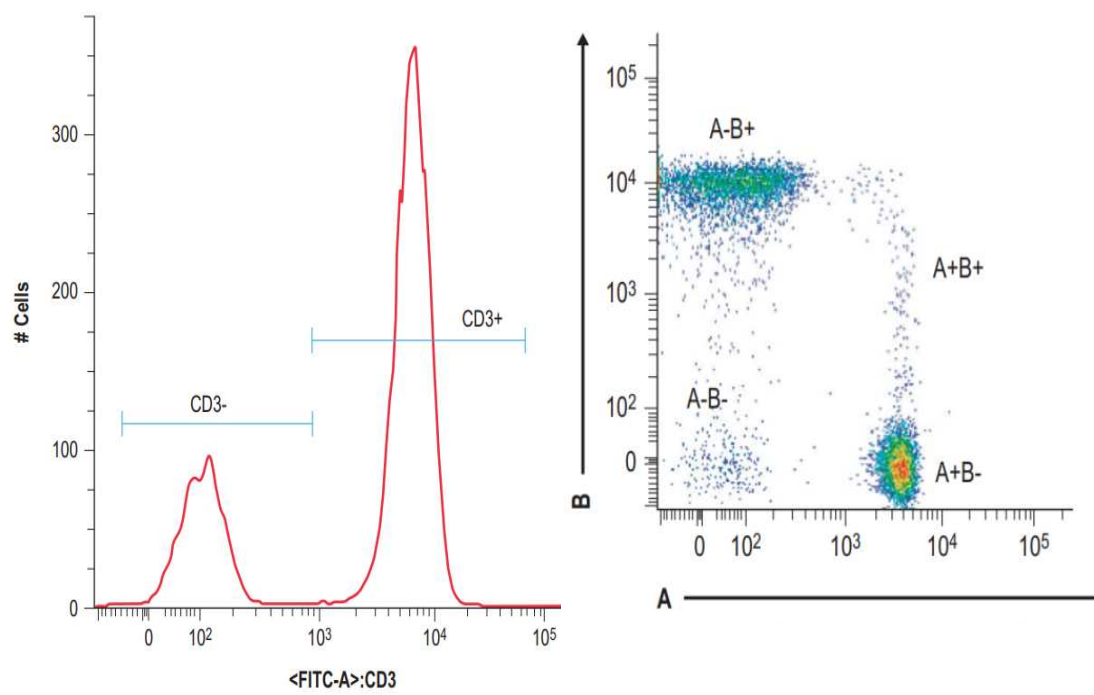


Gambar 6. Dot plot FSC dan SSC (Rich *et al.*, 2012)

Kombinasi dari kedua parameter ini memberikan perbedaan bagian pada darah utuh yang membedakan antara limfosit, monosit, dan granulosit yang normal (Gambar 6) (Rich *et al.*, 2012).

II.5.3.2 Tampilan data

Data multiparameter dari metode *flow cytometry* dapat dievaluasi menggunakan histogram parameter tunggal. Namun akan lebih informatif jika menyajikan dua parameter secara bersamaan dengan menggunakan tampilan korelasi atau dot plot (Gambar 7) (Rich *et al.*, 2012).



Gambar 7. Visualisasi histogram (sebelah kanan) dan dot plot (sebelah kiri) flow cytometer (Rich *et al.*, 2012).

Pendekatan pada dot plot ini memungkinkan visualisasi dari empat populasi yang berbeda yaitu A+/B-, A-/B+, A+/B+ dan A-/B-. Dalam dot plot ini mengidentifikasi populasi sel yaitu A+/B- berarti hanya

mengekspresikan A; A-/B+ berarti hanya mengekspresikan B; A+/B+ yang berarti mengekspresikan A dan B, dan A-/B- yang berarti tidak mengekspresikan A atau B (Rich *et al*, 2012).