



**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA,
KLOROFORM, DAN ETANOL DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

**Ichlasul Amalia Erfani
NIM 112210101060**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA,
KLOROFORM, DAN ETANOL DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Sarjana Farmasi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Ichlasul Amalia Erfani
NIM 112210101060**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan kesempatan untuk menuntut ilmu dan kekuatan lahir batin untuk menyelesaikan tahap ini beserta Nabi Muhammad SAW yang selalu menjadi syuri tauladan;
2. Ibu Endah Rahmawati, M.Pd dan Bapak Mohammad Fathoni, M.Pd yang selalu mengajarkan arti hidup, kesabaran, keikhlasan, ketegaran, kekuatan, motivasi serta atas segala doa yang selalu terpanjatkan untuk diberi kemudahan hingga detik ini;
3. Adikku tercinta, Shoffa Illiyyin Erfani atas doa, motivasi, cinta dan semangat yang diberikan;
4. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi atas ilmu pengetahuan dan bimbingan;
5. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

...Tetapi boleh jadi kamu tidak menyenangi sesuatu, padahal itu baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu tidak baik bagimu. Allah Mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui

(Q.S. Al-Baqarah: 216)¹

Hari terbesar dalam hidup adalah ketika kita mengambil tanggung jawab total untuk sikap kita. Itulah hari kita benar-benar tumbuh.

(John C. Maxwell)²

¹ Hatta, Ahmad,Dr, MA. 2009. *Tafsir Qur'an per Kata; Dilengkapi dengan Asbabun Nuzul & Terjemahan*. Jakarta: Magfirah Pustaka.

² John C. Maxwell dalam Cahyo, N. 2009. *100% Kutipan Kata Motivasi Superdahsyat*. Yogyakarta: Pustaka Diantara.

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ichlasul Amalia Erfani

NIM : 112210101060

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: Uji Aktivitas Antiplatelet Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari ini tidak benar.

Jember, 28 Oktober 2015

Yang menyatakan



Ichlasul Amalia Erfani

NIM 112210101060

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA,
KLOROFORM, DAN ETANOL DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

Oleh

Ichlasul Amalia Erfani

NIM 112210101060

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antiplatelet Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 28 Oktober 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,



Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198107232006042002

Indah Yulia N., S. Farm., M. Farm., Apt.
NIP 198407122008122002

Tim Penguji

Penguji I,

Penguji II,



Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt.
NIP 197305132005012001

Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt.
NIP 196902011994031002

Mengesahkan
Dekan,



W. W. W. W., S.Si., Apt., M.Farm.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antiplatelet Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*; Ichlasul Amalia Erfani, 112210101060; 95 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Hemostasis merupakan proses penghentian pendarahan secara spontan pada pembuluh darah yang luka. Trombosis dapat terjadi di sirkulasi arteri atau vena. Trombosis pada arteri terjadi karena terdapat plak aterosklerosis yang dapat memicu terjadinya serangan jantung dan *stroke*. Trombosis pada vena terjadi karena adanya gangguan pembuluh darah, emboli paru, dan sering terjadi setelah serangan jantung dan *stroke*. Data statistik WHO dalam laporan kesehatan dunia pada tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia tahun 2013 sebesar 0,5% atau diperkirakan sekitar 883.447 orang.

Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antiplatelet. Aktivitas antiplatelet diduga disebabkan kandungan flavonoid, alkaloid, terpena, dan saponin. Pengujian aktivitas antiplatelet dilakukan dengan mengukur kekeruhan *platelet rich plasma* (PRP) sesudah diinduksi dengan *adenosine diphosphate* (ADP). Pengukuran dilakukan dengan membandingkan serapan plasma darah sebelum dan sesudah diinduksi ADP menggunakan spektrofotometer. Semakin besar penurunan serapan plasma, maka semakin banyak agregat platelet yang terbentuk. Seluruh hasil pengujian dianalisis menggunakan *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

Hasil uji aktivitas antiplatelet menunjukkan terjadinya penurunan agregasi platelet dari kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif $49,058 \pm 3,815$ %. Kelompok perlakuan dengan penambahan fraksi n-heksana daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 2; 1; 0,5, dan 0,25 mg/mL agregasi platelet masing-masing

mengalami penurunan menjadi $13,584 \pm 1,179$; $20,544 \pm 1,094$; $29,017 \pm 0,839$; dan $37,011 \pm 0,841$ %. Penambahan fraksi kloroform daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 2; 1; 0,5; dan 0,25 mg/mL agregasi platelet masing-masing mengalami penurunan menjadi $12,267 \pm 1,217$; $18,375 \pm 0,878$; $26,177 \pm 0,729$; dan $35,286 \pm 0,814$ %. Penambahan fraksi etanol daun belimbing wuluh dengan konsentrasi 2; 1; 0,5; dan 0,25 mg/mL agregasi platelet masing-masing mengalami penurunan menjadi $8,358 \pm 1,276$; $14,864 \pm 0,697$; $20,109 \pm 1,259$; dan $30,031 \pm 0,566$ %.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antiplatelet yang ditandai dengan penurunan presentase agregasi platelet. Aktivitas antiplatelet yang memiliki potensi tertinggi terjadi pada penambahan fraksi etanol 2 mg/mL agregasi platelet sebesar $8,358 \pm 1,276$ % dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (Asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar $5,447 \pm 1,219$ %. Aktivitas antiplatelet yang memiliki potensi terendah terjadi pada penambahan fraksi n-heksana 0,25 mg/mL dimana persen agregasinya $37,011 \pm 0,841$ %.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul: “Uji Aktivitas Antiplatelet Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT, atas izin-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi;
2. Ibu Endah Rahmawati, M.Pd dan Bapak Mohammad Fathoni, M.Pd tercinta, terimakasih atas segala kasih sayang, pengorbanan, dukungan, dan doa yang tiada henti diberikan pada penulis hingga saat ini;
3. Adikku Shoffa Illiyyin Erfani dan segenap keluarga besarku di Ngawi yang telah memberikan motivasi, dukungan, serta do'anya hingga terselesaikan skripsi ini;
4. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan kesempatan yang telah diberikan untuk menyelesaikan tugas akhir;
5. Ibu Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Indah Yulia N, S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota karena telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam membimbing skripsi ini;
6. Ibu Siti Muslichah, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji I dan Ibu Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt selaku Dosen Penguji II yang telah memberi saran dan penilaian terhadap hasil skripsi;
7. Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menempuh studi;

8. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis;
9. Mbak Indri, Mbak Dinik, Mbak Anggra, dan Bu Widhi, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya dengan baik di laboratorium selama penelitian.
10. Sahabatku “9 Star Pharmacists” Ratih, Estika, Alifia, Prisma, Ika, Puspita, Lintang, dan Meyladia terima kasih telah memberikan motivasi dan selalu berada di sisiku selama menjalani kehidupan di Jember dalam suka maupun duka;
11. Sahabatku Ratnaning, putri Eka, Yuniar, Iim, Zuhro, Liyas dan Tintia terimakasih atas segala bantuan dan motivasinya.;
12. Melda, Rachel, Rizki, Dek Afif, Eka, Akita, Teri, Mbak Devi, Ayu, Emi, Hilma dan keluarga besar kos “Kalem Tua” terimakasih atas keceriaan dan motivasinya;
13. Mar’iy, Arie, Nanda, Huda, Mahmud, Jopi, Alan, dan Adit selaku probandus dalam penelitian ini. Terimakasih, sumbangan darah kalian sangat berarti dalam pengerjaan skripsi ini;
14. Keluarga besar Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) Periode 2011-2012, 2012-2013, dan 2014 terimakasih atas pengalaman yang diberikan;
15. Keluarga besar ASMEF (Angkatan Solid Mahasiswa *Eleven* Farmasi) 2011 terima kasih atas persaudaraan, canda, tawa, semangat dan doa kalian;
16. Guru-guruku yang terhormat mulai TK, SD, SMP, SMA hingga perguruan tinggi;
17. Semua pihak yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung memberikan bantuan dan dukungan dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Amiin.

Jember, 28 Oktober 2015

Penulis

DAFTAR ISI

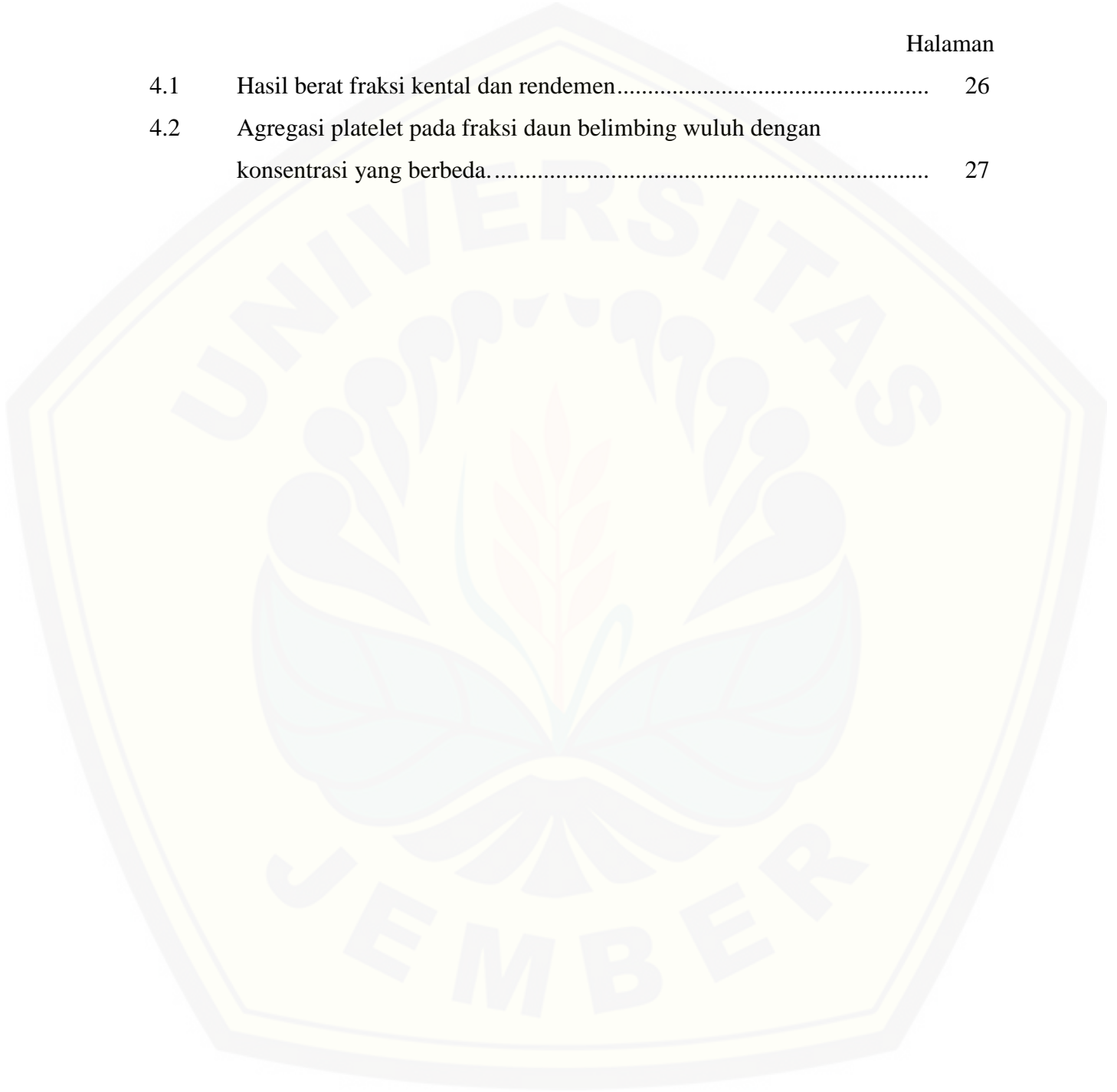
	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang Tanaman Belimbing Wuluh (Fam. Oxalidaceae)	5
2.1.1 Klasifikasi Belimbing Wuluh.....	5
2.1.2 Deskripsi Belimbing Wuluh.....	5
2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Senyawa pada Tanaman Belimbing Wuluh.....	6
2.2 Tinjauan tentang Sistem Hemostasis dan Trombosis	7

2.3	Tinjauan tentang Terjadinya Agregasi Platelet.....	8
2.4	Tinjauan tentang Obat Antiagregasi Platelet	11
2.4.1	Inhibitor Adhesi Platelet	12
2.4.2	Inhibitor Aktivasi Platelet	13
2.4.3	Inhibitor Agregasi Platelet	16
2.5	Tinjauan tentang Metode Pengujian Antiplatelet.....	16
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	17
3.1	Jenis Penelitian, Tempat, dan Waktu Penelitian	17
3.1.1	Jenis Penelitian.....	17
3.1.2	Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2	Rancangan Penelitian	17
3.3	Bahan dan Alat	18
3.4	Variabel Penelitian.....	19
3.4.1	Variabel Bebas	19
3.4.2	Variabel Terikat	19
3.4.3	Variabel Terkendali.....	19
3.5	Definisi Operasional Penelitian	19
3.6	Prosedur Kerja	20
3.6.1	Pembuatan Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun BelimbingWuluh	20
3.6.2	Pembuatan Na Sitrat 3,2%	21
3.6.3	Pembuatan Suspensi Ekstrak untuk Uji Antiplatelet	21
3.6.4	Pembuatan Suspensi Asetosal sebagai Larutan Uji Agregasi Platelet	22
3.6.5	Pembuatan PRP (<i>Platelet Rich Plasma</i>) dan PPP (<i>Platelet Poor Plasma</i>).....	22
3.6.6	Uji Antiagregasi Platelet	22
3.7	Analisis Data	23
3.8	Skema Pelaksanaan Penelitian.....	24

3.8.1 Pembuatan Ekstrak.....	24
3.8.2 Pengujian <i>in vitro</i> Antiplatelet	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 HASIL.....	26
4.1.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Belimbing Wuluh	26
4.1.2 Uji Aktivitas Antiplatelet	26
4.2 Pembahasan	29
BAB 5. PENUTUP.....	33
5.1 Kesimpulan	33
5.1 Saran.....	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Hasil berat fraksi kental dan rendemen.....	26
4.2 Agregasi platelet pada fraksi daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda.....	27



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun tanaman belimbing wuluh	6
2.2 Skema proses hemostasis dan trombosis	7
2.3 Faktor kimia yang mempengaruhi aktivitas platelet dan agregasi platelet.....	9
2.4 Aktivasi dan agregasi platelet	9
2.5 Hemostasis dimediasi oleh platelet.....	10
2.6 Mekanisme antiagregasi platelet dan faktor-faktor penghambat agregasi platelet	11
2.7 Mekanisme adhesi platelet.....	12
2.8 Mekanisme kerja asetosal pada enzim siklooksigenase.....	13
2.9 Asetosal inhibisi platelet secara ireversibel enzim siklooksigenase	14
3.1 Rancangan penelitian aktivitas antiplatelet.....	17
3.2 Alur kerja pembuatan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh..	24
3.3 Alur kerja penentuan penurunan agregasi platelet.....	25
4.1 Mekanisme golongan senyawa sebagai antiplatelet	32

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Data Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet.....	39
A.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 0,5 % DMSO).....	39
A.2 Konsentrasi 0,25 mg/mL.....	39
A.3 Konsentrasi 0,5 mg/mL.....	40
A.4 Konsentrasi 1 mg/mL.....	41
A.5 Konsentrasi 2 mg/mL.....	42
A.6 Kontrol positif (Asetosal 1 mg/mL).....	43
B. Hasil Analisis Data Uji Aktivitas Antiplatelet.....	44
B.1 Uji Normalitas	44
B.2 Uji Homogenitas.....	44
B.3 Uji Kruskal-Wallis.....	45
B.4 Uji Mann-Whitney.....	45
C. Lembar Persetujuan Etik.....	94

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hemostasis merupakan proses penghentian pendarahan secara spontan pada pembuluh darah yang luka. Faktor-faktor pembuluh darah yang berperan dalam proses tersebut adalah trombosit (platelet), trombolisis, dan faktor pembekuan darah (koagulan). Pembuluh darah pada proses ini akan mengalami vasokonstriksi, platelet akan beragregasi membentuk sumbat platelet pada sisi yang luka. Sistem agregasi platelet dan koagulasi terjadi secara alami dalam kondisi normal tubuh apabila terjadi luka (Dewoto, 2007).

Platelet adalah kunci dalam pembentukan trombus patologis yang mengarah ke infark miokard, stroke iskemik, dan penyakit pembuluh darah perifer (Saraf *et al.*, 2009). Trombosis dapat terjadi di sirkulasi arteri atau vena. Trombosis pada arteri terjadi karena terdapat plak aterosklerosis yang dapat memicu terjadinya serangan jantung dan *stroke*. Trombosis pada vena terjadi karena adanya gangguan pembuluh darah, emboli paru, dan sering terjadi setelah serangan jantung dan *stroke* (Gross dan Weitz, 2009).

Aktivitas platelet dengan pembentukan trombus di arteri koroner sebagai penyebab yang paling utama pada *acute coronary syndrome* (ACS). Besar agregasi platelet *in vitro* digunakan untuk mengetahui terjadinya peningkatan resiko ACS (Qayyum *et al.*, 2015).

Data statistik WHO dalam laporan kesehatan dunia tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Pada tahun 2013 prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia diperkirakan sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang, sehingga untuk mengurangi kemungkinan terjadinya risiko ACS maka diberikan terapi farmakologi (*World Health Organization*,

2014). Farmakoterapi yang diberikan di antaranya obat antikoagulan dan antiagregasi platelet yang banyak berhasil untuk mencegah penyakit kardiovaskular (Halim, 2006). Terapi antiplatelet baik untuk mencegah terjadinya ACS, terutama pada saat platelet berperan penting dalam patogenesis penyakit atherotrombosis (Qayyum *et al.*, 2015).

Terapi farmakologi agen antiplatelet yang telah lama dan umum digunakan, serta menunjukkan manfaat yang signifikan dalam mencegah terjadinya iskemik sekunder dan penyakit arteri koroner adalah asetosal. Platelet dapat diaktifkan melalui sejumlah jalur, dan agen antiplatelet yang bertujuan untuk memblokir satu atau lebih dari jalur tersebut. Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan sebelumnya, kasus pasien trombosis menggunakan terapi antiplatelet (asetosal) menunjukkan terjadinya resistensi. Prevalensi resistensi asetosal berkisar antara 5%-60%, tergantung dari penggunaan obat, pengaturan dosis dan keadaan penyakit yang diderita (Saraf *et al.*, 2009).

Penelitian terhadap bahan alam sebagai alternatif pengobatan juga dapat digunakan untuk meningkatkan taraf kesehatan di Indonesia. Tanaman yang memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan untuk obat antitrombosis atau antiplatelet di antaranya *Garcinia* sp. (Jantan *et al.*, 2011), kubis merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (Putri, 2014), dan bawang putih (*Allium sativum*) (Arifin, 2004). Belimbing wuluh atau nama lainnya *Averrhoa bilimbi* L (Fam. Oxalidaceae) merupakan tanaman asli Indonesia yang memiliki khasiat untuk pengobatan dan diduga memiliki aktivitas antikoagulan yang diuji pada mencit diabetes (Daud *et al.*, 2013), aktivitas trombolitik dan antioksidan pada kulit batang belimbing wuluh (Siddique *et al.*, 2013), serta memiliki aktivitas antitrombosis (Hasanuzzaman *et al.*, 2013).

Senyawa kimia yang telah diidentifikasi dalam belimbing wuluh antara lain asam amino, asam sitrat, cyanidin-3-glucoside OHD, ion kalium, vitamin A, gula, dan senyawa fenolik. Senyawa fenolik terdiri dari molekul sederhana (di antaranya fenol sederhana, asam fenolik, fenil-propanoid dan flavonoid) (Daud *et al.*, 2013),

selain itu juga terdapat senyawa kimia antara lain alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, glikosida, triterpena, fenol, dan karbohidrat (Hasanuzzaman *et al.*, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu jenis antioksidan yang dapat menghambat pelekatan, agregasi, dan sekresi platelet. Kemampuan flavonoid adalah menghambat adhesi platelet, agregasi platelet, dan sekresi platelet. Efek flavonoid pada platelet berhubungan dengan kemampuan penghambatan metabolisme asam arakidonat oleh siklooksigenase. Siklooksigenase berperan dalam meningkatkan jumlah trombosit. Apabila jumlah siklooksigenase dapat dihambat, maka jumlah platelet pun juga akan ikut menurun (Middleton *et al.*, 2000).

Penelitian terhadap hasil ekstrak etanol total daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/mL menghasilkan persen agregasi platelet $13,114 \pm 0,915$ % dan memiliki persentase inhibisi platelet yang tinggi 78,56 % (Inayah, 2015). Namun, belum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antiplatelet pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh. Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini peneliti akan melakukan penelitian aktivitas antiplatelet terhadap fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh *in vitro* pada berbagai konsentrasi tertentu. Pengujian *in vitro* antiplatelet dilakukan dengan mengukur kekeruhan plasma *platelet rich plasma* (PRP) sebelum dan sesudah diinduksi dengan ADP (Vogel, 2002). Seperti halnya TXA₂, ADP merupakan penginduksi utama untuk agregasi platelet, perubahan bentuk platelet, dan sekresi platelet. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelia pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet melalui pengikatan pada reseptor protein yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granul yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain (Yulinah *et al.*, 2008).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

- a. Apakah fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh mempunyai aktivitas sebagai antiplatelet?
- b. Bagaimanakah perbandingan aktivitas antiplatelet dari fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada beberapa konsentrasi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Untuk mengetahui adanya aktivitas antiplatelet dari fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.
- b. Untuk mengetahui perbandingan aktivitas antiplatelet dari fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada beberapa konsentrasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Menambah nilai ekonomi tanaman belimbing wuluh.
- b. Sebagai dasar teori bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat daun belimbing wuluh sebagai alternatif pengobatan antiplatelet karena penggumpalan darah.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Tanaman Belimbing Wuluh (Fam. Oxalidaceae)

2.1.1 Klasifikasi Belimbing Wuluh

Tanaman belimbing wuluh dalam ITIS (2014) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplantae
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Oxalidales
Famili	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.

2.1.2 Deskripsi Belimbing Wuluh

Belimbing wuluh merupakan pohon yang berumur panjang, tinggi pohon mencapai 5-10 m (16-33 kaki) memiliki batang pendek yang membagi menjadi beberapa cabang yang tegak. Daun berkerumun di ujung cabang, memiliki 12-24 tangkai daun dengan panjang 30-60cm, memiliki 11-37 pasang anak daun, berbentuk bulat telur atau lonjong, pangkal membulat dan ujungnya runcing, berbulu halus, pada permukaan atas berwarna hijau dan pucat di bagian bawah, memiliki panjang 2-10cm dan lebar 1,2-1,25cm. Bunga memiliki 5 kelopak berukuran kecil, ketika muda berwarna hijau kekuningan kemudian akan berubah menjadi warna ungu gelap, malai berbulu dan muncul langsung dari batang yang sudah tua, cabang tebal dan beberapa

ranting. Buah, menggerombol, berbentuk lonjong dengan panjang 4-10cm, kelopak buah berbentuk bintang dan pada ujungnya terdapat 5 rambut seperti bunga sisa di puncak, saat muda berwarna hijau dan kulit luar mengkilap, dan lama- kelamaan jika tua akan berubah menjadi warna gading atau putih matang dan akan jatuh ke tanah. Daun tanaman belimbing wuluh ditunjukkan oleh Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun tanaman belimbing wuluh

Belimbing wuluh adalah pohon tropis, lebih sensitif terhadap dingin terutama ketika sangat muda. Tumbuhan ini lebih memilih terkena matahari langsung dan iklim lembab, dengan curah hujan merata hampir sepanjang tahun, tetapi harus ada 2-3 bulan musim kemarau. Tanaman ini dapat tumbuh di berbagai negara seperti Indonesia, Thailand, Malaysia, Singapura, India, Argentina, Brazil, Kolombia, Kuba, Ekuador, Guyana, Jamaika, Filipina, Puerto Rico, Suriname, Trinidad dan Tobago, AS, Venezuela (Kumar *et al.*, 2013).

2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Senyawa pada Tanaman Belimbing Wuluh

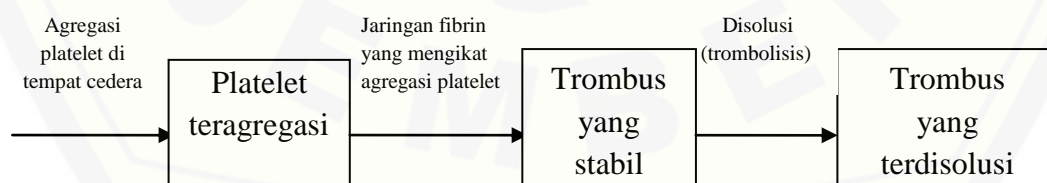
Tanaman telah menyediakan sumber inspirasi bagi senyawa obat baru, seperti tanaman obat-obatan yang memberikan kontribusi besar untuk kesehatan manusia. Belimbing wuluh digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan demam,

gondok, jerawat, radang rektum dan diabetes, gatal, bisul, rematik, sifilis, kolik empedu, batuk, hipertensi, sakit perut, maag dan sebagai minuman pendingin (Kumar *et al.*, 2013). Kandungan kimia yang teridentifikasi pada belimbing wuluh diantaranya alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, glikosida, triterpena, fenol, dan karbohidrat (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Belimbing wuluh juga mengandung triterpenoid, asam amino, asam sitrat, sianidin-3O-h-D-glukosida, fenolik, ion kalium, gula, dan vitamin A (Kumar *et al.*, 2013). Ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/mL menghasilkan persen agregasi platelet mencapai $13,114 \pm 0,915$ % dan memiliki persentase inhibisi platelet yang tinggi 78,56 %. Pada pemberian asetosal 1 mg/mL (kontrol positif) persentase inhibisi 96,00 % (Inayah, 2015).

2.2 Tinjauan tentang Sistem Hemostasis dan Trombosis

Hemostasis adalah penghentian spontan pendarahan dari pembuluh darah yang rusak. Sel-sel endotel vaskular normal tidak bersifat trombogenik, platelet-platelet darah yang bersirkulasi dan faktor-faktor pembekuan darah secara normal tidak melekat pada sel endotel (Katzung *et al.*, 2002). Proses-proses ini mencakup pembekuan darah dan melibatkan agregasi platelet serta protein plasma yang menyebabkan pembentukan agregat trombosit (Murray *et al.*, 2009).

Hemostasis awalnya terjadi vasokonstriksi pada pembuluh yang mengalami cedera, sehingga pada tempat cedera tersebut terjadi pengurangan aliran darah ke bagian distal. Hemostasis dan trombosis mengalami fase meliputi (Gambar 2.2):



Gambar 2.2 Skema proses hemostasis dan trombosis (Murray *et al.*, 2009)

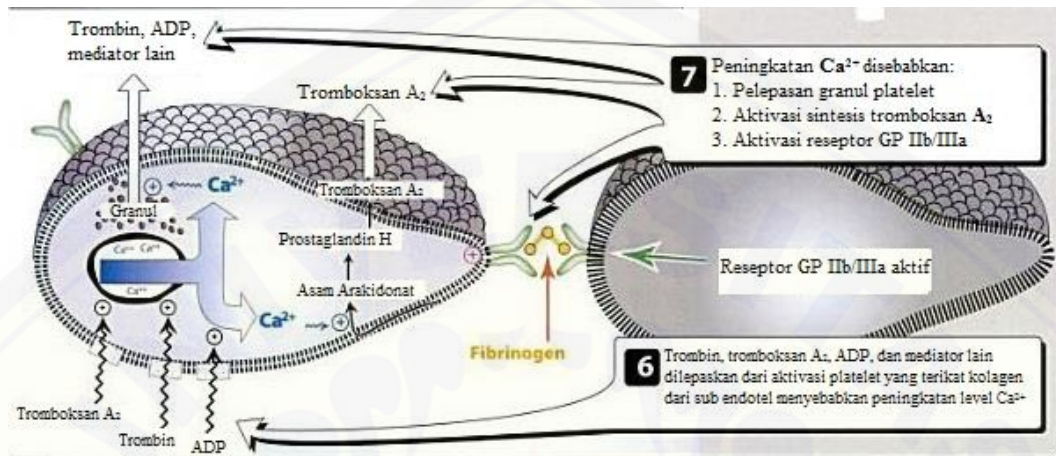
- 1) Pembentukan agregat platelet sementara di tempat cedera, platelet berikatan dengan kolagen di bagian dinding pembuluh yang cedera, dan mengeluarkan *adenosine diphosphate* (ADP), serta membentuk tromboksan A_2 yang mengaktifkan platelet lain yang mengalir di sekitar tempat cedera. Trombin yang terbentuk sewaktu koagulasi di tempat yang sama, juga mengaktifkan platelet yang lain. Platelet akan berubah bentuk dan dengan adanya fibrinogen akan menggumpal untuk membuat sumbat hemostatik (pada hemostasis) atau trombus (pada trombosis) jika diaktifkan.
- 2) Jaring fibrin yang mengikat agregat platelet dapat membentuk sumbat hemostatik atau trombus yang lebih stabil.
- 3) Disolusi sumbat hemostatik atau trombus secara parsial atau total plasmin (Murray *et al.*, 2009).

2.3 Tinjauan tentang Terjadinya Agregasi Platelet

Pembuluh darah yang normal, sirkulasi platelet terjadi dalam keadaan tidak aktif oleh oksida nitrat dan prostasiklin yang dikeluarkan oleh sel-sel endotel yang melapisi pembuluh darah (Gross dan Weitz, 2009). Platelet memberikan respon terhadap cedera jaringan dengan melekat pada tempat cedera, kemudian melepaskan granul-granul mengandung mediator kimiawi yang meningkatkan agregasi platelet. Keadaan ini menyebabkan pembentukan trombin, yang selanjutnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Pengikatan silang pada untai fibrin dapat menstabilkan bekuan (Stringer, 2008). Trombosit dirangsang oleh beragam agonis seperti ADP, arakidonat, serotonin, epinefrin, dan trombin, reseptor fibrinogen akan terpapar pada permukaan platelet, sehingga fibrinogen mengikat dan terjadi agregasi platelet (Gambar 2.3) (Oyama dan Takahashi, 2015).

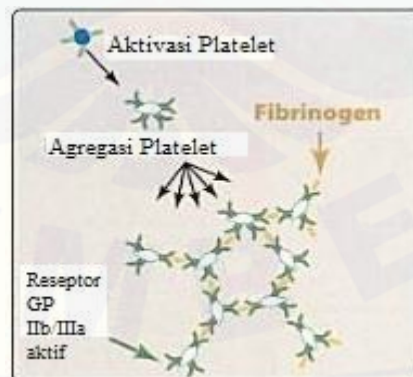
Pada saat terjadi trauma, platelet, faktor pembekuan darah dalam plasma, dan dinding pembuluh darah berinteraksi untuk menutup kebocoran pada pembuluh darah. Pembuluh darah yang rusak akan berkonstriksi melepaskan endotelin dan

platelet dan beragregasi pada situs luka dan menarik platelet lain untuk menutup bocoran dengan sumbatan platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).



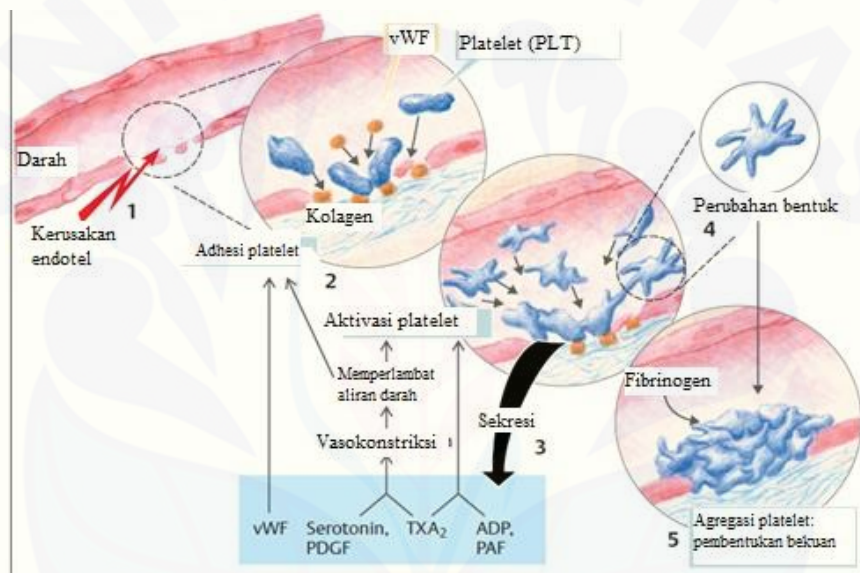
Gambar 2.3 Faktor kimia yang mempengaruhi aktivitas platelet dan agregasi platelet (Finkel *et al.*, 2009).

Ketika platelet diaktifkan, glikoprotein (GP) IIb/IIIa (α IIb β 3) yaitu reseptor yang paling berlimpah di permukaan platelet mengalami perubahan konformasi, sehingga meningkatkan kemampuannya untuk mengikat fibrinogen. Kemudian molekul divalen fibrinogen menjembatani platelet yang berdekatan untuk membentuk agregasi platelet (Gambar 2.4) (Gross dan Weitz, 2009).



Gambar 2.4 Aktivasi dan agregasi platelet (Finkel *et al.*, 2009).

Pada saat terjadi trauma pada sel endotelia, platelet merupakan sel darah yang melekat pada serat kolagen subendotelial, yang dijumpai oleh faktor von Willebrand (vWF) yang dibentuk oleh sel endotelia dan bersirkulasi dalam kompleks plasma dengan faktor VIII. Kompleks *glycoprotein* GP Ib/IX pada platelet merupakan reseptor vWF. Proses adhesi akan mengaktifkan platelet dan mulai melepaskan senyawa yang meningkatkan daya adhesi platelet. Serotonin, *platelet derived growthfactor* (PDGF) dan *tromboxane A2* (TXA₂) meningkatkan vasokonstriksi (Gambar 2.5) (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).



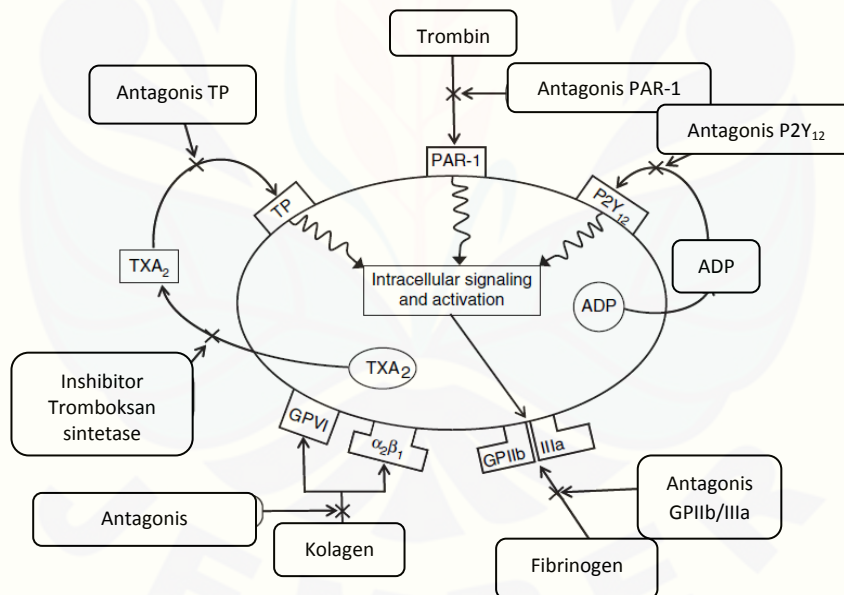
Gambar 2.5 Hemostasis dimediasi oleh platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003)

Vasokonstriksi dan kontraksi platelet akan memperlambat aliran darah. Mediator yang dilepaskan oleh platelet meningkatkan aktivasi platelet, sehingga menarik dan mengaktifkan lebih banyak platelet. Hal ini menyebabkan bentuk dari platelet teraktivasi berubah drastis. Platelet diskoid berubah menjadi sferik dan menghasilkan pseudopodia yang saling terjalin antar platelet. Agregasi platelet ini ditingkatkan oleh trombin (IIA), berikatan dengan reseptor yang diaktivasi oleh protease (PAR 1 dan PAR 4) dan distabilisasi oleh GP IIb/IIIa yang diekspresikan

pada permukaan platelet, yang mengarah pada ikatan fibrinogen dan agregasi platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

2.4 Tinjauan tentang Obat Antiagregasi Platelet

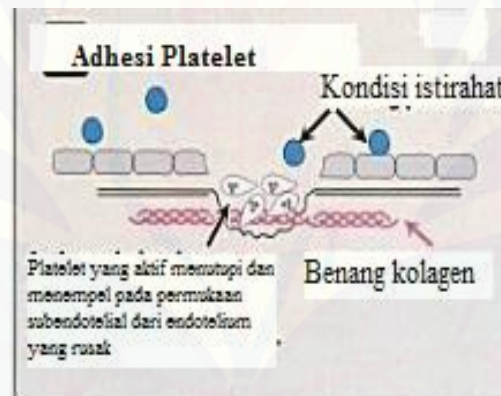
Agen antiplatelet dapat disubklasifikasikan, atas dasar tempat kerjanya yang bekerja dengan proses penghambatan pada adhesi, aktivasi, agregasi, atau media platelet dalam mengalami peradangan. Agen antiplatelet saat ini yang tersedia diantaranya, asetosal, klopidoqrel, dipyridamole, dan cilostazol bekerja dengan menghambat aktivasi platelet. Meskipun melalui mekanisme yang berbeda, antagonis GPIIb/IIIa memblok agregasi platelet. Beberapa obat antiplatelet baru menghambat target baru, sedangkan yang lain telah dirancang untuk menghasilkan penghambatan lebih besar dari target (Gambar2.6) (Gross dan Weitz, 2009).



Gambar 2.6 Mekanisme antiagregasi platelet dan faktor-faktor penghambat agregasi platelet (Gross dan Weitz, 2009).

2.4.1 Inhibitor Adhesi Platelet

Adhesi platelet adalah langkah pertama dalam pembentukan sumbat trombosit pada dinding pembuluh darah yang sedang mengalami cedera (Gambar 2.7). Karena proses ini tergantung pada interaksi antara protein subendothelia dan reseptor pada permukaan platelet, adhesi platelet dapat dihambat dengan cara memblok ikatan antara reseptor platelet dengan kolagen atau vWF, memblok perlekatan vWF pada kolagen, atau secara langsung mencegah ikatan kolagen- vWF untuk berinteraksi dengan platelet. Interaksi antara platelet dan kolagen harus mendapat perhatian besar karena kolagen pada plak aterosklerosis berlimpah jumlahnya, dimana hal tersebut akan memberikan efek pada pertumbuhan lesi dan penyempitan arteri. Platelet dapat mengikat kolagen melalui $\alpha 2\beta 1$ atau GPVI dan vWF melalui GPIB (Gross dan Weitz, 2009).



Gambar 2.7 Mekanisme adhesi platelet (Finkel *et al.*, 2009).

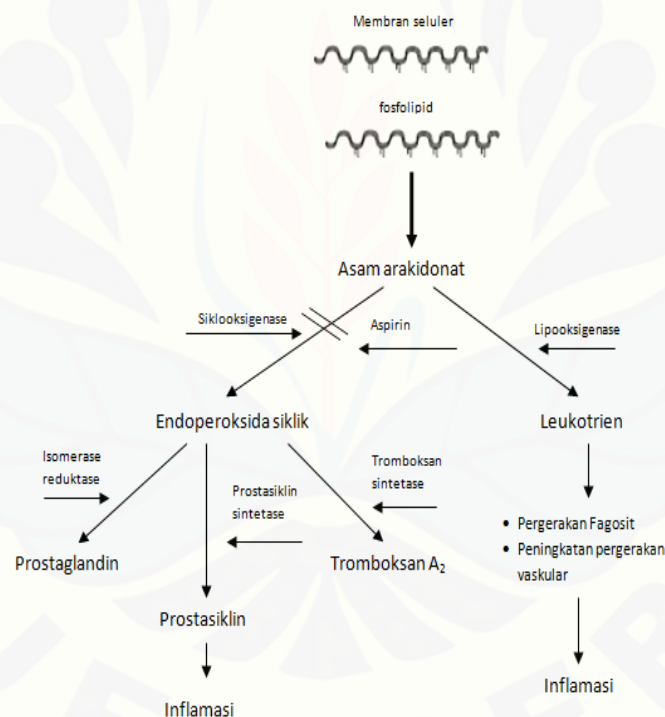
Beberapa proses upaya penghambatan interaksi antara kolagen dan platelet meliputi terlibatnya antibodi monoklonal dan aptamer untuk melawan reseptor, adanya inhibitor molekul peptida kecil, dan dengan menggunakan protein yang diperoleh dari lintah. Sebagian kecil obat antiplatelet golongan ini telah diujicobakan pada manusia, namun belum ada yang mencapai fase III (Gross dan Weitz, 2009).

2.4.2 Inhibitor Aktivasi Platelet

Obat agen antiplatelet atau inhibitor aktivitas platelet baru yang dirancang untuk memblokir aktivasi platelet melalui jalur sintesis seperti TXA₂, P2Y₁₂, PAR-1 (*Protease Activated Reseptore-1*), dan fosfodiester (Gross dan Weitz, 2009).

a. Inhibitor jalur TXA₂

Obat golongan penghambat TXA₂ adalah asetosal. Asetosal menghambat sintesis tromboksan A₂ dengan mengasetilasi secara ireversibel enzim siklooksigenase. Karena platelet tidak memiliki inti sel maka tidak dapat mensintesis protein baru, sehingga tidak dapat mencetak enzim baru selama 10 hari masa hidupnya (Gambar 2.8) (Katzung, 2002).

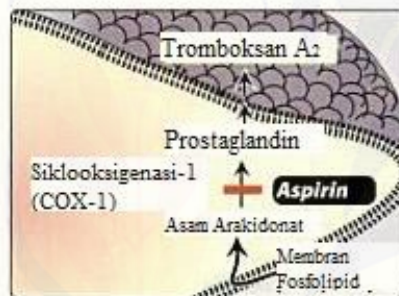


Gambar 2.8 Mekanisme kerja asetosal pada enzim siklooksigenase (Dewoto *et al.*, 2007)

Supresi sintesis TXA₂ akibat asetosal dan supresi agregasi platelet yang diakibatkannya berlangsung selama 7-10 hari. Asetosal sekarang digunakan untuk pengobatan profilaksis iskemia serebral, mengurangi terjadinya infark miokard

berulang dan menurunkan mortalitas pada pasien infark postmiokard (Mycek *et al.*, 2001). Asetosal juga telah terbukti dapat mengurangi resiko infark miokard pada pasien dengan angina tidak stabil, meningkatkan ketahanan hidup pasien yang telah mengalami infark miokard, dan menurunkan resiko stroke pada pasien dengan serangan iskemik sementara (Neal, 2006).

Asetosal dosis kecil hanya dapat menekan pembentukan TXA_2 , sehingga berakibat terjadinya pengurangan agregasi platelet. Dosis yang lebih tinggi dapat meningkatkan toksisitas (terutama perdarahan) tetapi juga menjadi kurang efektif karena selain menghambat TXA_2 juga menghambat pembentukan prostasiklin (Gambar 2.9) (Dewoto *et al.*, 2007).



Gambar 2.9 Asetosal inhibisi platelet secara ireversibel enzim siklooksigenase (Finkel *et al.*, 2009).

b. Inhibitor P2Y_{12}

Contoh obat yang berfungsi sebagai penghambat P2Y_{12} adalah klopidogrel. Klopidogrel adalah trienopiridina yang dapat menghambat P2Y_{12} secara ireversibel pada permukaan platelet. Klopidogrel berbentuk prodrug dan harus dimetabolisme di hati untuk menghasilkan metabolit aktif yang menghambat reseptor ADP, sehingga efek antiplatelet klopidogrel pada waktu yang sama dan dosis yang diatur mencapai maksimal pada 60% penghambatan ADP penginduksi agregasi platelet (Gross dan Weitz, 2009).

Inhibitor P2Y_{12} yang baru diantaranya prasugrel, cangrelor, dan ticagrelor. Seperti clopidogrel, prasugrel adalah trienopiridina yang mengalami metabolisme di

hati untuk menghasilkan metabolit aktif. Namun, karena metabolisme prasugrel lebih efisien daripada klopidogrel, maka prasugrel menghasilkan proses yang lebih cepat, lebih konsisten, dan penghambatan lebih kuat dalam menghambat ADP-induksi agregasi platelet dari pada klopidogrel (Gross dan Weitz, 2009).

Prasugrel ditemukan lebih efektif daripada klopidogrel dalam mencegah kejadian iskemik berulang setelah *percutaneous coronary interventions* (PCIs), tetapi disebabkan perdarahan yang berlebihan. Temuan ini menunjukkan bahwa P2Y₁₂ dapat memblok terjadinya peningkatan efektivitas tetapi juga peningkatan risiko perdarahan. Pasien dengan riwayat stroke >75 tahun dan mereka dengan berat badan <60 kg memiliki risiko tinggi pada perdarahan, termasuk pendarahan fatal, ketika diobati dengan prasugrel. Pengurangan dosis pada pasien akan mengurangi risiko, namun hal ini belum jelas pastinya (Gross dan Weitz, 2009).

c. Inhibitor PAR-1

Trombin merupakan agonis platelet yang paling ampuh, untuk mengaktifkan platelet melalui PAR-1 dan PAR-2 dengan reseptor G-protein berpasangan. PAR-1 adalah reseptor dengan afinitas tinggi dan efektor utama dalam pelepasan sinyal trombin, sedangkan PAR-4 dapat menambahkan efek ketika dalam konsentrasi yang lebih tinggi dari trombin yang dihasilkan. Meskipun kedua inhibitor PAR-1 dan PAR-4 telah dikembangkan, antagonis PAR-1, seperti SCH530348 dan E5555 masih dalam dalam tahap lebih maju dari evaluasi klinis (Gross dan Weitz, 2009).

d. Inhibitor fosfodiesterase

Adenosin monofosfat siklik berfungsi sebagai penghasil sinyal intraseluler untuk menekan aktivasi platelet dan agregasi platelet selanjutnya. Dengan menghambat fosfodiesterase, dipyridamole dan cilostazol meningkatkan kadar adenosin monofosfat siklik. Karena risiko perdarahan pada golongan inhibitor fosfodiesterase tampaknya rendah, inhibitor fosfodiesterase sedang dievaluasi sebagai upaya pencegahan sekunder pada pasien dengan penyakit aterosklerosis, terutama stroke (Gross dan Weitz, 2009).

2.4.3 Inhibitor Agregasi Platelet

Obat antiplatelet adalah antagonis GPIIb/IIIa, yang memblokir jalur akhir proses dari agregasi platelet. Penggunaan intravena antagonis GPIIb/IIIa telah terbukti mengurangi kejadian iskemik dalam terjadinya ACS dan sebagai terapi tambahan pada PCI. Sebuah analisis telah didapatkan data 32.135 pasien dari 16 kali percobaan menunjukkan penurunan terjadi kematian atau infark miokard yang signifikan. Penggunaan oral antagonis GPIIb/IIIa telah gagal menunjukkan manfaat apapun. Penjelasan kurangnya efikasi penggunaan antagonis GPIIb/IIIa belum diketahui secara pasti, tetapi mungkin terkait dengan aktivitas agonis parsial dan atau efek proinflamasi (Gross dan Weitz, 2009).

2.5 Tinjauan tentang Metode Pengujian Antiplatelet

Agregasi platelet dapat diuji dengan menggunakan metode *optical density* (OD) dan *impdance method*. Meskipun kedua metode tersebut berguna untuk evaluasi fungsi platelet, namun tidak mampu mengetahui hubungan agregasi platelet trombosit dengan waktu inkubasi. Maka disini agregasi platelet diukur dengan cara menghitung partikel dengan adanya hamburan cahaya. Secara singkat, trombosit yang disuspensi disiapkan di kuvet dan dicampur dengan fraksi. Kemudian, blanko menggunakan PPP dan ADP ditambahkan ke campuran untuk melihat aktivitas platelet. DMSO pada konsentrasi akhir sekitar 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif (Moriyama *et al.*, 2009). Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan mengukur presentase inhibisi agregasi platelet. Presentase inhibisi agregasi platelet dihitung berdasarkan penurunan serapan plasma yang merupakan selisih antara serapan plasma awal sebelum diinduksi ADP dikurangi dengan serapan plasma setelah diinduksi ADP. ADP merupakan penginduksi utama untuk agregasi platelet, perubahan bentuk platelet, dan sekresi platelet (Vogel, 2002). Semakin besar nilai persentase inhibisi agregasi platelet, maka aktivitas antiagregasi dikatakan semakin besar (Moriyama *et al.*, 2009).

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian, Tempat, dan Waktu Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

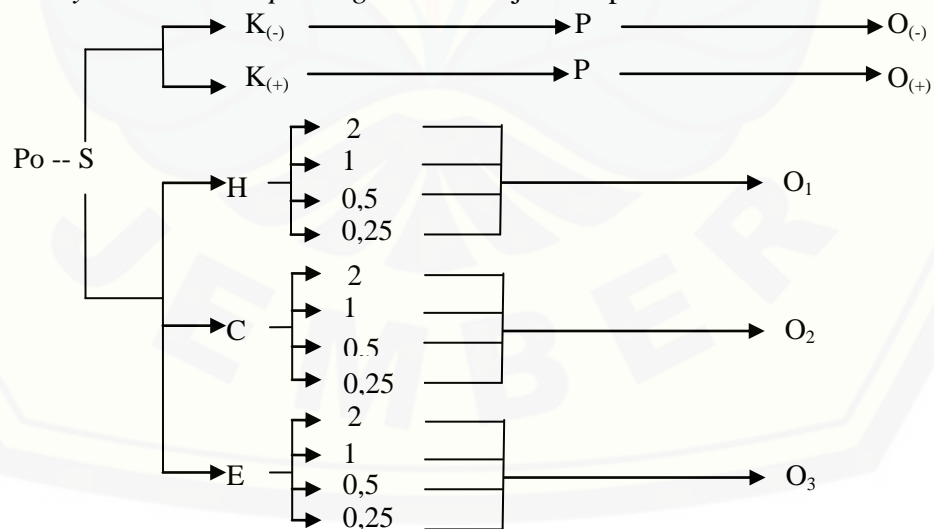
Uji aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh *in vitro* pada sampel PRP darah manusia merupakan penelitian *true experimental laboratories*.

3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret 2015 sampai dengan Agustus 2015 di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian aktivitas inhibisi agregasi platelet menggunakan model *Post Test Only Control Group Design* dan ditunjukkan pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Rancangan penelitian aktivitas antiplatelet

Keterangan:

- Po : Populasi normal manusia
- S : Sampel normal PRP
- K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian akuades dan DMSO 0,5 % pada PRP
- K₍₊₎ : Kelompok kontrol positif dengan pemberian suspensi asetosal 1 mg/mL pada PRP
- H : Kelompok perlakuan dengan pemberian fraksi n-heksana pada PRP
- C : Kelompok perlakuan dengan pemberian fraksi kloroform pada PRP
- E : Kelompok perlakuan dengan pemberian fraksi etanol pada PRP
- P : Perlakuan pada kelompok kontrol
- O_{(-),(+),1,2,3} : Pengamatan terhadap penurunan serapan plasma pada masing-masing kelompok.

3.3 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh yang diperoleh di daerah kampus Universitas Jember, Kecamatan Sumbersari, Kabupaten Jember pada bulan Maret 2015, etanol 80%, akuades, 0,5% DMSO, natrium sitrat 3,2%, n-heksana p.a, kloroform p.a, asetosal (Merck), pereaksi ADP (Sigma-Aldrich), tabung mikrosentrifus.

Alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), kertas saring, cawan porselain, *grinder*, corong pisah, alat-alat gelas, mikropipet (Socorex), alat sentrifugasi (Hettich Zentrifuge EBA 20), neraca analit digital (Pioneer), peralatan untuk mengambil darah, *ultrasonic homogenizer* (Elmasonic), dan spektrofotometer visible (Labomed UVD-2950).

Pada penelitian ini menggunakan sampel PRP dari darah laki-laki yang berusia >19 tahun, tidak mengkonsumsi obat-obatan, tidak memiliki keluhan klinik, tidak memiliki penyakit, memiliki pola hidup sehat (tidak dalam kondisi tegang, tidak merokok, tidak mengkonsumsi kopi, teh atau coklat 24 jam sebelum pengujian, serta

tidak mengonsumsi alkohol dan nikotin) dengan modifikasi (Mufidah *et al.*, 2012). Darah diambil dari lengan relawan kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifus yang telah diisi natrium sitrat 3,2% sebelumnya. Darah yang telah dimasukkan ke tabung mikrosentrifus kemudian disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Lapisan yang terpisah bagian atas (plasma) dipindah ke dalam tabung mikrosentrifus yang tertutup pada suhu kamar, sehingga telah didapatkan PRP. Sisa darah kemudian disentrifus kembali selama 15 menit dengan kecepatan 3000 rpm, sehingga didapat PPP. PPP ini akan digunakan sebagai blanko saat pemeriksaan spektroskopi.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh sebesar 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/mL.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah penurunan serapan plasma pada PRP.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah cara ekstraksi, sampel PRP dan PPP, serta prosedur pengujian agregasi platelet *in vitro*.

3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Bagian tanaman belimbing wuluh yang digunakan adalah seluruh anak daun tanaman belimbing wuluh yang tidak menggunakan anak daun pada cabang tangkai daun yang paling muda.

- b. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol daun belimbing wuluh yang kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol yang digunakan untuk penelitian dan disuspensikan dalam akuades dan DMSO 0,5% untuk uji *in vitro*.
- c. Fraksi n-heksana adalah fraksi kental dari fase cair n-heksana dari daun belimbing wuluh yang dikatakan memiliki aktivitas antiplatelet jika terjadi penurunan serapan plasma yang signifikan dibanding kontrol negatif.
- d. Fraksi kloroform adalah fraksi kental dari fase cair kloroform dari daun belimbing wuluh yang dikatakan memiliki aktivitas antiplatelet jika terjadi penurunan serapan plasma yang signifikan dibanding kontrol negatif.
- e. Fraksi etanol adalah fraksi kental dari fase cair etanol : air dari daun belimbing wuluh yang dikatakan memiliki aktivitas antiplatelet jika terjadi penurunan serapan plasma yang signifikan dibanding kontrol negatif.
- f. Penurunan serapan plasma merupakan selisih antara serapan plasma awal sebelum diinduksi ADP dikurangi dengan serapan plasma setelah diinduksi ADP. Adanya efek antiplatelet ditunjukkan oleh presentasi inhibisi agregasi platelet yang semakin besar.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Pembuatan Fraksi n-Heksana, Kloroform, dan Etanol Daun Belimbing Wuluh

Daun belimbing wuluh sebanyak 2 kg dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka hingga didapatkan simplisia kering. Simplisia yang telah kering tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga didapatkan dalam bentuk serbuk. Selanjutnya serbuk dimaserasi dengan menggunakan etanol 80% di dalam maserator dan didiamkan selama 2 hari. Ekstrak cair hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak cair yang telah disaring selanjutnya diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* kecepatan 180 rpm, suhu 40⁰C hingga

didapatkan ekstrak kental. Hasil ekstrak kental etanol ditambah dengan akuades hangat dan etanol 96% dengan perbandingan (1:1) kemudian dituang ke dalam corong pisah (Rofikayati, 2014). Selanjutnya dipisahkan dengan n-heksana (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair n-heksana kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase cair etanol:akuades dipisahkan dengan n-heksana yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cair n-heksana dan fase cair etanol:akuades. Fase cair etanol:akuades selanjutnya dipisahkan dengan kloroform (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair kloroform kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase cair etanol:akuades dipisahkan dengan kloroform yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cair kloroform dan fase cair etanol:akuades.

Fase cair n-heksana, kloroform, dan etanol:akuades yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* menghasilkan fraksi kental n-heksana, kloroform, dan etanol (dengan bantuan penguapan di dalam oven). Fraksi kental yang dihasilkan ditimbang dan disimpan pada wadah tertutup rapat pada suhu (0-4)°C.

3.6.2 Pembuatan Na Sitrat 3,2%

Na sitrat sebanyak 3,2 gram ditimbang, lalu dilarutkan dengan sedikit akuades hingga larut. Selanjutnya ditambahkan akuades hingga volume mencapai 100 ml.

3.6.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak untuk Uji Antiplatelet

Fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh masing-masing sebanyak 50 mg disuspensikan ke dalam DMSO 0,5% kemudian di larutkan dengan akuades sampai 25 ml dan dihomogenkan menggunakan *ultrasonic homogenizer* sampai tidak terlihat partikel yang tidak larut maka akan didapatkan

konsentrasi uji 2 mg/mL yang kemudian diencerkan sehingga didapat konsentrasi uji 1 mg/mL, 0,5 mg/mL, dan 0,25 mg/mL.

3.6.4 Pembuatan Suspensi Asetosal sebagai Larutan Uji Agregasi Platelet

Asetosal ditimbang sebanyak 25 mg, kemudian ditambah DMSO 0,5% dan dilarutkan dengan akuades hingga volume 25 ml. Campuran selanjutnya dihomogenkan menggunakan *ultrasonic homogenizer*, lalu disaring menggunakan kertas saring ini digunakan untuk kontrol positif. Sedangkan untuk kontrol negatif menggunakan akuades dan DMSO 0,5%.

3.6.5 Pembuatan PRP (*Platelet Rich Plasma*) dan PPP (*Platelet Poor Plasma*)

Pembuatan PRP dan PPP dilakukan melalui pengambilan sampel darah pada pembuluh darah vena lengan relawan sehat yang kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang telah berisi natrium sitrat 3,2% (dibutuhkan 1 ml natrium sitrat untuk 9 ml darah). PRP dibuat menggunakan darah yang disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 rpm, sedangkan PPP dibuat dengan sentrifugasi selama 15 menit pada 3000 rpm. Lapisan plasma (bagian atas yang berwarna bening) dipisahkan secara hati-hati dan dimasukkan pada tabung plastik tertutup rapat pada suhu ruang. Pembuatan PPP dilakukan setelah proses pembuatan PRP. Untuk menjamin jumlah platelet konstan, pengujian harus diselesaikan 3 jam setelah pengambilan darah (Wirawan, 2007).

3.6.6 Uji Antiagregasi Platelet

Pengujian agregasi platelet dapat dilakukan dengan mengukur kekeruhan plasma darah setelah diinduksi dengan ADP. Pengukuran dilakukan dengan membandingkan serapan plasma darah sebelum dan sesudah diinduksi ADP menggunakan spektrofotometer. Semakin besar penurunan serapan plasma, maka semakin banyak agregat platelet yang terbentuk.

Sampel uji yang telah disiapkan dalam konsentrasi 0, 25; 0,5; 1; dan 2 mg/mL serta konsentrasi kontrol positif asetosal 1 mg/mL (Jung-Ok, *et al.*, 2010) dipipet

dengan mikropipet sebanyak 100 µl, kemudian tambahkan masing-masing ke dalam 500 µl *platelet preparation* dalam tabung mikrosentrifus. Masing-masing tabung dihomogenkan dengan *vortex* kurang lebih 3 menit. Tiap kelompok uji direplikasi sebanyak 3 kali. Serapan sampel pengujian diukur pada panjang gelombang 600 nm (Yulinah, *et al.*, 2008) sebelum dan sesudah ditambah reagen ADP 20 µl (Vogel, 2002). Setelah ditambahkan ADP, sampel uji diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 37°C. Serapan plasma diukur kembali pada panjang gelombang yang sama. Kemudian persentase inhibisi agregasi platelet dihitung pada kekeruhan plasma kelompok uji dengan kelompok kontrol (Vogel, 2002).

Menurut Moriyama *et al.*, (2009), persentase agregasi platelet dapat ditentukan dengan rumus:

$$\text{agregasi platelet} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100\%$$

dengan: B = absorbansi setelah penambahan ADP

A = absorbansi sebelum penambahan ADP

Menurut Latief *et al.*, (2013), rumus inhibisi dapat dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Dengan: A= persen agregasi kontrol negatif

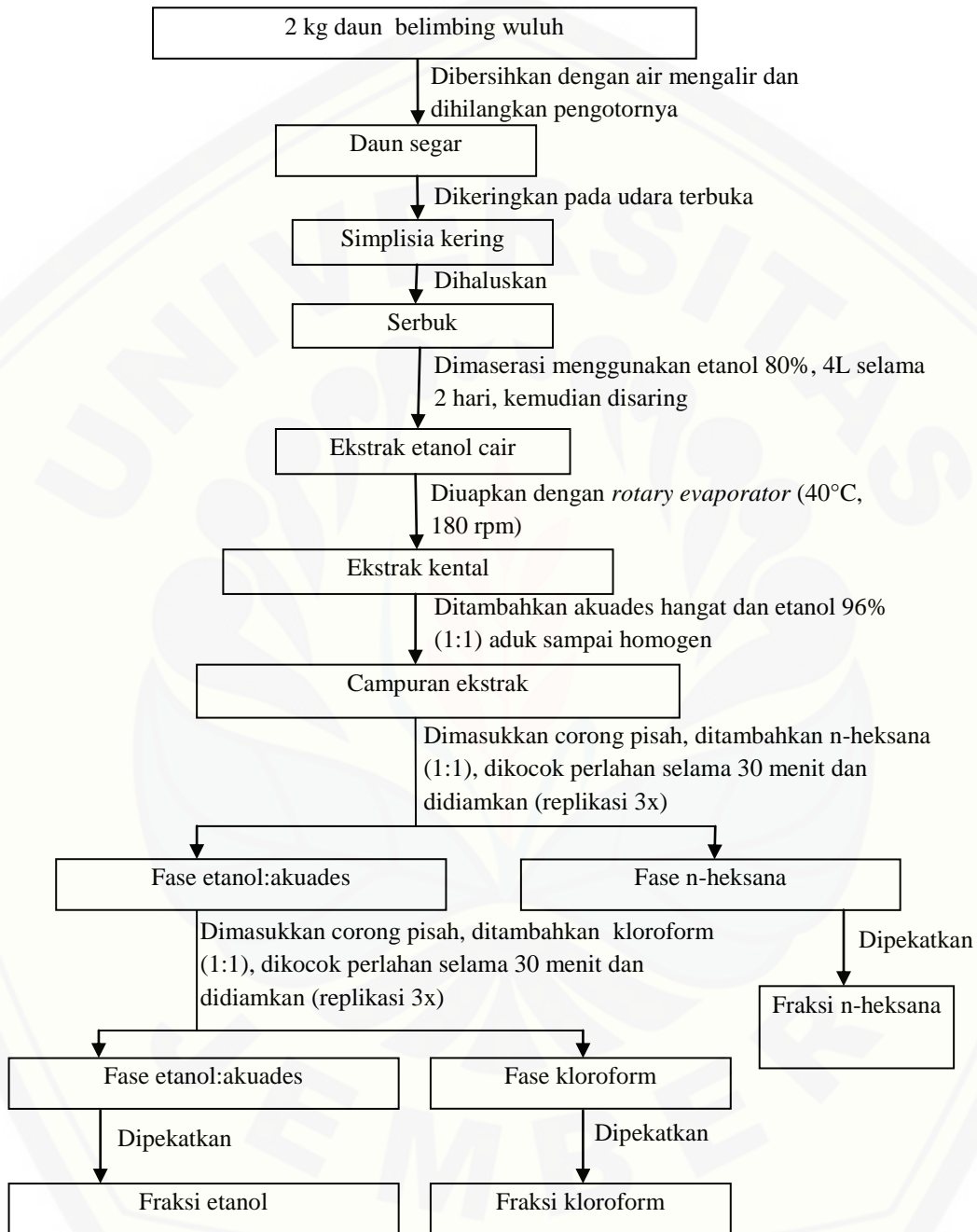
B= persen agregasi sampel

3.7 Analisis Data

Hasil uji aktivitas agregasi platelet adalah presentase inhibisi agregasi platelet. Jika datanya normal dan variasi sama, maka dapat menggunakan analisis data Anova satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD. Tetapi data pada penelitian ini normal dan tidak homogen, maka menggunakan uji non parametrik. Karena data yang digunakan adalah lebih dari dua sampel, maka yang digunakan adalah *K-independent samples* yaitu tipe *Kruskall-Wallis* dengan uji *Mann Whitney*. Perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila nilai $p < 0,05$.

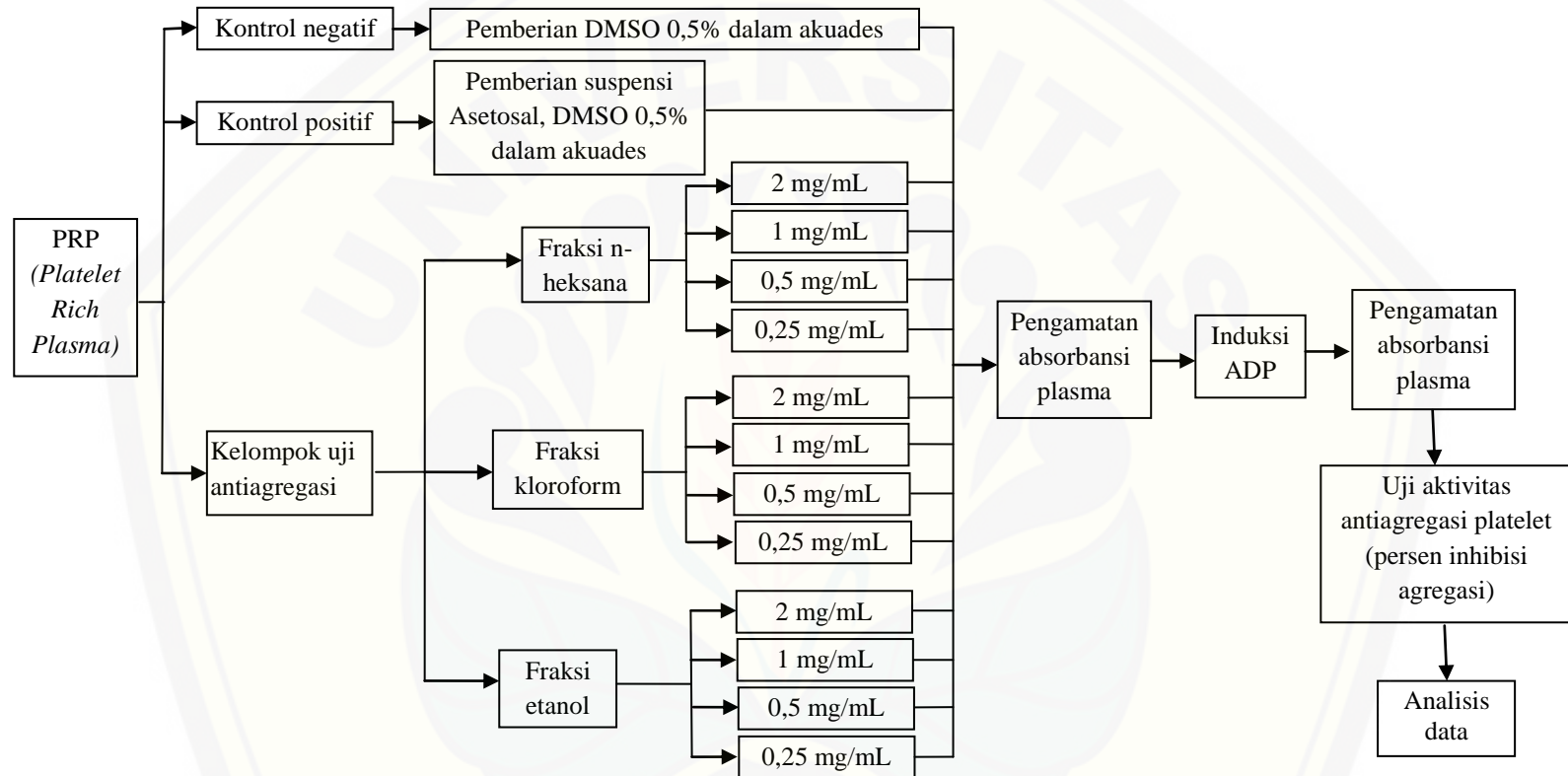
3.8 Skema Pelaksanaan Penelitian

3.8.1 Pembuatan Fraksi



Gambar 3.2 Alur kerja pembuatan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.

3.8.2 Pengujian *in vitro* Antiplatelet



Gambar 3.3 Alur kerja penentuan penurunan agregasi platelet

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Ekstraksi dan Fraksinasi Daun Belimbing Wuluh

Ekstraksi daun belimbing wuluh dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 80%. Pada proses maserasi, simplisia direndam dalam etanol 80% selama 2 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari. Ekstrak cair yang dihasilkan ditampung dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰C 180 rpm kemudian diuapkan dengan oven sehingga dihasilkan ekstrak kental. Ekstrak kental 86,435 gram diperoleh dari 300 gram serbuk kering yang dimaserasi dalam 4L etanol 80%. Rendemen yang dihasilkan sebesar 28,81%. Hasil ekstrak kental dilarutkan dengan etanol 96% dan air hangat dengan perbandingan 1:1. Ekstrak etanol:air selanjutnya dilakukan pemisahan dengan pelarut n-heksana dan kloroform secara berurutan sebanyak 3 kali replikasi dengan perbandingan (1:1). Fase cair n-heksana, kloroform, dan etanol:air diuapkan dengan *rotary evaporator* menghasilkan fraksi kental n-heksana, kloroform, dan fase etanol:akuades yang dipisahkan kembali dalam oven sehingga menghasilkan fraksi kental etanol seperti yang tertera dalam Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil berat fraksi kental dan rendemen daun belimbing wuluh

Fraksi	Berat fraksi kental (gram)	Rendemen (%)
n-heksana	3,970	4,593
kloroform	2,320	2,684
etanol	66,84	77,330

4.1.2 Uji Aktivitas Antiplatelet

Uji aktivitas antiplatelet *in vitro* menggunakan darah manusia sehat untuk mengetahui aktivitas agregasi platelet pada *platelet rich plasma* (PRP). Tujuan penggunaan darah manusia pada penelitian ini adalah untuk mengurangi keragaman

biologis sehingga mengurangi variabel yang bisa mempengaruhi hasil percobaan. Pengamatan aktivitas agregasi platelet pada PRP dapat dilihat dari perubahan absorbansi yang dilakukan pada panjang gelombang 600 nm (Yulinah *et al.*, 2008). Hasil absorbansi awal akan menunjukkan adanya kekeruhan plasma PRP mengandung platelet yang belum teragregasi. Setelah pemberian ADP, serapan plasma akan menurun karena platelet-platelet dalam plasma mulai membentuk agregat kemudian mengendap sehingga kekeruhan plasma berkurang (Yulinah *et al.*, 2008). Jika pada kelompok yang diberi bahan uji terjadi hambatan agregasi atau memiliki efek agregasi platelet maka selisih serapan plasma sebelum dan setelah penambahan ADP akan semakin kecil dan pada obat yang memiliki aktivitas sebagai antiplatelet akan menghambat penurunan nilai absorbansi pada plasma (Yuliet, 2014).

Hasil pengujian aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada beberapa konsentrasi menunjukkan adanya penurunan serapan plasma setelah ditambah ADP (Lampiran A). Nilai rata-rata agregasi platelet yang dihasilkan pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Agregasi platelet pada fraksi daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda.

Kelompok	Konsentrasi	Agregasi Platelet (%)
Kontrol negatif		49,058 ± 3,815 ^a
Fraksi n-heksana	0,25 mg/mL	37,011 ± 0,841 ^b
	0,5 mg/mL	29,017 ± 0,839 ^c
	1 mg/mL	20,544 ± 1,094 ^d
	2 mg/mL	13,584 ± 1,179 ^e
Fraksi kloroform	0,25 mg/mL	35,286 ± 0,814 ^f
	0,5 mg/mL	26,177 ± 0,729 ^g
	1 mg/mL	18,375 ± 0,878 ^h
	2 mg/mL	12,267 ± 1,217 ^e
Fraksi etanol	0,25 mg/mL	30,031 ± 0,566 ⁱ
	0,5 mg/mL	20,109 ± 1,259 ^d
	1 mg/mL	14,864 ± 0,697 ^e
	2 mg/mL	8,358 ± 1,276 ^j
Kontrol positif		5,447 ± 1,219 ^k

Data disajikan dengan rata-rata agregasi platelet ± SD. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan nilai agregasi platelet yang berbeda bermakna menurut uji Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi, maka akan semakin kecil nilai agregasi platelet. Tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet tinggi, di antaranya pertama pada konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi n-heksana sebesar $37,011 \pm 0,841\%$; kedua pada konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi kloroform sebesar $35,286 \pm 0,814\%$; ketiga pada konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi etanol sebesar $30,031 \pm 0,566\%$. Pada pemberian fraksi n-heksana 0,25 mg/mL menunjukkan presentase agregasi tertinggi yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $37,011 \pm 0,841\%$ dibandingkan dengan hasil agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasi yang sama, tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari nilai agregasi kontrol negatif yaitu $49,058 \pm 3,815\%$.

Terdapat tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet rendah, di antaranya pertama pada konsentrasi 2 mg/mL fraksi etanol sebesar $8,358 \pm 1,276\%$; kedua pada konsentrasi 2 mg/mL fraksi kloroform sebesar $12,267 \pm 1,217\%$, konsentrasi 2 mg/mL fraksi n-heksana sebesar $13,584 \pm 1,179\%$, dan konsentrasi 1 mg/mL fraksi etanol sebesar $14,864 \pm 0,697\%$; ketiga pada konsentrasi 1 mg/mL fraksi kloroform sebesar $18,375 \pm 0,878\%$. Sedangkan pada pemberian fraksi etanol 2 mg/mL menunjukkan presentase agregasi terendah yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $8,358 \pm 1,276\%$ jika dibandingkan dengan presentase agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasi yang sama. Berdasarkan data, presentase agregasi pada fraksi etanol daun belimbing wuluh menunjukkan presentase inhibisi yang tinggi pada konsentrasi 2 mg/mL jika dibandingkan dengan konsentrasi pada fraksi lainnya, dengan nilai inhibisi sebesar $82,963\%$.

Hasil analisis menggunakan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol pada beberapa konsentrasi menunjukkan hasil yang normal tetapi tidak homogen, sehingga dilakukan pengujian menggunakan Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan pengujian dengan Mann-Whitney. Hasil pengujian Mann-Whitney antara kelompok fraksi etanol 1 mg/mL dengan kelompok fraksi n-heksana 2 mg/mL; kelompok fraksi etanol 0,5 mg/mL dengan kelompok fraksi n-heksana 1

mg/mL; kelompok fraksi kloroform 2 mg/mL dengan fraksi n-heksana 2 mg/mL yang menunjukkan tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) pada setiap kelompok tersebut, tetapi hasil pada kelompok yang lain yaitu $p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan bermakna presentase agregasi pada setiap kelompok (Lampiran B.4).

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antiplatelet yang diamati yaitu presentase agregasi platelet. Agregasi platelet ini dilakukan untuk melihat pengaruh fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada beberapa konsentrasi pada proses pembentukan agregasi platelet.

Agregasi platelet merupakan kemampuan platelet untuk saling melekat satu sama lain dalam membentuk sumbat (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Pada penelitian ini agregasi dipicu dengan penambahan agonis ADP. Pengamatan pada penurunan serapan plasma dilakukan dengan melihat aktivitas platelet sebelum dan setelah pemberian larutan ADP. Induksi menggunakan ADP menyebabkan platelet teraktivasi. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelial pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granula yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain (Yulinah *et al*, 2008). Pengikatan ADP pada membran platelet dapat mengaktifkan enzim fosfolipase, menghidrolisis fosfolipid untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenase untuk membentuk prostaglandin, yang kemudian akan diubah lagi menjadi tromboksan A₂ oleh tromboksan sintetase. Tromboksan A₂ merupakan penginduksi terjadinya agregasi platelet (Setiabudy, 2009). Koagulasi darah merupakan proses yang berkesinambungan dengan proses agregasi platelet dalam sistem hemostasis untuk membentuk sumbat yang stabil (Selbi *et al.*, 2013) dan proses trombolisis digunakan untuk melisiskan trombus yang telah terbentuk (Murray *et al*, 2009), maka dari itu

perlu dilakukan penelitian selanjutnya tentang aktivitas antikoagulan dan trombolisis fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.

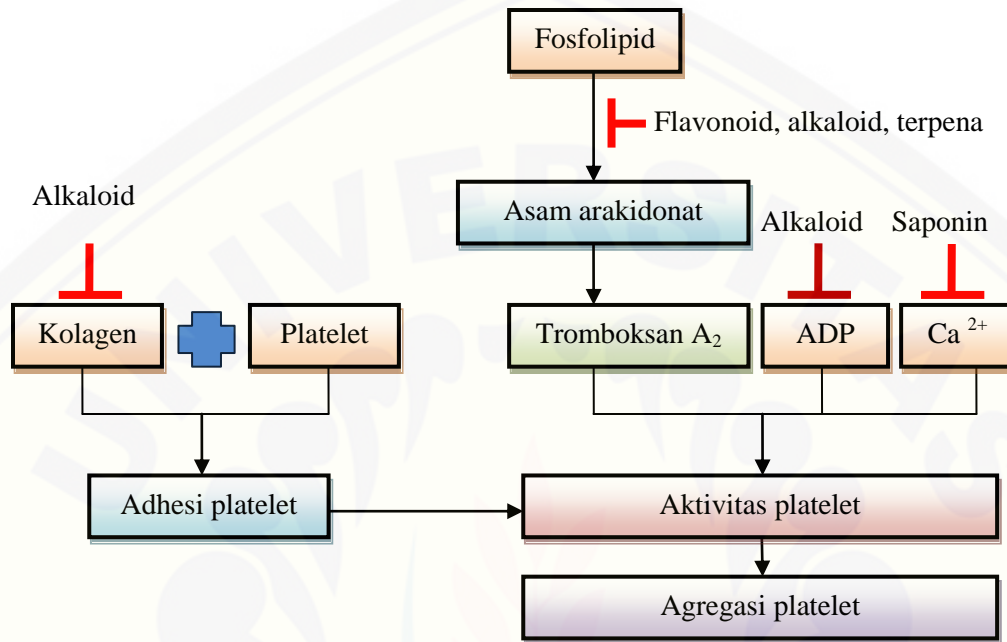
Hasil pengujian pada Tabel 4.2 menunjukkan bahwa aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi dengan penambahan fraksi etanol 2 mg/mL, yaitu persen agregasinya mencapai $8,358 \pm 1,276\%$ dan persen inhibisinya mencapai $82,963\%$, namun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar $5,447 \pm 1,219\%$ dan persen inhibisinya mencapai $88,897\%$. Penelitian yang dilakukan oleh Lubis (2015) menunjukkan fraksi n-heksana kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet terbesar terjadi pada konsentrasi 2 mg/mL, dengan persen agregasi platelet terkecil yaitu $9,490 \pm 0,179\%$ memiliki presentase inhibisi $82,721\%$. Penelitian yang dilakukan oleh Inayah (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL memiliki persen agregasi platelet $13,114 \pm 0,915\%$ dengan presentase inhibisi sebesar $78,56\%$. Fraksi etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet lebih besar daripada ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan fraksi n-heksana kulit batang belimbing wuluh, sehingga perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk pengembangan fraksi etanol daun belimbing wuluh sebagai obat antiplatelet.

Aktivitas antiplatelet yang berperan pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh tidak diketahui secara pasti karena pada penelitian ini tidak dilakukan penapisan fitokimia dari fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh. Menurut penelitian hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid pada fraksi methanol buah belimbing manis (*Averrhoa carambola* L.) menunjukkan hasil positif mengandung senyawa golongan flavonoid dengan intensitas warna kuat (Sukadana, 2009). Karena belimbing wuluh dan belimbing manis merupakan satu genus serta memiliki kekerabatan yang dekat sehingga diduga memiliki kemiripan kandungan senyawa. Metanol dan etanol merupakan pelarut polar dan termasuk pelarut universal, pelarut yang sangat luas digunakan dan efektif untuk ekstraksi komponen-komponen fenolik dari bahan alam (Shahidi, 1997; Astarina, *et al.*, 2013;

Widyasari dan Salamah, 2015). Pada penelitian hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid pada fraksi kloroform buah belimbing manis menunjukkan hasil positif mengandung senyawa golongan flavonoid dengan intensitas sedang (Sukadana, 2009). Pada penelitian Kresnanugraha (2012) hasil identifikasi golongan senyawa pada daun tanaman belimbing wuluh menunjukkan bahwa pada fraksi n-heksana positif terkandung golongan senyawa terpena dan saponin, sedangkan penelitian Sukadana (2009) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa flavonoid pada buah belimbing manis dengan intensitas lemah. Golongan senyawa flavonoid dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat sintesis asam arakidonat (Middleton, 2000) yang menyebabkan sintesis tromboksan A₂ terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat (Morimitsu *et al.*, 2000), begitu juga dengan golongan senyawa terpena yang bekerja menghambat produksi asam arakidonat (Xu *et al.*, 2013) Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam arakidonat, kolagen serta ADP yang dapat menginduksi terjadinya agregasi platelet (Jantan *et al.*, 2006) (Gambar 4.2). Pada keadaan normal kolagen akan berikatan dengan platelet dan menyebabkan adhesi platelet. Platelet yang telah mengalami adhesi selanjutnya dapat mengalami aktivasi. Proses aktivasi platelet dimediasi oleh tromboksan A₂ serta ADP. Tromboksan A₂ akan meningkatkan vasokonstriksi dan kontraksi platelet sehingga aliran darah melambat. ADP akan meningkatkan aktivasi platelet sehingga menarik dan mengaktifkan lebih banyak platelet. Platelet yang aktif (berubah bentuk) akan mudah teragregasi (Despopoulos dan Silbernagl, 2003). Aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005), pada peristiwa agregasi platelet ion kalsium berperan sebagai promotor vasokonstriksi pada pembuluh darah (Grice *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil pengujian fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet. Pada penelitian ini yang digunakan adalah hasil fraksi sehingga senyawa yang memiliki aktivitas antiplatelet belum diketahui secara pasti, maka perlu dilakukan lebih lanjut tentang penapisan fitokimia

dan isolasi golongan senyawa dari fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.



Gambar 4.1 Mekanisme golongan senyawa sebagai antiplatelet (Morimitsu *et al.*, 2000; Jantan *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2005)

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan tentang uji aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antiplatelet.
- b. Aktivitas antiplatelet yang memiliki potensi antiplatelet paling tinggi terjadi pada penambahan fraksi etanol 2 mg/mL pada PRP dimana persen agregasinya $8,358 \pm 1,276\%$ dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar $5,447 \pm 1,219\%$. Aktivitas antiplatelet yang memiliki potensi terendah terjadi pada penambahan fraksi n-heksana 0,25 mg/mL dimana persen agregasinya $37,011 \pm 0,841\%$.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

- a. Penapisan fitokimia kandungan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh;
- b. Uji aktivitas antikoagulan dan trombolisis fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh;
- c. Pengembangan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh sebagai obat antiplatelet.

DAFTAR PUSTAKA

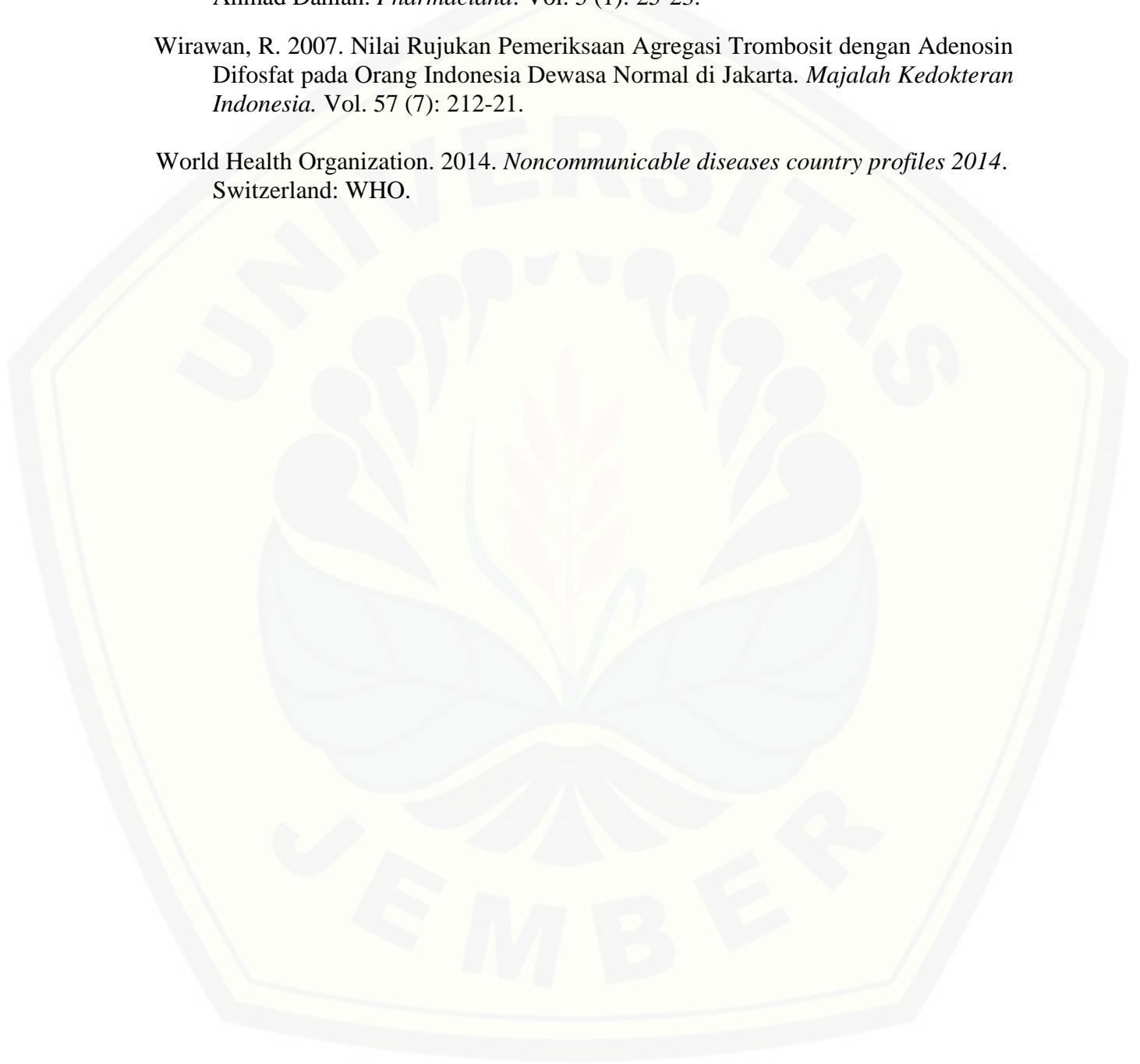
- Arifin, S. 2004. *Aktivitas Fibrinolisis Jus Bawang Putih (Allium sativum) pada Tikus Wistar yang Dipapar Asam Traneksamat*. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Astarina, N. W. G., Astuti, K. W., dan Warditiani, N. K. 2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (Zingiber purpureum Roxb.)*. Jurnal Farmasi Udayana.
- Daud, N., Hashim, H., dan Samsulrizal, N. 2013. Anticoagulant Activity of *Averrhoa bilimbi* L in Normal and Alloxan-Induced Diabetic Rats. *The Open Conference Proceedings Journal*. Vol. 4: 21-26.
- Despopoulos, A. dan Silbernagl, S. 2003. *Color Atlas of Physiology*. 5th Edition. New York: Stuttgart.
- Dewoto, H. R. 2007. Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik, dan Hemostatik. Dalam Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth (Ed.). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Finkel, R., Clark, M. A., dan Cubeddu, L. X. 2009. *Pharmacology Lippincott's Illustrated Reviews*. 4th Edition. Philadelphia: Wolters Kluwer Health.
- Grice, D., Rogers, K. L., dan Griffith, L. R. 2010. Isolation of Bioactive Compounds that Relate to The Anti-Platelet Activity of *Cymbopogon ambiguus*. *eCAM Advance Access*. Vol. 10: 1-8.
- Gross, P. L. dan Weitz, J. I. 2009. New Antithrombotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. Vol. 86 (2): 139-146.
- Halim, S. L. 2006. Tes Agregasi untuk Pencegahan Penyakit Kardiovaskuler. *Meditek*. Vol. 14 (38): 37-44.
- Hasanuzzaman, Ali R., Hossain R., Kuri S., dan Islam M. S. 2013. Evaluation of Total Phenolic Content, Free Radical Scavenging Activity and Phytochemical Screening of Different Extracts of *Averrhoa bilimbi*. *International Current Pharmaceutical Journal*. Vol. 2 (4): 92-96.
- Inayah, P. W. 2015. Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Integrated Taxonomic Information System (ITIS).2014. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506370. [29Maret 2015]
- Jantan, Jumuddin, Saputri, dan Rahman. 2011. Inhibition Effects of the Extracts of *Garcinia* Species on Human Low-density Lipoprotein Peroxidation and Platelet Agregation in Reletion to Their Total Phenolic Contents. *Medical Plants*. Vol. 5 (13): 2699-2709.
- Jantan, Raweh, Yasin, dan Murad. 2006. Antiplatelet Activity of Aporphine and Phenanthrenoid Alkaloids from *Aromadendron elegans* Bulme. *Phytotherapy Research*. Vol. 20 (6): 493-496.
- Jung-Ok, L., Chulyoung, K., Seung-Woo, L., dan Min-Ho, O. 2010. Antiplatelet and Antithrombotic Activities of *Lindera obtusiloba* Extract *in vitro* and *in vivo*. *Biomolecules & Therapeutics*. Vol: 18 (2), 205-210.
- Katzung, B. G. 2002. Obat-obat yang Digunakan pada Gangguan-gangguan Pembekuan Darah, *In: Basic & Clinical Pharmacology*. 8th Edition. United States of America: McGraw-Hill,Inc.
- Kresnanugraha, Y. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Aktif. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.
- Kumar, Gousia, Anupama, dan Latha. 2013. A Review on Phytochemical Constituents and Biological Assays of *Averrhoa bilimbi*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research*. Vol. 3 (4): 136-139.
- Latief, M., Tafzi, F., dan Saputra, A. 2013. Aktivitas Antioksi dan Ekstrak Metanol Beberapa Bagian Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*) Asal Kabupaten Kerinci Provinsi Jambi. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 233-236.
- Lee, J. H., Jeong, S. M., dan Lee, B. H. 2005. Effect of Calmodulin on Ginseng Saponin-Induced Ca²⁺-Activated Cl) Channel Activation in *Xenopus Laevis* Oocytes. *Archieve Pharmacy Research*. Vol. 28: 413–20.
- Lubis, A. N. 2015. Uji Aktivitas *in vitro* Antiplatelet dan Antikoagulan Fraksi n-Heksana Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

- Middleton, E., Chithan, K., dan Theoharis, C. T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 52 (4): 673-751.
- Morimitsu, Y., Hayashi, K., Nakagawa, Y., Fujii, H., Horio, F., Uchida, K., dan Osawa, T. 2000. Antiplatelet and Anticancer Isothiocyanates in Japanese Domestic Horseradish, Wasabi. *Mechanism of Ageing Development*. Vol. 116 (2-3): 125-134.
- Moriyama, Hosoe, Wakana, Itabashi, Kawai, Iizuka, Hoshi, Fukushima, dan Lau. 2009. Assay-guided Informatory Screening Method for Antiplatelet Effect of Adenosine Isolated from *Malbranchea filamentosa* IFM 41300: Inhibitory Behaviors of Adenosine in Different Solvents. *Journal of Health Science*. Vol. 55 (1): 103-108.
- Mufidah, M. A., Manggau, G. A., Bahar, M. A., Kasim, S., dan Rusdi, S. 2012. Efek Antiagregasi Platelet Fraksi Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. Vol. 16 (1): 51-54.
- Murray, R. K., Granner, D. K., dan Rodwell, V. W. 2009. *Biokimia Harper*. Alih bahasa oleh Brahm U. Pendit. Edisi 27. Jakarta: EGC.
- Mycek, Mary J., Richard A. H., dan Pamela C. C., 2001. Obat-obat yang Mempengaruhi Darah, Farmakologi Ulasan Bergambar. Edisi Kedua. Jakarta: Widya Medika.
- Neal M. J. 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.
- Oyama, E. dan Takahashi, H. 2015. Purification and Characterization of Two Platelet-aggregation Inhibitors, Named Angustatin and H-toxin TA2, from The Venom of *Dendroaspis angusticeps*. *CrossMark*. Vol. 93: 61-67.
- Putri, R. R. R. F., Ulfa, E. U., dan Riyanti, R. 2014. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 2 (1): 111-114.
- Qayyum, R., Becker, M. D., Yanek, R. L., Faraday, N., Vaidya, D., Mathias, R., Kral, G. B., dan Becker, C. L. 2015. Greater Collagen-Induced Platelet Aggregation Following Cyclooxygenase1 Inhibition Predicts Incident Acute Coronary Syndromes. *Cts journal*. Vol. 8 (1): 17-22.

- Rofikayati, N. N. 2014. Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Anggur (*Vitis vinifera* L.) dan Fraksi-Fraksinya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Saraf, F., Benzalha, I., dan Gorog, D. A. 2009. Antiplatelet Resistance-Does it Exist and How to Measure it. *Clinical Medicine: Cardiology*. Vol. 3: 77-91.
- Selbi, R., Black B., Brnjac, E., Lin Y., James, P., Moffat K., dan Sholzberg, M. 2013. *Bloody Easy Coagulation Simplified*. Belanda: Ontario Regional Blood Coordinating Network (ORBCON).
- Setiabudy, R. D. 2009. *Hemostasis dan Trombosis*. Edisi Keempat. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidants: An Overview. Dalam Shahidi (eds). *Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Application*. AOCS Press, Champaign, Illinois.
- Siddique, Uddin, Islam, Parvin, dan Shahriar. 2013. Phytochemical Screenings, Thrombolytic Activity and Antimicrobial Properties of The Bark Extracts of *Averrhoa bilimbi*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 3 (3): 094-096.
- Stringer, J. L. 2008. *Konsep Dasar Farmakologi*. Edisi Ketiga. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Sukadana, I. M. 2009. Senyawa Antibakteri Golongan Flavonoid dari Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* Linn.L). Bukit Jimbaran: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana. Vol. 3 (2): 109-116.
- Vogel, H. G. (Ed.). 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays*. 2nd Edition. Berlin: Springer.
- Xu, K., Wang, P., Yuan, B., Cheng, Y., Li, X., dan Lei, H. 2013. Structural and bioactive studies of terpenes and cyclopeptides from the Genus *Rubia*. *Chemistry central journal*. Vol 7: 81.
- Yuliet, Yusriadi, dan Risah, I. 2014. Aktivitas Anti Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA) XVI*
- Yulinah S. E., Joseph I. S., dan Nurul F. 2008. Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dan Kombinasinya pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. *JKM*. Vol.7 (2): 1-18.

- Widyasari, E. Dan Salamah, N. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2'-Difenil-1-Pikrilhidrazil. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. *Pharmaciana*. Vol. 5 (1): 25-23.
- Wirawan, R. 2007. Nilai Rujukan Pemeriksaan Agregasi Trombosit dengan Adenosin Difosfat pada Orang Indonesia Dewasa Normal di Jakarta. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol. 57 (7): 212-21.
- World Health Organization. 2014. *Noncommunicable diseases country profiles 2014*. Switzerland: WHO.



LAMPIRAN

Lampiran A. Data Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet

A.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 0,5% DMSO)

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,448	0,209	53,348
2	0,440	0,225	48,864
3	0,421	0,202	52,019
4	0,402	0,226	43,781
5	0,423	0,223	47,281
Rata-rata±SD	0,427 ± 0,018	0,217 ± 0,011	49,058 ± 3,815

A.2 Konsentrasi 0,25 mg/mL

Replikasi	Fraksi n-Heksana Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,350	0,225	35,714
2	0,363	0,226	37,741
3	0,324	0,204	37,037
4	0,421	0,262	37,767
5	0,356	0,225	36,797
Rata-rata±SD	0,363 ± 0,036	0,228 ± 0,021	37,011 ± 0,841

Fraksi Kloroform

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,419	0,273	34,845
2	0,494	0,325	34,210
3	0,362	0,232	35,912
4	0,356	0,227	36,236
5	0,352	0,228	35,227
Rata-rata±SD	0,397 ± 0,061	0,257 ± 0,042	35,286 ± 0,814

Fraksi Etanol

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,325	0,227	30,154
2	0,290	0,203	30,000
3	0,318	0,220	30,817
4	0,325	0,320	29,231
5	0,414	0,290	29,952
Rata-rata±SD	0,334 ± 0,047	0,252 ± 0,050	30,031 ± 0,566

A.3 Konsentrasi 0,5 mg/mL

Fraksi n-Heksana

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,317	0,227	28,391
2	0,393	0,280	28,753
3	0,327	0,229	29,969
4	0,295	0,212	28,135
5	0,305	0,214	29,836
Rata-rata±SD	0,327 ± 0,038	0,232 ± 0,027	29,017 ± 0,839

Fraksi Kloroform

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,449	0,328	26,948
2	0,317	0,232	26,814
3	0,330	0,247	25,151
4	0,308	0,228	25,974
5	0,400	0,296	26,000
Rata-rata±SD	0,361 ± 0,061	0,266 ± 0,044	26,177 ± 0,729

Fraksi Etanol

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,415	0,338	18,554
2	0,284	0,230	19,014
3	0,422	0,334	20,853
4	0,436	0,346	20,642
5	0,391	0,307	21,483
Rata-rata±SD	0,390 ± 0,061	0,311 ± 0,047	20,109 ± 1,259

A.4 Konsentrasi 1 mg/mL

Fraksi n-Heksana

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,466	0,377	19,098
2	0,445	0,355	20,225
3	0,290	0,227	21,724
4	0,262	0,334	21,556
5	0,338	0,270	20,118
Rata-rata±SD	0,360 ± 0,091	0,313 ± 0,062	20,544 ± 1,094

Fraksi Kloroform			
Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,360	0,297	17,500
2	0,329	0,270	17,933
3	0,389	0,312	19,794
4	0,420	0,344	18,095
5	0,415	0,338	18,554
Rata-rata±SD	0,383 ± 0,038	0,312 ± 0,030	18,375 ± 0,878

Fraksi Etanol			
Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,226	0,225	15,413
2	0,414	0,357	13,768
3	0,302	0,258	14,569
4	0,374	0,317	15,241
5	0,274	0,232	15,328
Rata-rata±SD	0,318 ± 0,076	0,278 ± 0,057	14,864 ± 0,697

A.5 Konsentrasi 2 mg/mL

Fraksi n-Heksana			
Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,429	0,377	12,121
2	0,317	0,374	15,241
3	0,439	0,378	13,895
4	0,326	0,281	13,804
5	0,350	0,305	12,857
Rata-rata±SD	0,372 ± 0,057	0,343 ± 0,046	13,584 ± 1,179

Fraksi Kloroform			
Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,382	0,335	12,304
2	0,398	0,344	13,568
3	0,344	0,298	13,372
4	0,330	0,294	10,909
5	0,304	0,270	11,184
Rata-rata±SD	0,352 ± 0,038	0,308 ± 0,031	12,267 ± 1,217

Fraksi Etanol			
Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,377	0,346	8,223
2	0,486	0,441	9,259
3	0,350	0,327	6,571
4	0,457	0,421	7,877
5	0,436	0,393	9,862
Rata-rata±SD	0,421 ± 0,056	0,386 ± 0,048	8,358 ± 1,276

A.6 Kontrol positif (Asetosal 1 mg/mL)

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,282	0,270	4,255
2	0,351	0,328	6,552
3	0,330	0,308	6,666
4	0,389	0,373	4,113
5	0,454	0,334	5,649
Rata-rata±SD	0,361 ± 0,065	0,323 ± 0,037	5,447 ± 1,219

Lampiran B. Hasil Analisis Data Uji Aktivitas Antiplatelet

B.1 Uji Normalitas

Tests of Normality							
perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nilaiagregasi	kontrol negatif	.181	5	.200 [*]	.967	5	.855
	kontrol positif	.236	5	.200 [*]	.852	5	.201
	etanol 2000	.160	5	.200 [*]	.975	5	.907
	etanol 1000	.306	5	.143	.837	5	.157
	etanol 500	.264	5	.200 [*]	.901	5	.416
	etanol 250	.245	5	.200 [*]	.950	5	.738
	kloroform 2000	.218	5	.200 [*]	.888	5	.348
	kloroform 1000	.225	5	.200 [*]	.909	5	.461
	kloroform 500	.209	5	.200 [*]	.918	5	.519
	kloroform 250	.179	5	.200 [*]	.971	5	.881
	n-heksana 2000	.196	5	.200 [*]	.972	5	.886
	n-heksana 1000	.222	5	.200 [*]	.914	5	.491
	n-heksana 500	.235	5	.200 [*]	.874	5	.282
	n-heksana 250	.207	5	.200 [*]	.895	5	.383

a. Lilliefors Significance Correction
^{*}. This is a lower bound of the true significance.

B.2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
nilaiagregasi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.712	13	56	.000

B.3 Uji Kruskal-Wallis

Ranks		
nilaiagregasi	perlakuan	Mean Rank
	kontrol negatif	68.00
	kontrol positif	3.20
	etanol 2000	7.80
	etanol 1000	22.10
	etanol 500	34.30
	etanol 250	52.40
	kloroform 2000	14.00
	kloroform 1000	28.70
	kloroform 500	43.00
	kloroform 250	58.40
	n-heksana 2000	17.90
	n-heksana 1000	36.00
	n-heksana 500	48.60
	n-heksana 250	62.60
	Total	70

Test Statistics ^{a,b}	
	nilaiagregasi
Chi-Square	68.074
df	13
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: perlakuan

B.4 Uji Mann-Whitney

Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.
0-1	0,009	1-0	0,009	2-0	0,009
0-2	0,009	1-2	0,016	2-1	0,016
0-3	0,005	1-3	0,009	2-3	0,009
0-4	0,009	1-4	0,009	2-4	0,009
0-5	0,009	1-5	0,009	2-5	0,009
0-6	0,009	1-6	0,009	2-6	0,009
0-7	0,009	1-7	0,009	2-7	0,009
0-8	0,009	1-8	0,009	2-8	0,009
0-9	0,009	1-9	0,009	2-9	0,009
0-10	0,009	1-10	0,009	2-10	0,009
0-11	0,009	1-11	0,009	2-11	0,009
0-12	0,009	1-12	0,009	2-12	0,009
0-13	0,009	1-13	0,009	2-13	0,009

Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.
3-0	0,005	4-0	0,009	5-0	0,009
3-1	0,009	4-1	0,016	5-1	0,009
3-2	0,009	4-2	0,009	5-2	0,009
3-4	0,009	4-3	0,009	5-3	0,009
3-5	0,009	4-5	0,009	5-4	0,009
3-6	0,009	4-6	0,009	5-6	0,009
3-7	0,009	4-7	0,036	5-7	0,009
3-8	0,009	4-8	0,009	5-8	0,009
3-9	0,009	4-9	0,009	5-9	0,009
3-10	0,094	4-10	0,009	5-10	0,009
3-11	0,009	4-11	0,465	5-11	0,009
3-12	0,009	4-12	0,009	5-12	0,047
3-13	0,009	4-13	0,009	5-13	0,009

Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.
6-0	0,009	7-0	0,009	8-0	0,009
6-1	0,009	7-1	0,009	8-1	0,009
6-2	0,009	7-2	0,009	8-2	0,009
6-3	0,009	7-3	0,009	8-3	0,009
6-4	0,009	7-4	0,036	8-4	0,009
6-5	0,009	7-5	0,009	8-5	0,009
6-7	0,009	7-6	0,009	8-6	0,009
6-8	0,009	7-8	0,009	8-7	0,009
6-9	0,009	7-9	0,009	8-9	0,009
6-10	0,117	7-10	0,009	8-10	0,009
6-11	0,009	7-11	0,016	8-11	0,009
6-12	0,009	7-12	0,009	8-12	0,009
6-13	0,009	7-13	0,009	8-13	0,009

Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.
9-0	0,009	10-0	0,009	11-0	0,009
9-1	0,009	10-1	0,009	11-1	0,009
9-2	0,009	10-2	0,009	11-2	0,009
9-3	0,009	10-3	0,094	11-3	0,009
9-4	0,009	10-4	0,036	11-4	0,465
9-5	0,009	10-5	0,009	11-5	0,009

9-6	0,009	10-6	0,117	11-6	0,009
9-7	0,009	10-7	0,009	11-7	0,016
9-8	0,009	10-8	0,009	11-8	0,009
9-10	0,009	10-9	0,009	11-9	0,009
9-11	0,009	10-11	0,016	11-10	0,009
9-12	0,009	10-12	0,009	11-12	0,009
9-13	0,028	10-13	0,009	11-13	0,009

Kelompok	Asymp.Sig.	Kelompok	Asymp.Sig.
12-0	0,009	13-0	0,009
12-1	0,009	13-1	0,009
12-2	0,009	13-2	0,009
12-3	0,009	13-3	0,009
12-4	0,009	13-4	0,009
12-5	0,047	13-5	0,009
12-6	0,009	13-6	0,009
12-7	0,009	13-7	0,009
12-8	0,009	13-8	0,009
12-9	0,009	13-9	0,028
12-10	0,009	13-10	0,009
12-11	0,009	13-11	0,009
12-13	0,009	13-12	0,009

Kelompok 0:1 (Kontrol negatif : kontrol positif)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kontrol positif	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	Nilai agregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0 : 2 (Kontrol negatif : Etanol 2mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai agregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	etanol 2000	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilai agregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0 : 3 (Kontrol negatif : Etanol 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai agregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	etanol 1000	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Nilai agregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0 : 4 (Kontrol negatif : Etanol 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai agregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	etanol 500	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilai agregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:5 (Kontrol negatif : Etanol 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai agregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	etanol 250	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:6 (Kontrol negatif : Kloroform 2mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:7 (Kontrol negatif : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:8 (Kontrol negatif : Kloroform 0,5mg/mL)

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kloroform 500	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:9 (Kontrol negatif : Kloroform 0,25mg/mL)

Mann-Whitney Test

		Ranks		
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	kloroform 250	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:10 (Kontrol negatif : n-Heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:11 (Kontrol negatif : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:12 (Kontrol negatif : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	n-heksana 500	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 0:13 (Kontrol negatif : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Nilaiagregasi	kontrol negatif	5	8.00	40.00
	n-heksana 250	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:2 (Kontrol positif : Etanol 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.20	16.00
	etanol 2000	5	7.80	39.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:3 (Kontrol positif : Etanol 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	etanol 1000	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:4 (Kontrol positif : Etanol 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

		perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif		5	3.00	15.00
	etanol 500		5	8.00	40.00
	Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:5 (Kontrol positif : Etanol 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

		perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif		5	3.00	15.00
	etanol 250		5	8.00	40.00
	Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:6 (Kontrol positif : Kloroform 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	kloroform 2000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:7 (Kontrol positif : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	kloroform 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:8 (Kontrol positif : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:9 (Kontrol positif : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:10 (Kontrol positif : n-heksana 2mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	n-heksana 2000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:11 (Kontrol positif : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	n-heksana 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:12 (Kontrol positif : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 1:13 (Kontrol positif : n-heksana 0.25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kontrol positif	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:3 (Etanol 2 mg/mL : Etanol 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	etanol 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:4 (Etanol 2 mg/mL : Etanol 0,5mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	etanol 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:5 (Etanol 2 mg/mL : Etanol 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	etanol 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:6 (Etanol 2 mg/mL : Kloroform 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 2000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:7 (Etanol 2 mg/mL : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:8 (Etanol 2 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:9 (Etanol 2 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:10 (Etanol 2 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 2000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:11 (Etanol 2 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:12 (Etanol 2 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 2:13 (Etanol 2 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:4 (Etanol 1 mg/mL : Etanol 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	etanol 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:5 (Etanol 1 mg/mL : Etanol 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	etanol 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:6 (Etanol 1 mg/mL : Kloroform 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	8.00	40.00
	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:7 (Etanol 1 mg/mL : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	kloroform 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:8 (Etanol 1 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:9 (Etanol 1 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:10 (Etanol 1 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	7.10	35.50
	n-heksana 2000	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.676
Asymp. Sig. (2-tailed)	.094
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:11 (Etanol 1 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:12 (Etanol 1 mg/mL : n-heksana 0.5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 3:13 (Etanol 1 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:5 (Etanol 0,5 mg/mL : Etanol 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	3.00	15.00
	etanol 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:6 (Etanol 0,5 mg/mL : Kloroform 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	8.00	40.00
	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:7 (Etanol 0,5 mg/mL : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	7.50	37.50
	kloroform 1000	5	3.50	17.50
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	17.500
Z	-2.095
Asymp. Sig. (2-tailed)	.036
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:8 (Etanol 0,5 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:9 (Etanol 0,5 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:10 (Etanol 0,5 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:11 (Etanol 0,5 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	4.80	24.00
	n-heksana 1000	5	6.20	31.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:12 (Etanol 0,5 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 4:13 (Etanol 0,5 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 500	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:6 (Etanol 0,25 mg/mL : Kloroform 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	8.00	40.00
	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:7 (Etanol 0,25 mg/mL : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	8.00	40.00
	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:8 (Etanol 0,25 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	8.00	40.00
	kloroform 500	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:9 (Etanol 0,25 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:10 (Etanol 0,25 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:11 (Etanol 0,25 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	8.00	40.00
	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:12 (Etanol 0,25 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	7.40	37.00
	n-heksana 500	5	3.60	18.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	18.000
Z	-1.984
Asymp. Sig. (2-tailed)	.047
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.056 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 5:13 (Etanol 0,25 mg/mL : n-heksana 0,25mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	etanol 250	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:7 (Kloroform 2 mg/mL : Kloroform 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:8 (Kloroform 2 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:9 (Kloroform 2 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:10 (Kloroform 2 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	4.00	20.00
	n-heksana 2000	5	7.00	35.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	5.000
Wilcoxon W	20.000
Z	-1.567
Asymp. Sig. (2-tailed)	.117
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:11 (Kloroform 2 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 1000	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:12 (Kloroform 2 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 6:13 (Kloroform 2 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:8 (Kloroform 1 mg/mL : Kloroform 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	kloroform 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:9 (Kloroform 1 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:10 (Kloroform 1 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:11 (Kloroform 1 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	3.20	16.00
	n-heksana 1000	5	7.80	39.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-2.402
Asymp. Sig. (2-tailed)	.016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.016 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:12 (Kloroform 1 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 7:13 (Kloroform 1 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 8:9 (Kloroform 0,5 mg/mL : Kloroform 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 500	5	3.00	15.00
	kloroform 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 8:10 (Kloroform 0,5 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 500	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 8:11 (Kloroform 0,5 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 500	5	8.00	40.00
	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 8:12 (Kloroform 0,5 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 500	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 8:13 (Kloroform 0,5 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 500	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 9:10 (Kloroform 0,25 mg/mL : n-heksana 2 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 250	5	8.00	40.00
	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 9:11 (Kloroform 0,25 mg/mL : n-heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 250	5	8.00	40.00
	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 9:12 (Kloroform 0,25 mg/mL : n-heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 250	5	8.00	40.00
	n-heksana 500	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 9:13 (Kloroform 0,25 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	kloroform 250	5	3.40	17.00
	n-heksana 250	5	7.60	38.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	17.000
Z	-2.193
Asymp. Sig. (2-tailed)	.028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.032 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 10:11 (n-Heksana 2 mg/mL : n-Heksana 1 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 1000	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 10:12 (n-Heksana 2 mg/mL : n-Heksana 0,5 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 10:13 (n-Heksana 2 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 2000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 11:12 (n-Heksana 1 mg/mL : n-heksana 0,5mg/mL)

Mann-Whitney Test

Ranks

perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 500	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 11:13 (n-Heksana 1 mg/mL : n-heksana 0,25mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 1000	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan

Kelompok 12:13 (n-Heksana 0,5 mg/mL : n-heksana 0,25 mg/mL)

Mann-Whitney Test**Ranks**

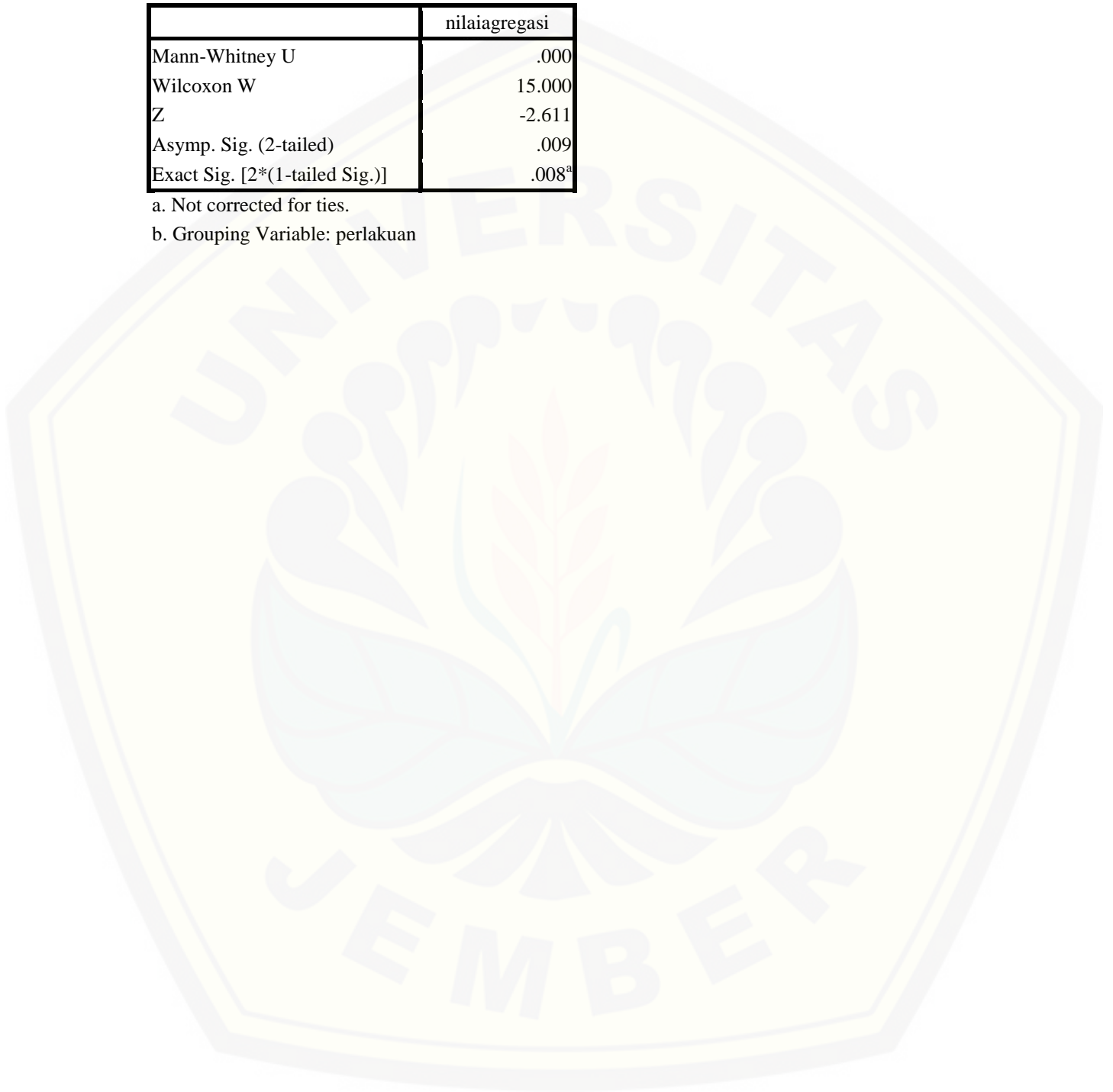
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilaiagregasi	n-heksana 500	5	3.00	15.00
	n-heksana 250	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	nilaiagregasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan



Lampiran C. Lembar Persetujuan Etik



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JEMBER
KOMISI ETIK PENELITIAN**

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877
Jember 68121 Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK
ETHICAL APPROVA

Nomor : *et* /H25.1.11/KE/2015

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA, KLOOROFORM, DAN ETANOL
DAUN BELIMBING WULUH (*AVERRHOA BILIMBING*) IN VITRO**

Nama Peneliti Utama : Ichlasul Amalia Erfani (Nim :112210101060)
Name of the principal investigator

Nama Institusi : Fakultas Farmasi Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.



2015

dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

- Prosedur ekstraksi perlu diperhatikan kontrol kualitasnya agar didapat ekstrak yg sesuai
- Perlu diperhatikan kontrol kualitas uji agregasi dan kalibrasi alat



2015

Nama: dr. Rini Riyanti, Sp.PK

