



**EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA (*Mangifera indica* L.)
ARUMANIS TERHADAP LAMA PERDARAHAN
MENCIT PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

Oleh

**Komang Dewi Fridayanti
NIM 122010101038**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA (*Mangifera indica* L.)
ARUMANIS TERHADAP LAMA PERDARAHAN
MENCIT PUTIH JANTAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

**Komang Dewi Fridayanti
NIM 122010101038**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Sang Hyang Widhi Wasa atas limpahan rahmat-Nya dalam setiap langkah;
2. Ibunda I Gst. Ayu Putu Suci Asmari dan Ayahanda I Ketut Royong tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, bimbingan, kasih sayang tiada henti serta pengorbanan yang telah dilakukan setiap waktu;
3. kakak-kakak tersayang, Putu Ayu Suryaningsih dan Kadek Edi Saputra yang selalu memberikan dukungan dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;
4. guru-guru dari taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi, yang telah memberikan ilmu dan mendidik saya dengan penuh kesabaran untuk menjadikan saya manusia yang berilmu dan bertakwa;
5. Almamater yang saya banggakan, Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Bagaikan keadaan ilalang muda yang tajam, akan tidak tajam lagi di masa tuanya.
Demikianlah hendaknya kebajikan/kebenaran, harta dan ilmu pengetahuan itu dikejar
sedini mungkin, pada masa muda yang sehat.
(terjemahan Kitab Sarasamuscaya Sloka 27)^{*)}

atau

Though men be endowed with beauty and youth and born in noble families, yet
without education they are like the palasa flower which is void of sweet fragrance.
(terjemahan Chanakya Niti Sastra Bab III Sloka 8)^{**)}

^{*)} Kajeng, I Nyoman. 1997. *Sarasamuscaya*. Jakarta: Hanuman Sakti.

^{**)} Davis, Miles. 1981. [on line]. *Chanakya Niti Sastra*.
http://sanskritdocuments.org/all_pdf/chaaNakyaNiti.pdf.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Komang Dewi Fridayanti

NIM : 122010101038

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 7 Januari 2016
Yang menyatakan,

Komang Dewi Fridayanti
NIM 122010101038

SKRIPSI

EFEK EKSTRAK KULIT MANGGA (*Mangifera indica* L.) ARUMANIS TERHADAP LAMA PERDARAHAN MENCIT PUTIH JANTAN

Oleh

Komang Dewi Fridayanti
NIM 122010101038

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama (DPU) : dr. Cicih Komariah, Sp. M

Dosen Pembimbing Anggota (DPA) : dr. Jauhar Firdaus

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 7 Januari 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Penguji I

Penguji II

dr. Rini Riyanti, Sp. PK
NIP 197203281999032001

dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed
NIP 198212112008122002

Penguji III

Penguji IV

dr. Cicih Komariah, Sp. M
NIP 197409282005012001

dr. Jauhar Firdaus
NIP 198301252008121001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Enny Suswati, M. Kes.
NIP 197002141999032001

RINGKASAN

Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan; Komang Dewi Fridayanti, 122010101038; 2016; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Tubuh memiliki satu mekanisme pertahanan dalam menghentikan perdarahan yang disebut dengan hemostasis melalui pelepasan tromboksan A₂. Pelepasan tromboksan A₂ yang disintesis oleh enzim siklooksigenase 1 (COX-1) menyebabkan lebih banyak platelet yang menuju ke daerah cedera atau disebut agregasi platelet. Meskipun agregasi platelet seharusnya merupakan respons fisiologis tetapi proses tidak terkontrol dapat menyebabkan pembentukan trombus, penyempitan pembuluh darah, iskemia, dan infark. Aspirin adalah obat antiplatelet yang bekerja dengan cara menghambat secara ireversibel enzim siklooksigenase 1 dan merupakan salah satu pilihan obat anti agregasi platelet. Namun penggunaan aspirin menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti perdarahan gaster, nyeri epigastrium, mual dan muntah. Karena efek samping dari obat antiplatelet tersebut, dikembangkanlah terapi antiplatelet yang berasal dari produk alami.

Mangga (*Mangifera indica* L.) adalah buah tropikal dengan nilai nutrisi dan nilai medis yang tinggi. Penelitian mengenai ekstrak masing-masing bagian tumbuhan mangga telah banyak dilakukan, mulai dari penelitian mengenai ekstrak kulit batang mangga hingga kulit buah mangga. Kulit mangga setelah diteliti ternyata mengandung senyawa aktif penting seperti mangiferin, flavonoid, asam fenol, karotenoid, *dietary fibre*, dan beberapa enzim aktif. Flavonoid adalah senyawa fenol yang diteliti memiliki banyak fungsi di bidang medis, salah satunya sebagai antioksidan dan antibakteri. Penelitian lain bahkan menunjukkan bahwa senyawa flavonoid juga mampu bekerja menghambat tromboksan A₂ melalui jalur penghambatan enzim siklooksigenase 1 (COX-1).

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true eksperimental* yang dilaksanakan pada bulan November 2015 di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi dan pada bulan Desember 2015 di Laboratorium Biomed Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Sampel yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) putih jantan dengan berat 25-30 gram yang berumur 2-3 bulan. Jumlah sampel adalah 28 ekor mencit yang dibagi kedalam 7 kelompok perlakuan, yaitu: kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC Na 1%, kelompok kontrol positif yang diberi aspirin, dan 5 kelompok yang diberikan ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sesuai dengan dosis (1.05 mg/grBB; 2.10 mg/grBB; 4.20 mg/grBB; 8.40 mg/grBB; 16.80 mg/grBB). Seluruh perlakuan diberikan 1 kali sehari selama 7 hari. Pada hari ketujuh, 5 jam setelah pemberian ekstrak terakhir, dilakukan pemeriksaan lama perdarahan pada mencit. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak kulit mangga dan variabel terikat adalah lama perdarahan pada mencit. Analisis data yang digunakan adalah uji *Kruskal Wallis* dengan *post hoc* uji *Mann Whitney*.

Dari hasil analisis data penelitian diperoleh bahwa terdapat perbedaan signifikan antar masing-masing kelompok perlakuan dengan hasil uji *Kruskal Wallis* signifikan, dengan nilai signifikan (p) 0.033 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan adanya efek pemberian ekstrak kulit mangga arumanis terhadap peningkatan lama perdarahan pada mencit putih jantan. Untuk rata-rata lama perdarahan terpanjang terdapat pada kelompok perlakuan 5 (P5) yang diberikan dosis ekstrak kulit mangga tertinggi, yaitu 16.8 mg ekstrak/gr BB mencit, dengan rata-rata waktu perdarahan 1789.25 detik.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Sang Hyang Widhi Wasa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica L.*) Arumanis terhadap Lama Perdarahan Mencit Putih Jantan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Enny Suswati, M. Kes. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Al Munawir, M. Kes., Ph.D selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. dr. Cicih Komariah, Sp. M selaku Dosen Pembimbing Utama dan dr. Jauhar Firdaus selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian beliau dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Rini Riyanti, Sp. PK dan dr. Desie Dwi Wisudanti, M. Biomed selaku Dosen Penguji yang banyak memberikan kritik, saran, dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. seluruh staf pengajar dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Jember atas bimbingan serta bantuannya selama ini;
6. Ayahanda I Ketut Royong, S. Pt dan Ibunda Ir. Gusti Ayu Putu Suci Asmari tercinta yang tak henti-hentinya selalu memberikan doa dan dukungannya, menjadi sumber inspirasi bagi penulis untuk terus mengejar cita-cita dan memberikan yang terbaik;
7. kakak Putu Ayu Suryaningsih dan Kadek Edi Saputra serta seluruh keluarga besar yang selalu memberi doa, motivasi, suntikan semangat dan dukungan yang tak pernah putus selama penulisan tugas akhir ini;

8. rekan kerja sekaligus sahabat Rosita Sopwi Nur Lailly dan Ongky Dyah Anggraini yang telah membantu, mendampingi, dan memberikan semangat yang tak henti dari awal hingga selesainya skripsi ini;
9. keluarga Besar TBM Vertex, atas kesempatan menjadi bagian dari persaudaraan yang hebat ini, yang telah menjadi rumah dan keluarga, semoga tetap jaya selalu;
10. keluarga Besar PANACEA FK UNEJ 2012 yang telah menuliskan berbagai catatan tak terlupakan dalam kesejawatan ini;
11. semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

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

Jember, Januari 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUNG	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Hemostasis	4
2.2 Pemeriksaan pada Hemostasis	8
2.3 Kelainan Hemostasis	10
2.3 Farmakologi Antitrombosis	13
2.4 Manga	15
2.5 Kerangka Konsep	20
2.6 Hipotesis	20

BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	21
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.3 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Cara Sampling	21
3.4 Variabel Penelitian	22
3.5 Definisi Operasional	23
3.6 Rancangan Penelitian	24
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	25
3.8 Prosedur Penelitian	26
3.9 Analisis Data	30
3.10 Alur Penelitian	31
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	32
4.2 Pembahasan	38
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN A	51
LAMPIRAN B	53
LAMPIRAN C	54
LAMPIRAN D	56
LAMPIRAN E	58
LAMPIRAN F	59
LAMPIRAN G	61

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Perubahan protrombin menjadi trombin hingga terbentuk fibrin	7
2.2 Terapi antiplatelet dan fungsi hambatan platelet	14
2.3 Buah mangga (<i>Mangifera indica</i> L.) arumanis.....	17
2.4 Kerangka konsep	20
3.1 Skema rancangan penelitian	24
3.2 Alur Penelitian	31
4.1 Diagram batang rata-rata lama perdarahan mencit putih jantan	33
C.1 Ekstrak kulit mangga yang telah dilarutkan dengan CMC Na 1%	54
C.2 Aspirin yang telah dilarutkan dengan CMC Na 1%	54
C.3 Pemeriksaan lama perdarahan pada mencit	54
C.4 CMC Na 1%	54
C.5 Pelarutan ekstrak menggunakan CMC Na 1%	54
C.6 Bunsen spiritus untuk memanaskan normal saline	54
C.7 Timbangan mikro	55
C.8 Termometer	55
C.9 Gunting	55
C.10 Normal saline	55

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata lama perdarahan pada mencit putih jantan pada P1, P2, P3, P4, P5, K+, K-	32
4.2 Hasil uji normalitas data pengamatan lama perdarahan menggunakan parameter <i>Saphiro Wilk</i>	35
4.3 Hasil uji homogenitas data lama perdarahan mencit putih jantan menggunakan Levene's Test	36
4.4 Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i> pada data lama perdarahan mencit putih jantan	37
4.5 Hasil uji beda <i>Mann Whitney</i> pada data lama perdarahan mencit putih jantan	37
F.1 Data pengamatan lama perdarahan kelompok kontrol negatif (K-)	56
F.2 Data pengamatan lama perdarahan kelompok kontrol positif (K+)	56
F.3 Data pengamatan lama perdarahan kelompok perlakuan 1 (P1)	56
F.4 Data pengamatan lama perdarahan kelompok perlakuan 2 (P2)	57
F.5 Data pengamatan lama perdarahan kelompok perlakuan 3 (P3)	57
F.6 Data pengamatan lama perdarahan kelompok perlakuan 4 (P4)	57
F.7 Data pengamatan lama perdarahan kelompok perlakuan 5 (P5)	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. LEMBAR PERSETUJUAN ETIK	51
A.1a Halaman Pertama Lembar Persetujuan Etik	51
A.1b Halaman Kedua Lembar Persetujuan Etik	52
B. LEMBAR IDENTIFIKASI BUAH MANGGA	53
C. DOKUMENTASI PENELITIAN	54
D. PEMBUATAN LARUTAN EKSTRAK	56
E. PEMBUATAN LARUTAN ASPIRIN	58
F. DATA HASIL PENGAMATAN LAMA PERDARAHAN PADA MENCIT PUTIH JANTAN	59
G. ANALISIS DATA	61
G.1 Analisis Deskriptif	61
G.2 Uji Normalitas	63
G.3 Uji Homogenitas	64
G.4 Uji Kruskal Wallis	64
G.5 Uji Mann Whitney	65

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tubuh memiliki mekanisme pertahanan dalam menghentikan perdarahan yang disebut dengan hemostasis melalui pelepasan tromboksan A2 (Marcus dan Savier, 1993; Verhamme, 2009). Pelepasan tromboksan A2 yang disintesis oleh enzim siklooksigenase 1 (COX-1) menyebabkan platelet yang bersirkulasi di pembuluh darah merubah bentuknya dan mendorong lebih banyak platelet untuk menuju ke daerah yang cedera atau disebut agregasi platelet (Guerrero *et al.*, 2005; Jackson, 2007; dan Ick *et al.*, 2014). Penghambatan enzim COX-1 akan menurunkan pelepasan tromboksan A2 yang menyebabkan penurunan aktivitas agregasi platelet yang ditandai dengan peningkatan lama perdarahan (Putri *et al.*, 2014).

Meskipun agregasi platelet seharusnya merupakan respons fisiologis tapi proses tidak terkontrol dapat menyebabkan pembentukan trombus, penyempitan pembuluh darah, iskemia, dan infark yang terjadi salah satunya pada penyakit aterosklerosis (Mufidah, 2012). Terapi antiplatelet dibutuhkan untuk mengurangi risiko kematian akibat penyakit kardiovaskuler dan serebrovaskular yang disebabkan oleh agregasi platelet (Ick, *et al.*, 2014). Aspirin, obat antiinflamasi non-steroid (OAINS), adalah obat antiplatelet yang bekerja dengan cara menghambat secara ireversibel enzim siklooksigenase 1 dan merupakan salah satu pilihan obat anti agregasi platelet (Capodanno, *et al.*, 2013). Namun penggunaan aspirin menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan, seperti perdarahan gaster, nyeri epigastrium, mual dan muntah. Aspirin dikontaindikasikan pemberiannya pada anak di bawah 12 tahun karena meningkatkan risiko terjadinya Sindrom Reye, juga dikontraindikasikan pemberian pada orang tua dan wanita hamil (Rambe, 2004). Karena efek samping dari obat antiplatelet tersebut, dikembangkanlah terapi antiplatelet yang berasal dari produk alami (Vilahur dan Badimon, 2013).

Mangga (*Mangifera indica L.*), buah terpenting dalam famili *Anacardiaceae*, adalah buah tropikal dengan nilai nutrisi dan nilai medis yang tinggi. Penelitian

mengenai ekstrak masing-masing bagian tumbuhan mangga telah banyak dilakukan, baik untuk mencari kandungan aktif maupun kegunaan dari ekstrak tumbuhan ini. Kandungan aktif seperti saponin, tanin, flavonoid, steroid ditemukan pada daun mangga (Aiyelaagbe dan Osamudiamen, 2009) dan ditemukan senyawa fenol, flavonoid, β karoten, vitamin C, dan mineral pada daging mangga (Luo *et al.*, 2012; dan Kim *et al.*, 2010). Senyawa aktif pada buah mangga telah diteliti memiliki beberapa fungsi yaitu sebagai antioksidan, antiproliferatif (Kim *et al.*, 2010), analgetik, antiinflamasi (Garrido *et al.*, 2001), dan antimikroba (Kabuki *et al.*, 2000). Kulit mangga yang pada awalnya hanya menjadi bahan buangan setelah diteliti ternyata mengandung senyawa aktif penting seperti mangiferin, flavonoid, asam fenol, karotenoid, *dietary fibre*, dan beberapa enzim aktif (Ajila, 2007; Masibo dan He, 2008). Berdasarkan penelitian Kim, *et al.* (2010), kulit mangga menunjukkan jumlah flavonoid sebanyak tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan dengan daging buah mangga.

Flavonoid adalah senyawa fenol yang paling sering ditemukan di seluruh bagian tanaman (Kumar dan Pandey, 2013). Penelitian mengenai fungsi flavonoid dalam bidang medis telah banyak dilakukan, baik sebagai antioksidan, antibakteri, dan lain sebagainya (Pourmorad *et al.*, 2006; Pandey dan Kumar, 2012; Kumar dan Pandey, 2013). Penelitian lain oleh Fuentes dan Palomo (2013); dan Guerrero *et al.* (2005) menunjukkan bahwa senyawa flavonoid juga mampu bekerja menghambat tromboksan A2 (TXA2) melalui jalur penghambatan enzim siklooksigenase 1 (COX-1). Menurut Jeong dan He (2008) dan Guerrero *et al.* (2008), genistein dan apigenin, salah satu isolat dari flavonoid, mampu menyebabkan penurunan agregasi platelet dengan cara menghambat asam arakidonat dan menghambat reseptor tromboksan A2. Disamping itu isolat lain dari flavonoid yaitu kuersetin dan katekin mampu melakukan penurunan pada sintesis tromboksan A2 melalui penghambatan enzim COX-1 (Guerrero *et al.*, 2008).

Pemeriksaan fungsi platelet dapat dilakukan dengan tiga cara, yaitu hitung trombosit, masa perdarahan dengan menghitung lama perdarahan, dan pemeriksaan

agregasi trombosit (Harrison *et al.*, 2011; Setiabudy, 2012). Penelitian mengenai fungsi kulit mangga arumanis terhadap lama perdarahan belum dilakukan. Oleh karena itu, peneliti berkeinginan untuk dilakukan penelitian guna melihat efek ekstrak kulit mangga terhadap lama perdarahan pada mencit putih jantan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dari karya tulis ilmiah ini, sebagai berikut.

1. Apakah ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis mempunyai efek terhadap lama perdarahan pada mencit putih jantan?
2. Pada dosis berapa ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis memiliki efek paling besar dalam meningkatkan lama perdarahan?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah, penelitian ini memiliki tujuan sebagai berikut.

1. Mengetahui adanya efek ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis terhadap lama perdarahan.
2. Mengetahui dosis ekstrak kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) yang memiliki efek paling besar dalam meningkatkan lama perdarahan pada mencit putih jantan.

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat kepada berbagai pihak, antara lain sebagai berikut.

- a. Sebagai data dasar dan bahan pertimbangan bagi ilmu kedokteran dalam pengembangan obat selanjutnya terutama kulit mangga arumanis.
- b. Sebagai acuan dalam penelitian lebih lanjut mengenai dosis ekstrak kulit mangga sebagai obat herbal salah satunya sebagai anti agregasi platelet.
- c. Sebagai dasar informasi pengembangan ekstrak herbal terstandar di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hemostasis

Kerusakan pada vaskularisasi akan segera menyebabkan terbentuknya *massive bruising* yang jika tidak ditangani dapat menyebabkan kehilangan darah masif dengan konsekuensi kegagalan organ (Rhoades dan Bell, 2009). Itulah mengapa tubuh memiliki kemampuan hemostasis. Hemostasis adalah penghentian perdarahan dari suatu pembuluh darah yang rusak – yaitu, penghentian hemoragia (*hemo* berarti darah, *stasis* berarti berdiri) (Sheerwood, 2009). Sistem hemostasis menyangkut platelet darah (trombosit), sel endotel, dan faktor pembekuan darah, yang bekerja sama membentuk sumbat hemostasis pada pembuluh darah yang cedera (Rhoades dan Bell, 2009).

Hemostasis diaktifkan melalui pajanan permukaan asing saat perdarahan, robeknya jaringan pada tempat yang mengalami cedera, dikeluarkannya substansi dari sel yang mengalami cedera (Rhoades dan Bell, 2009). Terdapat tiga tahap dari proses penghentian perdarahan (Sheerwood, 2009; Setiabudy, 2012), yaitu:

- (1) kontraksi vaskuler (vasokonstriksi);
- (2) pembentukan sumbat trombosis; dan
- (3) sistem pembekuan darah yang meliputi mekanisme pembentukan bekuan, penghentian pembentukan bekuan, dan fibrinolisis.

2.2.1 Vasokonstriksi

Segera setelah pembuluh darah terpotong atau ruptur, dinding pembuluh darah yang rusak itu sendiri menyebabkan otot polos dinding pembuluh berkontraksi; sehingga dengan segera aliran darah dari pembuluh darah yang ruptur akan berkurang. Kontraksi terjadi sebagai akibat dari (1) spasme miogenik lokal, (2) faktor autakoid lokal yang berasal dari jaringan yang terkena trauma dan platelet darah, dan (3) berbagai reflek saraf. Kontraksi ini terjadi karena kerusakan pada dinding pembuluh darah. Untuk pembuluh darah yang lebih kecil, platelet mengakibatkan

sebagian besar vasokonstriksi dengan melepaskan sebuah substansi vasokonstriktor, *tromboksan A2* (Guyton, 2009).

2.2.2 Sumbat Platelet

Mekanisme sumbat trombosit sangat penting untuk menutup ruptur-ruptur kecil pada pembuluh darah yang sangat kecil, yang terjadi ribuan kali setiap hari. Berbagai lubang kecil pada sel endotel itu sendiri seringkali ditutupi oleh trombosit yang sebenarnya bergabung dengan sel endotel untuk membentuk membran sel endotel tambahan (Guyton, 2009). Terbentuknya sumbat platelet terjadi melalui beberapa proses, yaitu adhesi, aktivasi, dan agregasi.

a. *Adhesion* (Adhesi)

Normalnya, platelet tidak menempel (adhesi) satu dengan yang lain, dengan sel darah yang lain, atau dengan membran endotel. Salah satu penyebabnya karena muatan negatif pada permukaan masing-masing platelet dan sel endotel. Adhesi platelet terjadi karena respons peningkatan *shearing force* (gaya gesek) pada permukaan platelet atau sel endotel dan pada respons cedera vaskuler atau sinyal humoral. Adhesi platelet dimediasi oleh reseptor platelet, yaitu glikoprotein pada membran platelet. Satu ligand yang secara alami muncul pada plasma darah adalah *faktor von Willebrand* (vWF). Peningkatan gesekan, beberapa sitokin, dan hipoksia akan mencetuskan pelepasan vWF dari sel endotel. (Boron dan Boulpaep, 2009).

b. *Activation* (Aktivasi)

Ikatan ligand akan mencetuskan perubahan pada reseptor platelet menyebabkan terjadinya eksositosis yang dikenal sebagai reaksi pelepasan atau aktivasi platelet. Platelet teraktivasi menyebabkan terjadinya beberapa kejadian di bawah ini, yaitu:

- (1) eksositasi granul penyimpanan padat (*dense storage granules*)-nya, yaitu ATP, ADP, serotonin, dan Ca^{2+} ;

- (2) mengeksositosisi isi dari granula α mereka, yang mengandung *growth factor* (faktor pertumbuhan) dan tiga faktor hemostasis: vWF dan dua *faktor clotting* (faktor V dan fibrinogen);
- (3) menggunakan siklooksigenase untuk menginisiasi pemecahan asam arakidonat menjadi tromboksan A₂;
- (4) berhubungan dengan sitoskeletal yang jelas dan perubahan morfologi (Boron dan Boulpaep, 2009).

c. *Aggregation* (Agregasi)

ADP, serotonin, dan tromboksan A₂ mengaktifkan tambahan platelet dan menyebabkan terjadinya agregasi platelet. vWF yang dilepaskan oleh platelet teraktivasi berikatan dengan reseptor platelet Gp Ib/Ia, menyebabkan teraktivasinya lebih banyak platelet dan membentuk jembatan molekuler antarplatelet. Platelet teraktivasi juga menginduksi perubahan di Gp IIb/IIIa, meningkatkan kapasitasnya dalam mengikat fibrinogen yang nantinya berfungsi membentuk jembatan antara platelet dengan substansi lain yang membentuk sumbat platelet (Boron dan Boulpaep, 2009).

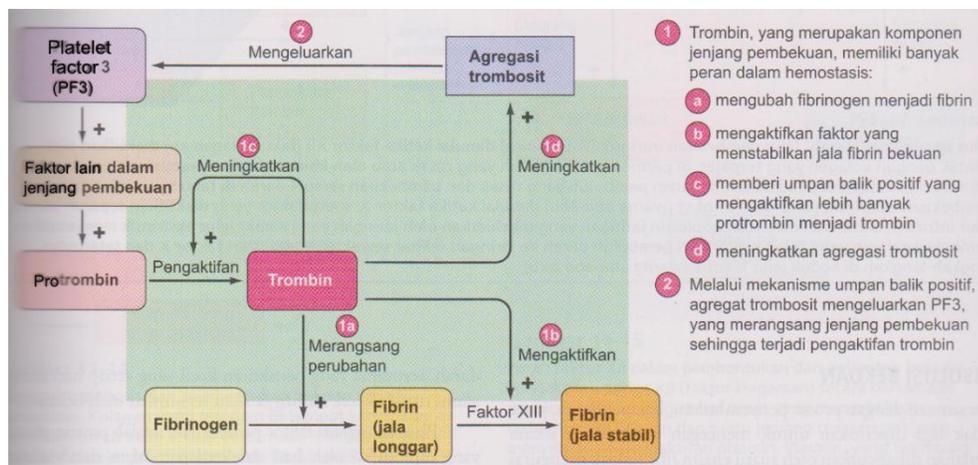
2.2.3 Sistem Pembekuan Darah

Koagulasi darah atau pembentukan bekuan darah adalah transformasi darah dari cairan menjadi gel padat. Pembentukan bekuan diatas sumbat trombosit memperkuat dan menopang sumbat, meningkatkan tabalan yang menutupi kerusakan pembuluh. Terdapat 12 faktor pembekuan yang ditulis menggunakan huruf Romawi dan telah diakui secara internasional (Price dan Wilson, 2003).

a. Mekanisme Pembekuan Darah

Pembekuan darah terjadi melalui tiga langkah utama (Guyton, 2009):

- (1) Sebagai respons atas rupturnya pembuluh darah atau kerusakan darah itu sendiri. Hasil akhirnya adalah terbentuk suatu kompleks substansi teraktivasi yang secara kolektif disebut *aktivator protrombin*.
- (2) Aktivator protrombin mengatalisis perubahan *protrombin* menjadi *trombin*.
- (3) Trombin bekerja sebagai enzim untuk mengubah *fibrinogen* menjadi *benang fibrin* yang merangkai trombosit, sel darah, dan plasma untuk membentuk bekuan.



Gambar 2.1 Perubahan protrombin menjadi trombin hingga terbentuk fibrin (Sumber: Sheerwood, 2009)

b. Penghentian Pembentukan Bekuan

Penghentian pembentukan bekuan penting untuk menghindari kejadian trombotik yang tidak diinginkan yang disebabkan oleh bentukan bekuan sistemik yang berlebihan. Antikoagulan yang terjadi secara alami meliputi antitrombin III (kofaktor heparin), protein C, dan protein S. Antitrombin III bersirkulasi secara bebas di dalam plasma dan menghambat sistem prokoagulan. Protein C, suatu polipeptida, juga merupakan antikoagulan fisiologik yang dihasilkan oleh hati, dan beredar secara bebas dalam bentuk inaktif dan diaktivasi menjadi protein Ca. Protein S mempercepat inaktivasi faktor-faktor itu oleh Protein C (Price dan Wilson, 2003).

c. Fibrinolisis

Fibrinolisis adalah proses penghancuran deposit fibrin oleh sistem fibrinolitik sehingga aliran darah akan terbuka kembali. Sistem fibrinolitik terdiri atas tiga komponen utama yaitu plasminogen yang akan diaktifkan menjadi plasmin, aktivator plasminogen dan inhibitor plasmin. Sistem fibrinolitik dicetuskan oleh adanya aktivator plasminogen yang akan memecah plasminogen menjadi plasmin. Aktivasi plasminogen terjadi melalui tiga jalur yang berbeda yaitu: jalur intrinsik melibatkan faktor XII, prekalkrein, dan *High Molecular Weight Kininogen* (HMWK); jalur ekstrinsik dimana aktivator yang terdapat pada jaringan atau endotel pembuluh darah akan dilepaskan ke dalam darah apabila terdapat amin vasoaktif dan protein C; dan jalur eksogen. Apabila plasminogen telah diaktifkan, akan terbentuk plasmin bebas dan plasmin yang terikat fibrin. Plasmin merupakan enzim proteolitik yang akan memecah fibrin menjadi fragmen-fragmen yang disebut *fibrin degradation products* (FDP). Pada umumnya FDP merupakan inhibitor yang menghambat kerja trombin dan menghambat polimerasi fibrin. Selain itu FDP juga mengganggu kerja trombosit (Setiabudy, 2012).

2.2 Pemeriksaan pada Hemostasis

Pemeriksaan hemostasis dapat digolongkan atas pemeriksaan penyaring dan pemeriksaan khusus. Beberapa jenis pemeriksaan pada kelainan hemostasis yang berhubungan dengan penilaian fungsi platelet, yaitu percobaan pembendungan, masa perdarahan, dan hitung trombosit.

2.2.1. Percobaan Pembendungan

Percobaan ini bertujuan untuk menguji ketahanan dinding kapiler darah dengan cara mengenakan pembendungan pada vena, sehingga tekanan darah di kapiler meningkat. Dinding kapiler yang kurang kuat akan menyebabkan darah keluar dan merembes ke jaringan sekitar sehingga tampak titik merah kecil di permukaan kulit yang disebut petekia. Percobaan ini dilakukan dengan pembendungan pada

lengan atas dengan memasang tensimeter pada pertengahan antara tekanan sistolik dan tekanan diastolik. Walaupun percobaan ini dimaksudkan untuk mengukur ketahanan kapiler, hasil tes ini ikut dipengaruhi juga oleh jumlah dan fungsi trombosit (Aulia dan Setiabudy, 2012).

2.2.2. Masa Perdarahan

Pemeriksaan ini bertujuan untuk menilai kemampuan vaskular dan trombosit untuk menghentikan perdarahan. Prinsip pemeriksaan ini adalah menentukan lamanya perdarahan pada luka yang mengenai kapiler. Terdapat 2 macam cara yaitu cara Ivy dan Duke (Aulia dan Setiabudy, 2012).

Pada cara Ivy, mula-mula dipasang tensimeter dengan tekanan 40 mmHg pada lengan atas kemudian dilakukan tusukan dengan lanset sedalam 3 mm. Setiap 30 detik darah dihisap dengan kertas saring. Setelah darah tidak keluar lagi *stopwatch* dihentikan. Nilai normal berkisar antara 1-6 menit. Pada cara Duke, dilakukan penusukan pada tepi anak daun telinga. Setiap 30 detik darah dihisap dengan kertas saring. Setelah darah tidak keluar, *stopwatch* dihentikan. Nilai normal berkisar antara 1-3 menit (Aulia dan Setiabudy, 2012).

Hasil pemeriksaan menurut cara Ivy lebih dapat dipercaya dari pada cara Duke, karena pada cara Duke tidak terdapat pembendungan sehingga mekanisme hemostasis kurang dapat dinilai. Apabila pada cara Ivy perdarahan berlangsung lebih dari 10 menit dan apabila diduga karena tertusuknya vena, perlu dilakukan pemeriksaan ulang pada lengan yang lain. Kalau hasilnya tetap 10 menit, hal ini membuktikan adanya suatu kelainan dalam mekanisme hemostasis (Aulia dan Setiabudy, 2012).

2.2.3. Hitung Trombosit

Hitung trombosit dapat dilakukan dengan cara langsung dan tak langsung. Cara langsung dapat dilakukan dengan cara manual, semi otomatis, dan otomatis (Aulia dan Setiabudy, 2012).

Pada cara manual, mula-mula darah diencerkan dengan larutan pengencer lalu diisikan ke dalam kamar hitung dan jumlah trombosit dihitung di bawah mikroskop. Cara manual memiliki ketepatan dan ketelitian yang kurang baik, karena trombosit kecil sehingga sukar dibedakan dari kotoran kecil. Disamping itu trombosit mudah pecah dan cenderung saling melekat membentuk gumpalan serta mudah melekat pada permukaan asing. Pada cara semi otomatis dan otomatis dipakai alat *electronic partial counter* sehingga ketelitiannya lebih baik. Kelemahan pada cara ini adalah trombosit yang besar dan saling menggumpal tidak ikut terhitung, sehingga jumlah trombosit yang dihitung menjadi lebih rendah. Dalam keadaan normal jumlah trombosit sangat dipengaruhi oleh cara menghitungnya dan berkisar antara 150.000 – 400.000 per mikroliter darah (Aulia dan Setiabudy, 2012).

2.3 Kelainan Hemostasis

Tromboemboli dan perdarahan adalah dua kelainan yang terjadi karena gangguan pada proses hemostasis, khususnya fungsi trombosit dan proses pembekuan darah. Hambatan hemostasis mengakibatkan perdarahan spontan, sedangkan hemostasis berlebihan mengakibatkan terbentuknya trombus (Dewoto, 2012).

2.2.1 Kelainan Perdarahan

Perdarahan hebat dapat terjadi akibat defisiensi salah satu dari faktor-faktor pembekuan. Contoh kelainan perdarahan, yaitu: (a) perdarahan akibat defisiensi vitamin K, (b) hemofilia, (c) trombositopenia, dan (d) penyakit von Willebrand.

2.2.2 Trombosis

Trombosis adalah keadaan dimana terjadi pembentukan masa bekuan darah intravaskuler, yang berasal dari konstituen darah, pada orang yang masih hidup. Dalam pengertian luas, trombus dapat bersifat fisiologik disebut sebagai *hemostatik thrombus* yang berguna untuk menutup kerusakan dinding pembuluh darah setelah *injury*, dapat juga bersifat *patologic thrombus* yang dapat menyumbat lumen

pembuluh darah (Bakta, 2007). Berdasarkan data yang ditemukan faktor risiko trombotik adalah operasi besar, operasi ortopedi, trauma, kehamilan dan nifas, penyakit jantung, penyakit saraf, kanker dan kemoterapi pada penyakit kanker, umur, obesitas, jenis kelamin, vena varikosa, riwayat tromboemboli vena, immobilisasi yang lama, golongan darah, terapi hormon, dan lain-lain (Tambunan, 2009).

a. Trombosis Arteri

Faktor yang merangsang atau faktor risiko trombotik, yaitu: (1) endotel pembuluh darah yang tidak utuh, (2) trombosit yang teraktivasi, (3) defisiensi antipembekuan, (4) klirens faktor pembekuan berkurang, (5) sistem fibrinolisis berkurang, dan (6) stagnasi (Tambunan, 2009).

(1) Endotel pembuluh darah yang tidak utuh.

Sel endotel akan kehilangan kemampuan mencegah trombotik bila distimulasi oleh enzim seperti trombin, hipoksia, *shear stres*, oksidan, sitokin seperti interleukin-1 (IL-1), faktor nekrosis tumor (TNF), dan interferon gamma, hormon sintetik, dan endotoksin. Induksi sintesis *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) akan menghambat aktivator plasminogen mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin sehingga fibrinolisis berkurang. Trombomodulin yang terikat pada permukaan endotel juga berkurang yang menyebabkan aktivasi protein C terganggu.

(2) Trombosit yang teraktivasi.

Trombosit yang aktif menyebabkan terjadinya agregasi trombosit.

(3) Defisiensi antipembekuan.

Defisiensi antipembekuan akan menyebabkan darah cenderung mengalami trombotik yang disebut trombofilia.

(4) Klirens faktor pembekuan aktif berkurang.

Faktor pembekuan aktif dibersihkan di dalam tubuh sehingga jumlahnya berkurang dan proses aktivasi koagulasi berkurang.

(5) Sistem fibrinolisis berkurang.

Fibrinolisis yang berkurang akan menyebabkan fibrin yang dibentuk akan terus bertambah dan menyebabkan trombosis.

(6) Stagnasi.

Aliran darah yang lambat merupakan faktor risiko trombosis.

Trombosis pada arteri serebral akan meningkatkan *Transient Ischemic Attack* (TIA) atau strok iskemik. Trombosis pada arteri koroner mengakibatkan angina pektoris atau infark miokard. Trombosis pada arteri perifer akan menyebabkan klaudikasio intermiten atau nekrosis/gangren (Tambunan, 2009).

b. Trombosis Vena

Trombosis vena biasanya dimulai di vena betis yang kemudian meluas sampai vena proksimal. Trombus biasanya dibentuk pada daerah aliran darah yang lambat atau yang terganggu. Virchow telah mengemukakan faktor yang berperan pada trombosis vena yang terkenal dengan *Triad Virchow* yaitu, koagulasi darah, stagnasi, dan kerusakan pembuluh darah (Tambunan, 2009).

Aktivasi koagulasi dapat melalui jalur intrinsik (kontak FXII dengan kolagen) pada pembuluh darah yang rusak dan mengaktifkan FVII. Triad Virchow yang kedua yaitu stagnasi menjadi salah satu predisposisi trombosis karena mencegah faktor koagulasi aktif dilarutkan oleh darah yang tidak aktif, mencegah klirens faktor koagulasi aktif, dan mencegah bercampurnya faktor koagulasi aktif dengan penghambatnya. Stasis dapat disebabkan oleh imobilitas, obstruksi vena, dilatasi vena, dan meningkatnya viskositas darah. Imobilitas dapat diakibatkan oleh strok, atau berbaring lama. Obstruksi dapat terjadi karena kompresi dari luar atau sekunder karena trombosis vena sebelumnya. Viskositas darah meningkat karena polisitemia, disproteinemia, dan fibrinogen yang meningkat. Vasodilatasi vena terjadi pada pasien vena varikosa, orang tua karena berbaring lama, kehamilan, dan estrogen (Tambunan, 2009).

2.3 Farmakologi Antitrombosis

Adanya trombosis pada arteri atau vena, akan mengakibatkan terganggunya atau tersumbatnya aliran darah dari atau ke jaringan organ-organ yang dikenai, dan akan menimbulkan kelainan yang serius apabila mengenai organ vital seperti paru, jantung, dan otak. Untuk mengatasi/mengobati keadaan ini diperlukan pemberian obat-obat yang dapat mencegah terbentuknya dan melarutkan trombus. Obat-obat antitrombosis yang banyak dipakai saat ini adalah golongan antikoagulan, antiplatelet, dan trombolitik. Tujuan pengobatan trombosis adalah: (a) mencegah perluasan ekstensi trombus, (b) mengurangi terjadinya rekurensi trombus, (c) mencegah pembentukan emboli, (d) mencegah terjadinya sindrom post-trombotik (Acang, 2009).

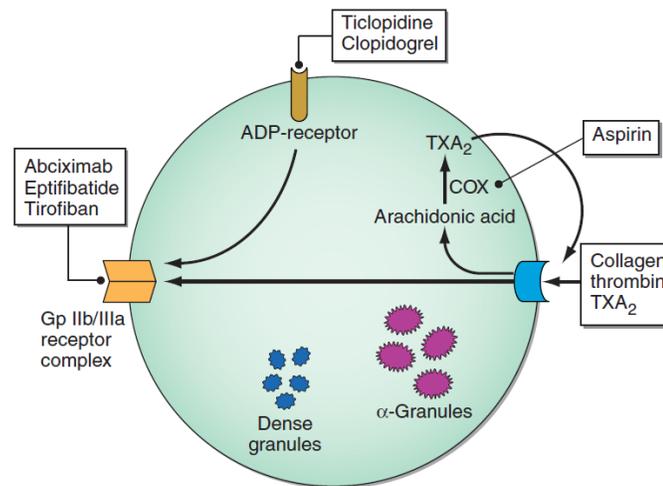
2.4.1 Antikoagulan Oral

Antikoagulan adalah obat yang bekerja dengan cara menghambat terjadinya pembekuan darah (Deitcher, 2005). Antikoagulan oral bekerja dengan cara mencegah reduksi vitamin K teroksidasi sehingga aktivasi faktor-faktor pembekuan darah terganggu/tidak terjadi. Efek samping yang sering terjadi adalah perdarahan sehingga harus selalu dilakukan pemeriksaan waktu protrombin dan pengawasan terhadap terjadinya perdarahan. (Dewoto, 2012).

2.4.2 Antiagregasi Trombosit

Terapi antiplatelet (antiagregasi trombosit) mengurangi angka kematian oleh penyakit vaskuler hingga 15% (Deitcher, 2005). Antiplatelet (antitrombotik) adalah obat yang dapat menghambat agregasi trombosit sehingga menyebabkan terhambatnya pembentukan trombus yang terutama sering ditemukan pada sistem arterial (Dewoto, 2012). Banyak target kerja dari terapi antiplatelet (Gambar 2.9), termasuk siklooksigenase (COX), reseptor adenosin difosfat (ADP), glikoprotein adhesi platelet (Gp) Ib, dan platelet agonis trombin (Deitcher, 2005). Beberapa obat

yang termasuk golongan antiagregasi platelet, yaitu aspirin, dipiridamol, tiklodipin, klopidoogrel, dan penghambat glikoprotein IIb/IIIa.



Gambar 2.2 Terapi antiplatelet dan fungsi hambatan platelet (Sumber: Deitcher, 2005)

Aspirin merupakan prototip dari obat anti-inflamasi non steroid (OAINS) yang sebelumnya dikenal dengan *aspirin-like-drugs* dengan mekanisme kerja menghambat enzim siklooksigenase (COX-1 dan COX-2) secara tidak selektif. Secara garis besar COX-1 esensial dalam pemeliharaan berbagai fungsi dalam kondisi normal di berbagai jaringan khususnya ginjal, saluran cerna, dan trombosit sedangkan COX-2 memiliki peran fisiologis di ginjal, jaringan vaskuler, dan pada proses perbaikan jaringan. Tromboksan A₂ yang disintesis trombosit oleh COX-1, menyebabkan terjadinya agregasi trombosit, vasokonstriksi, dan proliferasi otot polos. Sebaliknya prostasiklin (PGI₂) yang disintesis oleh COX-2 di endotel makrovaskuler melawan efek tersebut dan menyebabkan penghambatan agregasi trombosit, vasodilatasi, dan efek anti-proliferatif. Aspirin 166 kali lebih kuat menghambat COX-1 daripada COX-2. (Wilmana dan Gan, 2012).

Asam asetil salisilat yang lebih dikenal sebagai asetosal atau aspirin adalah analgetik antipiretik dan antiinflamasi yang luas digunakan dan digolongkan dalam obat bebas. Aspirin (asam salisilat) menghambat sintesis tromboksan A₂ (TXA₂) di

dalam trombosit dan prostasiklin (PGI_2) di pembuluh darah dengan cara menghambat secara ireversibel enzim siklooksigenase sehingga menyebabkan gangguan pada sekresi dan agregasi platelet. Penghambatan enzim siklooksigenase terjadi karena aspirin mengasetilasi enzim tersebut (Dewoto, 2012; Deitcher, 2005).

Aspirin dosis kecil hanya dapat menekan pembentukan TXA_2 , sebagai akibatnya terjadi pengurangan trombosit. Sebagai antitrombotik dosis efektif aspirin adalah 80-320 mg perhari (Dewoto, 2012) dan dosis dapat digunakan dosis efektif aspirin 75-325 mg perhari (Deitcher, 2005). Pada infark miokard akut, aspirin bermanfaat untuk mencegah kambuhnya miokard infark yang fatal maupun non fatal. Pada pasien TIA penggunaan aspirin jangka panjang juga bermanfaat untuk mengurangi kekambuhan TI, stroke karena penyumbatan dan kematian akibat gangguan pembuluh darah. Efek samping aspirin misalnya rasa tidak enak di perut, mual, dan perdarahan saluran cerna biasanya dapat dihindarkan bila dosis perhari tidak lebih dari 325 mg. Penggunaan bersama antasid atau antagonis H_2 dapat mengurangi efek tersebut. Obat ini dapat mengganggu hemostasis pada tindakan operasi dan bila diberikan bersama heparin atau antikoagulan oral dapat meningkatkan risiko perdarahan (Dewoto, 2012).

2.4 Mangga (*Mangifera indica* L.)

Jika melihat penyebarannya di seluruh Indonesia, sebenarnya mangga dapat dijumpai sepanjang tahun. Sebagai contoh, panen mangga di wilayah Bengkulu, Sumsel, Jambi, DKI Jakarta, Jabar, Jateng, dan yang lainnya berlangsung selama bulan Oktober hingga Desember. Untuk panen kecilnya dimulai bulan Juli sampai September. Kosongnya produksi mangga di bulan Januari sampai Juni diisi oleh panen di Sumatera Utara, DI Aceh, dan daerah Sulawesi (Untung, 2008).

Jawa Timur merupakan salah satu daerah sentra produksi mangga nasional. Keadaan ini juga didukung dengan semakin bertambahnya produksi buah mangga dari tahun ke tahun (Wijaya, 2010). Berdasarkan data rata-rata selama 6 tahun terakhir (2008-2013), sebagian besar luas panen mangga terdapat di provinsi Jawa

Timur dengan kontribusi luas panen mangga dari provinsi ini mencapai 36.25% dari total luas panen mangga Indonesia. Produsen mangga terbesar dari wilayah Provinsi Jawa Timur adalah Kabupaten Pasuruan dengan produksi mangga sebesar 167.947 ton atau 19.99% dari total produksi mangga di Jawa Timur. Kabupaten lain yang memiliki kontribusi produksi mangga terbesar adalah Kabupaten Gresik (8.29%), Kabupaten Probolinggo (5.37%), Kabupaten Kediri (5.02%), dan Kabupaten Bondowoso (4.87%) (Sekretariat Jendral Kementerian Pertanian, 2014).

2.4.1 Deskripsi *Mangifera indica* L.

Mangifera indica L. adalah buah tropikal yang berasal dari Asia dan sudah tumbuh sekitar 4000 tahun dan sekarang dapat ditemukan di semua negara tropis, termasuk Indonesia. *Mangifera indica* L. termasuk ke dalam kingdom Plantae pada filum Mangoliophyta dan kelas Mangoliopsida. Ordo *Mangifera indica* L. adalah Sapindales dan famili Anacardiaceae dengan genus *Mangifera* dan spesies *indica* (Shah, *et al.*, 2010).

Mangifera indica L. dapat tumbuh dengan tinggi hingga 10-45 meter, berbentuk kubah dan berdaun lebat, biasanya bercabang banyak dan berbatang gemuk. Daunnya tersusun spiral pada masing-masing cabang, bergaris membujur, berbentuk pisau – elips, dengan panjang daunnya kurang lebih 25 cm dan lebarnya 8 cm, kemerahan dan tipis-lembek saat tumbuh pertama dan mengeluarkan wangi aromatik saat dihancurkan. Bunga tumbuh di ujung masing-masing percabangan yang berisi sekitar 3000 bunga kecil berwarna putih kemerahan atau hijau kekuningan. Buahnya tersusun atas bagian daging yang kuning, biji tunggal, dan kulit kekuningan hingga kemerahan saat matang. Bijinya *soliter*, membujur, terbungkus keras (Shah, *et al.*, 2010).



Gambar 2.3 Buah mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis (Sumber: Warasfarm, 2013)

2.4.2 Manfaat Mangga (*Mangifera indica* L.)

Walaupun banyak penemuan farmakologi telah diperoleh berdasarkan komposisi atau susunan buah mangga tapi masih banyak penelitian yang dapat dilakukan (Shah, *et al.*, 2010).

a. Anti Oksidan

Antioksidan alami, vitamin E, vitamin C dan β -karoten, dapat berfungsi untuk mencegah kelainan kronik (Diplock *et al.* dalam Shah, *et al.*, 2010). Interaksi antara Vimang (ekstrak kulit batang *Mangifera indica* L.) dengan Besi (Fe^{3+}) telah diteliti menunjukkan adanya efisiensi yang sangat tinggi untuk melindungi kerusakan oksidatif akibat induksi besi (Martinez, *et al.*, 2000).

b. Antidiabetes

Ekstrak etanol 96% daun dan kulit batang *Mangifera indica* L. menunjukkan efek hipoglikemia yang signifikan pada tikus model diabetes tipe 2 (Aderibigbe, 2001). Kandungan kimia yang berbeda pada tumbuhan terutama polifenol, flavonoid, triterpenoid, mangiferin, dan bahan kimia lain tampak memiliki hubungan dengan penelitian antiinflamasi, analgesik, dan efek hipoglikemia pada ekstrak tanaman (Ojewole, 2005).

c. Antiinflamasi

Ekstrak etanol (95%) biji *Mangifera indica* L. menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang sangat signifikan pada kondisi akut, subakut, dan kronik (PC, 1989). Efek analgesik dan antiinflamasi ekstrak kulit batang mangga (Vimang) juga telah banyak diteliti. Polifenol dalam ekstrak menunjukkan peran penting dalam aktivitas tersebut (Garrido, 2001).

2.4.3 Kandungan Kimia Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) dan Flavonoid

Total fenol yang ditemukan pada kulit buah mangga lebih banyak dibanding total fenol di daging buah mangga, dengan total fenol 4066 mg (GAE)/kg. Komposisi polifenol pada kulit mangga termasuk mangiferin, kuersetin, *kaemferol* dan *rhamnetin*. Kuersetin, salah satu bagian dari flavonoid, merupakan komposisi terbesar dalam kulit mangga beserta dengan mangiferin (Masibo dan He, 2008). Meskipun kandungan kuersetin dan mangiferin terbesar, pada penelitian Berardini (dalam Masibo dan He, 2008), kapasitas antioksidan dari ekstrak kulit mangga terjadi bukan hanya sari satu komponen melainkan dari interaksi sinergis dari seluruh komponen di dalam kulit mangga. Kulit mangga matang dan mentah juga memiliki total fenol yang berbeda. Menurut Ajila *et al.* (2007) dan Imran *et al.* (2013), kulit mangga matang memiliki total fenol yang lebih banyak dibanding total fenol pada mangga mentah pada ekstrak Aseton. Sedangkan pada ekstrak *aqueous*, ekstrak *buffer* dan ekstrak alkohol, total fenol pada mangga mentah menunjukkan jumlah yang lebih besar (Ajila *et al.*, 2007; dan Imran *et al.*, 2013). Hal ini didukung oleh Kim *et al.* (2010) yang juga menemukan total fenol pada kulit mangga mentah lebih banyak dibandingkan total fenol pada kulit mangga matang.

Flavonoid adalah polifenol terbesar yang ada di dalam sumber makanan. Flavonoid yang ditemukan di mangga termasuk katekin, epikatekin, kuersetin, isoquersetin, fisetin, dan astragalin (Masibo dan He, 2008). Pada tahun 1992, konsumsi lima jenis flavonoid, kuersetin, kaemferol, miricetin, apigenin, dan luteolin menunjukkan adanya hubungan dengan penurunan risiko terjadinya penyakit jantung

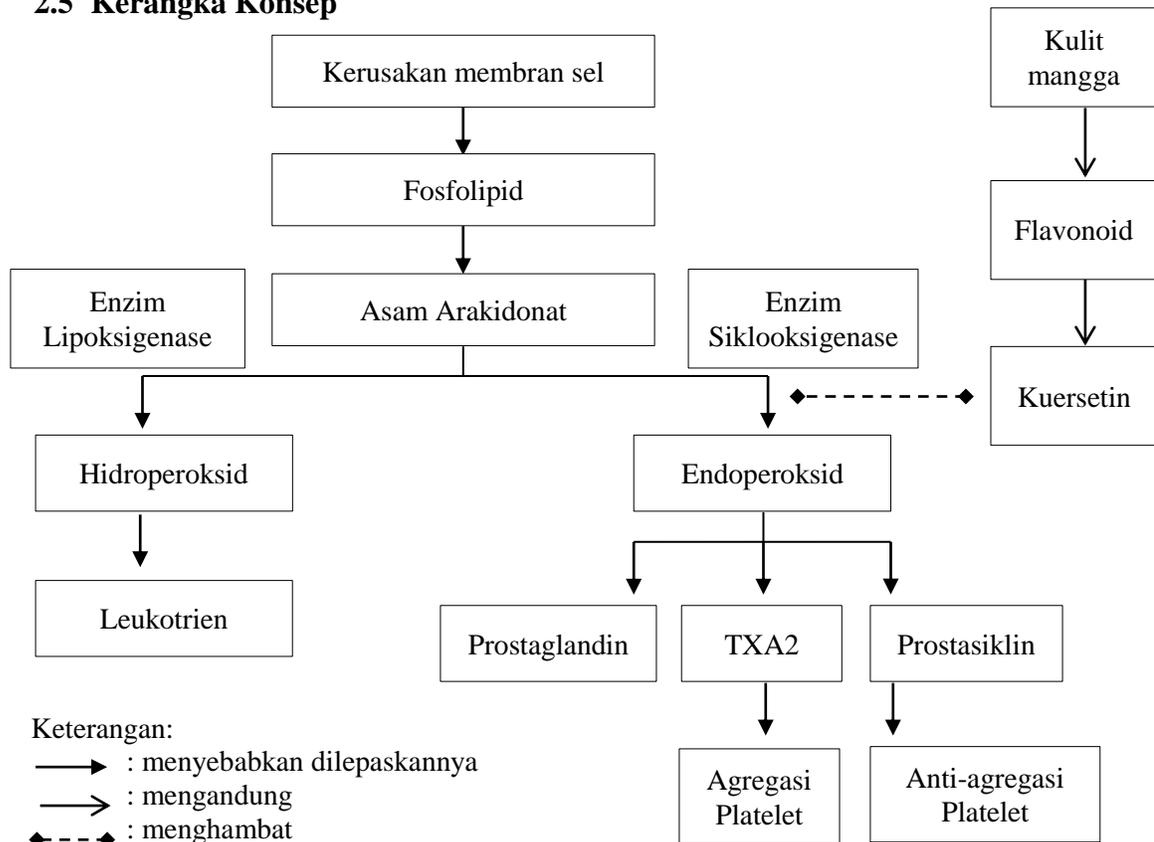
iskemik dan stroke. Dua tipe mekanisme yang menjelaskan kejadian ini karena adanya penghambatan terhadap oksidasi LDL dan penghambatan pada agregasi platelet. Hasil dari inkubasi pada platelet manusia atau sel hewan dengan isolasi flavonoid menunjukkan penghambatan agregasi platelet kemungkinan karena penghambatan pada aktivitas siklooksigenase (Jansen *et al.*, 1998). Hal ini juga didukung oleh penelitian Guerrero *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa adanya aktivitas kuat dari flavonoid dalam penghambatan Tromboksan A₂.

2.4.4 Mangga Arumanis

Indonesia adalah salah satu negara dengan keragaman varietas buah mangga tertinggi. Salah satu varietas buah mangga yang memiliki potensi ekspor tinggi adalah mangga arumanis karena varietas mangga ini tidak dihasilkan oleh negara penghasil dan pengeksport mangga dunia, seperti India, Meksiko, dan negara Amerika latin lainnya. Disamping itu mangga arumanis memiliki keunggulan karena citarasanya yang khas dengan tekstur lembut, *creamy*, dengan sedikit serat (Utama *et al.*, 2011).

Penelitian belum menemukan penelitian kegunaan kulit buah mangga arumanis di bidang kesehatan. Namun, telah dilakukan penelitian mengenai kandungan flavonoid daun mangga empat varietas di Indonesia, yaitu mangga gedong, mangga golek, mangga apel, dan mangga arumanis. Dalam penelitian tersebut diketahui bahwa total flavonoid pada daun mangga arumanis (37.57 g QE/100 g) jauh lebih besar dibandingkan tiga varietas mangga yang lain (Fidrianny *et al.*, 2013).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka konsep

Kerangka konsep pada gambar 2.4 menunjukkan penghambatan enzim siklooksigenase oleh kuersetin yang merupakan bagian dari flavonoid. Penghambatan ini menyebabkan penghambatan pada tromboksan A2 (TXA2), prostaglandin, dan prostasiklin. Penghambatan pada tromboksan A2 menyebabkan terjadinya penghambatan pada agregasi platelet.

2.6 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis dapat memberi efek terhadap lama perdarahan. Efek yang diberikan adalah terjadinya peningkatan lama perdarahan.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian *true experimental* (eksperimen murni). Penelitian *true experimental* adalah penelitian yang memberikan manipulasi terhadap *independent variable* (variabel bebas), melakukan randomisasi untuk memisahkan sampel penelitian, serta terdapat dua atau lebih kelompok sampel. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan menemukan adanya *cause-effect relationship* (Swarjana, 2012).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober hingga Desember 2015. Dilaksanakan identifikasi tanaman mangga di Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Jember pada bulan Oktober yang kemudian dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis di Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember selama satu minggu (7 hari) pada bulan November 2015. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biomed Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan hewan coba selama dua minggu dengan pembagian 7 hari untuk adaptasi hewan coba dan 7 hari perlakuan hewan coba pada bulan November hingga Desember 2015.

3.3 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Cara Sampling

3.3.1 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) mengacu pada penelitian Islam (2010). Sampel penelitian adalah seluruh mencit jantan yang digunakan dalam penelitian ini. Kriteria mencit yang digunakan adalah memiliki berat badan antara 25-30 gram, berumur 2-3 bulan, jenis kelamin jantan. Seluruh mencit diletakkan dalam kotak plastik standar selama 7 hari untuk adaptasi. Selama masa percobaan, mencit diberikan makanan standar *pellet* dan air secara *adlibitum*.

3.3.2 Besar Sampel Penelitian

Penentuan jumlah mencit tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus empiris Federer (Ridwan, 2013) sebagai berikut, dengan $t = \text{jumlah kelompok} = 7$, $n = \text{jumlah ulangan}$:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(7-1)(n-1) \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

Berdasarkan hitungan tersebut, jumlah pengulangan yang dilakukan adalah 4. Jadi besar sampel mencit yang dibutuhkan adalah 4 ekor mencit untuk masing-masing kelompok. Besar sampel penelitian ini adalah 28 ekor mencit. Menurut Roscoe (dalam Sekaran, 2006), penelitian eksperimental sederhana dengan kontrol eksperimen yang ketat, penelitian yang sukses adalah dengan sampel ukuran kecil antara 10 sampai dengan 20.

3.3.3 Cara Sampling

Pengelompokan mencit dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*). Hakikat dari pengambilan sampel secara acak sederhana adalah bahwa setiap anggota atau unit dari populasi mempunyai kesempatan yang sama untuk diseleksi menjadi sampel (Notoatmodjo, 2012; dan Chandra, 2008). Pada sistem pengambilan sampel ini, mencit secara acak diambil untuk dimasukkan ke dalam kandang yang telah disediakan. Cara sampling seperti ini merupakan syarat rancangan penelitian *true eksperimental* (Budiarto, 2013).

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah dosis ekstrak kulit buah mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis yang diberikan pada masing-masing mencit pada kelompok perlakuan.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah lama perdarahan pada mencit. Lama perdarahan diartikan sebagai waktu mulai timbulnya tetes darah dari pembuluh darah yang luka sampai darah berhenti mengalir keluar dari pembuluh darah (Greene, *et al.*, 2010).

3.5 Definisi Operasional

Pada penelitian ini yang mencakup definisi operasional adalah ekstrak kulit buah mangga arumanis dan lama perdarahan.

3.5.1 Ekstrak Kulit Buah Mangga (*Mangifera indica L.*) Arumanis

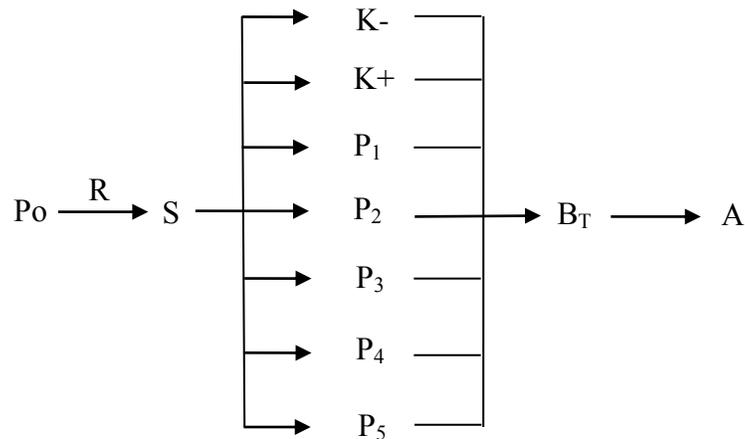
Mangga yang digunakan pada penelitian ini adalah buah mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis yang telah diidentifikasi di Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA Universitas Jember. Mangga yang digunakan pada penelitian ini adalah mangga mentah yang berasal dari Kabupaten Jember yang dipilih dengan beberapa kriteria, yaitu dari warna kulit mangga yang masih hijau, belum ada bau manis yang keluar dari mangga yang menandakan bahwa mangga sudah matang, dan dengan melakukan penekanan pada daging mangga. Mangga yang telah disiapkan, dikupas dan dipisah antara kulit buah dengan daging buah mangga. Kulit mangga kemudian dikeringkan dan diekstraksi menggunakan cara maserasi sehingga dihasilkan maserat kental dari ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis.

3.5.2 Lama Perdarahan

Lama perdarahan adalah waktu mulai timbulnya tetes darah pertama dari pembuluh darah yang luka sampai darah berhenti mengalir keluar dari pembuluh darah dan ditunggu apabila terjadi perdarahan ulang (*re-bleeding*) dalam waktu 30 menit. Proses ini dilakukan dengan cara memotong ekor mencit 10 mm dari ujung ekor menggunakan gunting kemudian ekor segera dimasukkan ke dalam tabung berisi normal saline yang telah dihangatkan (37⁰ C) (Liu, *et al.*, 2012).

3.6 Rancangan Penelitian

Jenis rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Randomized Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ini menganggap kasus-kasus telah dirandomisasi, baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol, sehingga kelompok tersebut dianggap sama sebelum dilakukan perlakuan (Notoatmodjo, 2012; dan Tjokropawiro, 2002). Proses pelaksanaan rancangan penelitian ini diawali dengan pemisahan subjek studi secara random kemudian kelompok eksperimen mendapatkan perlakuan dan diamati efek yang terjadi akibat intervensi dan hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol (*post-test*) (Budiarto, 2003). Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

Po = populasi mencit

R = pengelompokan mencit secara *simple random sampling*

S = sampel

K- = kelompok kontrol negatif dengan pemberian CMC Na 1%

K+ = kelompok kontrol positif dengan pemberian Aspirin 0.195 mg/20grBB mencit

- P₁ = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dosis 1.05 mg/gr mencit 1 kali sehari dalam 7 hari
- P₂ = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dosis 2.10 mg/gr mencit 1 kali sehari dalam 7 hari
- P₃ = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dosis 4.20 mg/gr mencit 1 kali sehari dalam 7 hari
- P₄ = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dosis 8.40 mg/gr mencit 1 kali sehari dalam 7 hari
- P₅ = kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak kulit mangga arumanis dosis 16.80 mg/gr mencit 1 kali sehari dalam 7 hari
- B_T = pengukuran lama perdarahan pada hari ketujuh 5-6 jam setelah pemberian ekstrak kulit mangga arumanis terakhir
- A = analisis data

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu:

- (1) kandang mencit,
- (2) tempat makan dan minum mencit,
- (3) sonde lambung,
- (4) masker dan sarung tangan,
- (5) timbangan berat badan mencit,
- (6) blender, oven, *rotary evaporator*,
- (7) gunting,
- (8) stopwatch,
- (9) mortar dan stamper, dan
- (10) gelas ukur.

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain:

- (1) kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis kering,
- (2) aspirin,
- (3) serbuk CMC Na,
- (4) aquadest,
- (5) etanol 80%,
- (6) normal saline, dan
- (7) pakan mencit standar.

3.8 Prosedur Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian, hewan coba diadaptasikan selama 7 hari kemudian dilakukan pemberian ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L) arumanis pada hari ke-8 hingga hari ke-14 dan dilakukan pemeriksaan lama perdarahan pada hari ke-14. Prosedur penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yaitu pembuatan ekstrak kulit mangga arumanis, penentuan dosis bahan uji, pembagian kelompok perlakuan, perlakuan hewan coba selama penelitian, dan pengukuran lama perdarahan.

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis

Mangga yang digunakan pada penelitian ini adalah mangga arumanis. Buah mangga yang telah disiapkan dikupas dan dipisahkan antara kulit buah dengan daging buah mangga. Sampel kulit buah mangga dikeringkan selama 3 hari, dilumatkan (pulverized), dan diekstraksi dengan etanol 80% selama 3 hari. Ekstrak kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental pada hari ke-7 (Hana, et al., 2010)

3.8.2 Penentuan Dosis dan Volume Bahan Uji

a. Dosis dan Volume Aspirin

Penghitungan dosis aspirin untuk mencit diberikan sesuai dosis efektif untuk manusia (70 kg) yang dikonversikan ke dosis mencit (20 gr). Menurut Deitcher (2005), dosis efektif aspirin sebagai anti-agregasi platelet adalah 75 mg – 325 mg perhari.

$$\begin{aligned} \text{Dosis Aspirin (mencit 20 gr)} &= 75 \text{ mg} \times 0.0026 \\ &= 0.195 \text{ mg} \end{aligned}$$

Jadi Aspirin diberikan sebanyak 0.195 mg/20 g mencit untuk masing-masing mencit dengan disonde pada kelompok kontrol positif satu kali dalam sehari.

b. Dosis Ekstrak Kulit Mangga (*Mangifera indica* L.) Arumanis

Dosis ekstrak kulit mangga diperoleh dari penelitian mengenai efek lama perdarahan pada ekstrak parsley (Gadi *et al.*, 2009). Menurut Gadi *et al.* (2009), pemberian ekstrak parsley secara oral 3gr/kg pada tikus mampu meningkatkan lama perdarahan secara signifikan. Penggunaan penelitian oleh Gadi *et al.* (2009) sebagai acuan penentuan dosis dikarenakan adanya kesamaan kandungan antara parsley dan kulit mangga. Hal ini didukung oleh Gadi *et al.* (2012) yang menyebutkan kandungan terbesar pada parsley yang menyebabkan terjadinya antiagregasi platelet adalah kandungan flavonoidnya.

Sehingga diperoleh dosis ekstrak kulit mangga pada penelitian ini sebagai berikut. Pertama dilakukan penghitungan dosis ekstrak parsley 3gr/kg untuk tikus dengan berat 200 gr:

$$\begin{aligned} \text{dosis ekstrak parsley} &= 3\text{gr}/1000\text{gr} \times 200 \text{ gr} \\ \text{(pada tikus 200 gram)} &= 0.6\text{gr}/200\text{gr} \end{aligned}$$

Tahap kedua dilakukan konversi dosis tikus (200 gr) ke mencit (20 gr):

$$\begin{aligned} \text{dosis mencit 20 gram} &= 0.6 \times 0.14 \\ &= 0.084 \text{ gr}/20 \text{ gr mencit} = 4.2 \text{ mg}/\text{gr mencit} \end{aligned}$$

Dosis ini kemudian dibuat kedalam 5 kelompok dosis ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis, yaitu: 1.05 mg/gr; 2.1 mg/gr; 4.2 mg/gr; 8.4 mg/gr; 16.8 mg/gr.

3.8.3 Pembagian Kelompok dan Pembagian Hewan Coba

Hewan coba dibagi dalam 7 kelompok yang terdiri atas 5 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol dengan jumlah mencit pada masing-masing kelompok adalah 4 ekor. Masing-masing hewan coba dibagi kedalam:

- 1) kelompok kontrol negatif adalah kelompok yang disonde CMC Na 1% dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,
- 2) kelompok kontrol positif adalah kelompok yang disonde aspirin dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*, dan
- 3) kelompok perlakuan (P1-P5) adalah kelompok yang disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sesuai dengan dosis dan diberi pakan standar dan minum.

3.8.4 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Penelitian dilakukan dalam 14 hari dengan pembagian 7 hari untuk adaptasi hewan coba dan 7 hari untuk perlakuan pada mencit. Perlakuan pada hewan coba pada penelitian ini, sebagai berikut:

- 1) kelompok kontrol negatif disonde CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,
- 2) kelompok kontrol positif disonde aspirin 0.195 mg/20grBB yang telah dilarutkan dengan CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,
- 3) kelompok perlakuan 1 (P1) disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sebanyak 1.05 mg/grBB yang telah dilarutkan dalam CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,

- 4) kelompok perlakuan 2 (P2) disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sebanyak 2.10 mg/grBB yang telah dilarutkan dalam CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,
- 5) kelompok perlakuan 3 (P3) disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sebanyak 4.20 mg/grBB yang telah dilarutkan dalam CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*,
- 6) kelompok perlakuan 4 (P4) disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sebanyak 8.40 mg/grBB yang telah dilarutkan dalam CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*, dan
- 7) kelompok perlakuan 5 (P5) disonde ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica* L.) arumanis sebanyak 16.80 mg/grBB yang telah dilarutkan dalam CMC Na 1% satu kali sehari dan diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*.

Pada hari ketujuh dilakukan pemeriksaan lama perdarahan pada semua sampel.

3.8.5 Penilaian Lama Perdarahan

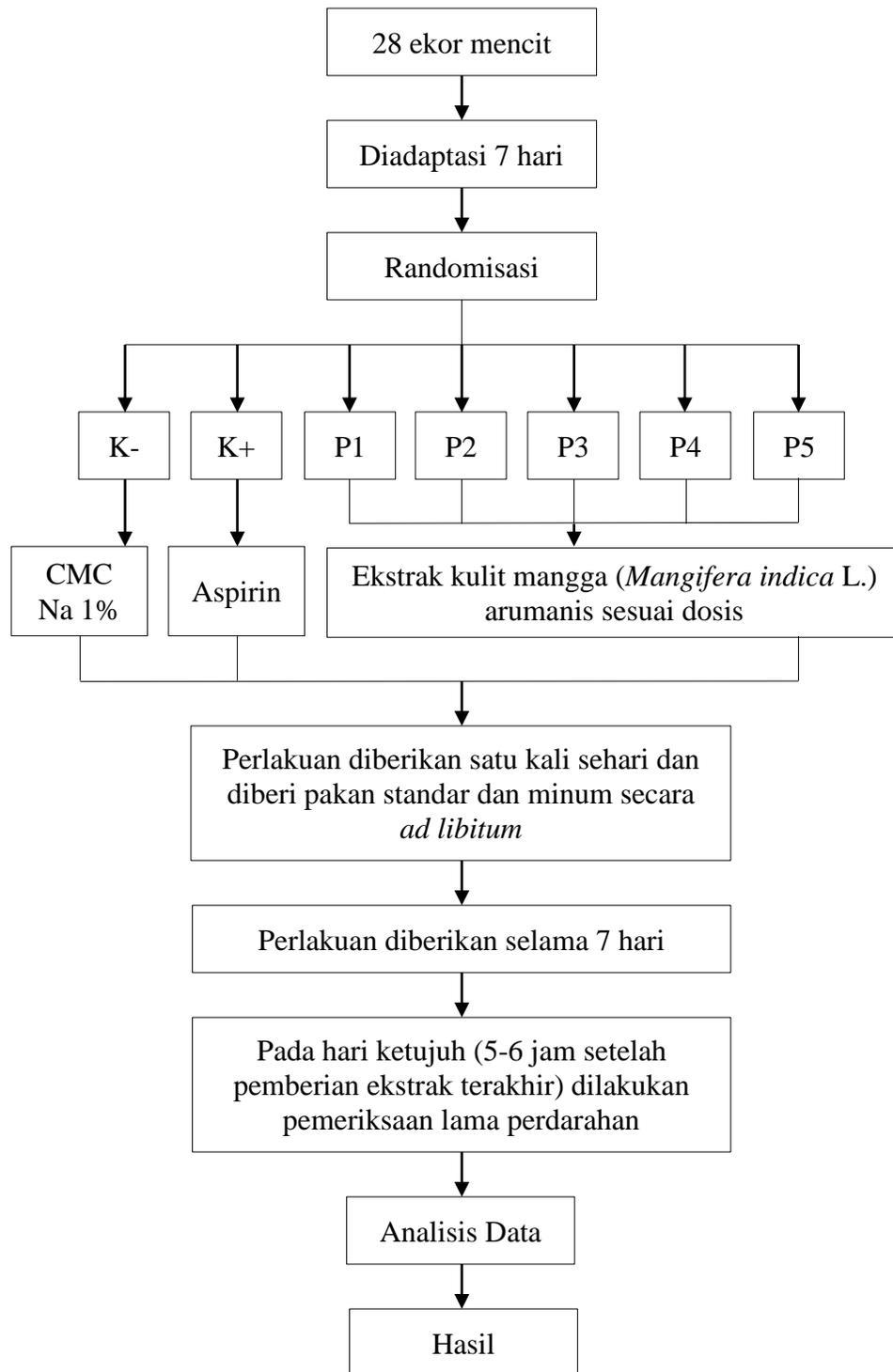
Pada hari ketujuh, 5-6 jam setelah pemberian perlakuan terakhir dilakukan pemotongan ekor mencit 10 mm dari ujung ekor menggunakan gunting. Ekor yang telah dipotong bagian ujungnya dimasukkan dalam tabung berisi normal saline yang telah dihangatkan (37^0 C). Lama perdarahan dihitung menggunakan *stopwatch* mulai timbulnya tetes darah dari pembuluh darah yang luka sampai darah berhenti mengalir keluar dari pembuluh darah (Liu, *et al.*, 2012). Penilaian waktu perdarahan ditunggu hingga 30 menit untuk melihat adanya *re-bleeding* sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan pada bulan Desember tahun 2015.

3.9 Analisis Data

Data ditabulasi dalam tabel dan disajikan dalam diagram batang. Langkah-langkah dalam analisis data, yaitu:

1. dilakukan uji normalitas menggunakan parameter *Shapiro-Wilk* yang bernilai normal apabila $p > 0,05$;
2. dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's test* dengan nilai signifikansi $p > 0.05$;
3. apabila distribusi data tersebar normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada atau tidaknya efek ekstrak kulit mangga (*Mangifera indica L.*) arumanis terhadap lama perdarahan mencit putih jantan namun apabila distribusi data tidak tersebar normal dan/atau tidak homogen, digunakan uji *Kruskal Wallis* (Dahlan, 2009).

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian