



**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET, ANTIKOAGULAN, DAN  
TROMBOLISIS EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH  
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

**SKRIPSI**

Oleh

**Prisma Wahyuning Inayah  
NIM 112210101037**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET, ANTIKOAGULAN, DAN  
TROMBOLISIS EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH  
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Pendidikan Strata Satu Fakultas Farmasi  
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**Prisma Wahyuning Inayah  
NIM 112210101037**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibu Sri Wahyuni dan Bapak Heru Puguh Yuana tercinta atas kasih sayang, bimbingan, semangat dan doa demi kesuksesanku;
2. Adik Limas Cahyaning Az-Zahrawaani, yang selalu memberikan semangat;
3. guru-guru sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi yang telah bersedia berbagi ilmu dan wawasan;
4. Almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

Bahwa tiada yang orang dapatkan, kecuali yang ia usahakan,  
dan bahwa usahanya akan kelihatan nantinya.  
(terjemahan Surat *An Najm* ayat 39-40)<sup>\*)</sup>

Berhentilah mengeluh! Kalau pilihan sudah dijatuhkan tinggallah kita fokus di  
pilihan itu. Sepenuh hati. Tidak ada pikiran lain kecuali bekerja.<sup>\*\*)</sup>

---

<sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 2010. *Al Qur'an dan Terjemah untuk Wanita*. Bandung: Penerbit Hilal.

<sup>\*\*)</sup> Dahlan Iskan dalam Fanany, Burhan El. 2012. *Dahlan Iskan: Nothing to Lose Pemimpin Visioner Tanpa Hati*. Yogyakarta: Araska

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Prisma Wahyuning Inayah

NIM : 112210101037

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi 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 pernyataan ini tidak benar.

Jember, 8 April 2015

Yang menyatakan,

Prisma Wahyuning Inayah

NIM 112210101037

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET, ANTIKOAGULAN, DAN  
TROMBOLISIS EKSTRAK ETANOL DAUN BELIMBING WULUH  
(*Averrhoa bilimbi* L) *IN VITRO***

Oleh

Prisma Wahyuning Inayah  
NIM 112210101037

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt.

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

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : 8 April 2015

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing:**

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt.

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

NIP. 197807282005012001

NIP. 198107232006042002

**Tim Penguji:**

Penguji I,

Penguji II,

Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt.

Eka Deddy Irawan S.Si., M.Sc., Apt.

NIP. 197812212005012002

NIP. 197503092001121001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

Lestyo Wulandari, S.Si., Apt, M.Farm.

NIP. 197604142002122001



## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) *in vitro***; Prisma Wahyuning Inayah, 112210101027; 2015; 68 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Sistem hemostatis normal penting bagi kehidupan untuk menjaga keseimbangan faktor trombogenik dan mekanisme proteksi. Trombosis terjadi jika endotel mengalami kerusakan (misalnya akibat lepasnya suatu plak aterosklerosis). Trombosis dapat menyebabkan serangan jantung dan *stroke*. Pada tahun 2014 jumlah penderita penyakit jantung di Amerika pada kelompok usia lebih 20 tahun mencapai lebih dari 80% dari total populasi dan lebih dari 13% dari total populasi menderita *stroke*.

Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antitrombosis yang meliputi antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis. Aktivitas antiplatelet diduga disebabkan kandungan flavonoid dan alkaloid.. Aktivitas antikoagulan diduga disebabkan kandungan flavonoid dan oksalat. Sedangkan aktivitas trombolisis diduga disebabkan flavonoid dan alkaloid.

Tujuan penelitian adalah mengetahui aktivitas antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Hasil penelitian diharapkan dapat menambah nilai ekonomi tanaman belimbing wuluh, serta dapat digunakan sebagai dasar teori bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak daun belimbing wuluh.

Pengujian aktivitas antiplatelet dilakukan dengan mengukur kekeruhan *platelet rich plasma* (PRP) sebelum dan sesudah diinduksi dengan *adenosine diphosphate* (ADP). Pengujian aktivitas antikoagulan dilakukan dengan menentukan waktu pembekuan yang meliputi *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT). Uji aktivitas trombolisis dilakukan



dengan menentukan presentase lisis bekuan. Seluruh hasil pengujian dianalisis menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significantly Difference (LSD)*.

Hasil uji aktivitas antiplatelet menunjukkan terjadinya penurunan persentase agregasi platelet dari kelompok kontrol negatif  $61,178 \pm 0,470$  %. Pada penambahan ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL; 1 mg/mL; 0,5 mg/mL dan 0,25 mg/mL persen agregasinya masing-masing mengalami penurunan menjadi  $13,114 \pm 0,9515$  %;  $19,852 \pm 0,469$  %;  $31,179 \pm 0,541$  %; dan  $42,617 \pm 0,479$  %.

Pada pengujian aktivitas antikoagulan digunakan ekstrak dengan konsentrasi yang menunjukkan aktivitas tertinggi pada uji antiplatelet. Hasil pengujian menunjukkan terjadi perpanjangan PT maupun aPTT. Pada penambahan ekstrak etanol belimbing wuluh 2 mg/mL nilai PT menjadi 1,47 kali dan nilai aPTT menjadi 1,24 kali lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal tersebut menunjukkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antikoagulan pada jalur ekstrinsik (perpanjangan PT) dan jalur intrinsik (perpanjangan aPTT).

Hasil pengujian menunjukkan persen lisis bekuan pada kelompok kontrol negatif adalah  $1,8810 \pm 0,0815$  %, sedangkan pada penambahan ekstrak 0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL dan 2 mg/mL terjadi peningkatan berturut-turut menjadi  $6,8289 \pm 0,1093$  %;  $10,9566 \pm 0,1699$  %;  $15,7043 \pm 0,3192$  %; dan  $22,7709 \pm 0,7532$  %.

Berdasarkan hasil pengujian maka dapat disimpulkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet yang ditandai dengan penurunan persentase agregasi, memiliki aktivitas antikoagulan yang ditandai dengan perpanjangan PT dan aPTT serta aktivitas trombolisis yang ditandai dengan peningkatan persentase lisis. Aktivitas yang memiliki potensi paling tinggi adalah antiplatelet.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul: “Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak 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. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt, M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik, dan Dosen Pembimbing Utama serta Ibu Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota atas waktu, pikiran perhatiannya dalam membimbing dan memberi petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt. dan Bapak Eka Deddy Irawan S.Si., M.Sc., Apt. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu, bimbingan, saran dan kritik kepada penulis;
5. Orangtuaku tercinta, Ibu Sri Wahyuni dan Bapak Heru Puguh Yuana. Terima kasih atas kasih sayang, perhatian, dukungan, motivasi serta ketulusan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanan selama ini;
6. Adik Limas Cahyaning Az-zahrawaani dan segenap keluarga besarku di Lamongan yang telah memberikan motivasi serta do'anya hingga terselesaikan skripsi ini;

7. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Laboratorium Biologi serta Mbak Indri dan Mbak Dhinik selaku teknisi di Laboratorium Farmasi Klinik atas dukungan semangat dan bantuan selama penulis menyelesaikan penelitian;
8. Sahabat-sahabatku tersayang, Fitria, Yuniar, Rara, Tiwi, Alifia, Estika, Icha, Puspita, Lintang, Meme, Ika, Yeni, Habibi, terima kasih telah memberikan motivasi dan berada di sisiku selama menjalani kehidupan di Jember dalam suka maupun duka;
9. Maharja, Sakka, Ridho, Edwin, Agus, Yodhi, dan Huda selaku probandus dalam penelitian ini. Terimakasih, sumbangan darah kalian sangat berarti dalam pengerjaan skripsi ini;
10. Nora, Dyas, Tryas, Lely dan keluarga besar Kos Putri Melati lainnya, terimakasih atas segala bantuan dan motivasinya.;
11. Keluarga besar UKM Karya Riset Mahasiswa (KARISMA) 2013-2014 dan Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) 2012-2013, terimakasih atas pengalaman yang diberikan;
12. Keluarga besar ASMEF (Farmasi 2011), yang tidak dapat disebutkan satu per satu terima kasih atas persaudaraan, semangat dan doa kalian;
13. Guru-guruku yang terhormat mulai TK, SD, SMP, SMA hingga perguruan tinggi;
14. 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.

Jember, 8 April 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Tinjauan tentang Tanaman Belimbing Wuluh</b> .....	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
<b>2.2 Tinjauan tentang Hemostasis dan Trombosis</b> .....	7
<b>2.3 Tinjauan tentang Agregasi Platelet</b> .....	8

<b>2.4</b>	<b>Tinjauan tentang Koagulasi</b> .....	10
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan tentang Mekanisme Trombolisis</b> .....	12
<b>2.6</b>	<b>Tinjauan tentang Obat Antiagregasi Platelet</b> .....	13
2.6.1	Inhibitor Adhesi Platelet .....	14
2.6.2	Inhibitor Aktivasi Platelet .....	15
2.6.3	Inhibitor Agregasi Platelet .....	17
2.6.4	Inhibitor Jalur Inflamasi Platelet .....	17
<b>2.7</b>	<b>Tinjauan tentang Obat Antikoagulan</b> .....	17
2.7.1	Heparin .....	18
2.7.2	Antikoagulan Oral .....	18
<b>2.8</b>	<b>Tinjauan tentang Obat Trombolisis</b> .....	18
<b>2.9</b>	<b>Tinjauan tentang Belimbing Wuluh sebagai Antitrombosis</b> .....	19
<b>2.10</b>	<b>Tinjauan tentang Metode Pengujian</b> .....	20
2.10.1	Metode Pengujian Antiplatelet .....	20
2.10.2	Metode Pengujian Antikoagulan .....	20
2.10.3	Metode Pengujian Trombolisis.....	21
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN</b> .....	22
<b>3.1</b>	<b>Jenis, Tempat, dan Waktu Penelitian</b> .....	22
3.1.1	Jenis Penelitian .....	22
3.1.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	21
<b>3.2</b>	<b>Rancangan Penelitian</b> .....	22
<b>3.3</b>	<b>Bahan dan Alat</b> .....	22
<b>3.4</b>	<b>Variabel Penelitian</b> .....	24
3.4.1	Variabel Bebas .....	24
3.4.2	Variabel Terikat .....	24
3.4.3	Variabel Terkendali .....	24
<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional Penelitian</b> .....	25
<b>3.6</b>	<b>Prosedur Pengujian</b> .....	25



3.6.1	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh	25
3.6.2	Pemilihan Relawan Sehat .....	26
3.6.3	Pembuatan Na Sitrat 3,2 % .....	27
3.6.4	Pembutan ADP .....	27
3.6.5	Pembuatan Larutan Uji .....	27
3.6.6	Pembuatan Larutan Aspirin untuk Uji Agregasi Platelet .....	27
3.6.7	Pembuatan Larutan Heparin untuk Uji Antikoagulan .....	27
3.6.8	Uji Aktivitas Antiplatelet .....	28
3.6.9	Uji Aktivitas Antikoagulan.....	28
3.6.10	Uji Aktivitas Trombolisis .....	29
<b>3.7</b>	<b>Analisis Data</b> .....	30
<b>3.8</b>	<b>Alur Penelitian</b> .....	31
3.8.1	Pembuatan Ekstrak .....	31
3.8.2	Pengujian Aktivitas Antiplatelet .....	32
3.8.3	Pengujian Aktivitas Antikoagulan.....	33
3.8.4	Pengujian Aktivitas Trombolisis .....	34
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b>		
<b>4.1</b>	<b>Hasil</b> .....	35
4.1.1	Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh.....	35
4.1.2	Uji Aktivitas Antiplatelet.....	35
4.1.3	Uji Aktivitas Antikoagulan.....	36
4.1.4	Uji Aktivitas Trombolisis .....	38
<b>4.2</b>	<b>Pembahasan</b> .....	40
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....		
5.1	Kesimpulan.....	46
5.2	Saran .....	46

**DAFTAR PUSTAKA** ..... 47  
**LAMPIRAN**..... 53





DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun tanaman belimbing wuluh ( <i>Averrhoa bilimbi</i> L.) .....	6
2.2 Skema proses hemostasis dan trombolisis.....	8
2.3 Hemostasis yang dimediasi oleh platelet.....	9
2.4 Adesi dan agregasi platelet .....	10
2.5 Mekanisme koagulasi darah .....	11
2.6 Pembentukan fibrin.....	12
2.7 Mekanisme trombolisis.....	13
2.8 Mekanisme antiagregasi platelet.....	14
2.9 Mekanisme kerja aspirin pada enzim siklooksigenase .....	16
3.1 Rancangan penelitian.....	23
3.2 Alur kerja pembuatan ekstrak etanol daun belimbing wuluh .....	31
3.3 Alur kerja penentuan pengujian aktivitas antiplatelet .....	32
3.4 Alur kerja penentuan pengujian aktivitas antikoagulan.....	33
3.5 Alur kerja penentuan aktivitas trombolisis .....	34
4.1 Persentase agregasi platelet .....	36
4.2 Hasil pengujian <i>prothrombin time</i> (PT).....	37
4.3 Hasil pengujian <i>activated partial thrombin time</i> (aPTT) .....	38
4.4 Bekuan pada pengujian aktivitas trombolisis .....	38
4.5 Persentase bekuan lisis setelah penambahan ekstrak dan diinkubasi 90 menit .....	39
4.6 Mekanisme kerja flavonoid dan alkaloid sebagai trombolisis.....	41
4.7 Mekanisme aktivitas antikoagulan flavonoid dan oksalat .....	44
4.8 Mekanisme kerja flavonoid dan alkaloid sebagai trombolisis.....	45

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A Data Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet.....	53
A.1 Kontrol negatif (akuades).....	53
A.2 Konsentrasi 0,25 mg/mL.....	53
A.3 Konsentrasi 0,5 mg/mL.....	54
A.4 Konsentrasi 1 mg/mL.....	54
A.5 Konsentrasi 2 mg/mL.....	54
A.6 Konsentrasi positif (Asetosal 1 mg/mL) .....	55
B Data Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan.....	57
B.1 <i>Prothrombin time</i> (PT).....	57
B.1.1 Kontrol negatif (akuades).....	57
B.1.2 Ekstrak 2 mg/mL.....	57
B.1.3 Kontrol positif (Heparin 1 mg/mL) .....	57
B.2 <i>Activated partial thromboplastin time</i> (aPTT).....	57
B.2.1 Kontrol negatif (akuades).....	57
B.2.2 Ekstrak 2 mg/mL.....	58
B.2.3 Kontrol positif (Heparin 1 mg/mL).....	58
C Data Hasil Uji Aktivitas Trombolisis .....	59
D Hasil Analisis Data .....	60
D.1 Uji Aktivitas Antiplatelet.....	60
D.1.1 Uji Normalitas .....	60
D.1.2 Uji Homogenitas.....	60
D.1.3 Uji Anova .....	60
D.1.4 Uji LSD .....	61
D.2 Uji Aktivitas Antikoagulan .....	62
D.2.1 <i>Prothrombin time</i> (PT).....	62

D.2.2	<i>Activated partial thromboplastin time (aPTT)</i> .....	63
D.3	Uji Aktivitas Trombolisis.....	64
D.3.1	Uji Normalitas .....	64
D.3.2	Uji Homogenitas.....	64
D.3.3	Transformasi Uji Homogenitas .....	64
D.3.4	Uji Anova .....	65
D.3.5	Uji LSD .....	65
E	Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan .....	66
F	Lembar Persetujuan Etik.....	67

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Sistem hemostatis yang normal penting bagi kehidupan untuk menjaga keseimbangan faktor trombogenik dan mekanisme proteksi. Trombus berfungsi sebagai sumbat hemostatik pada saat terjadi luka dan mekanisme koagulasi teraktivasi. Sumbat hemostatik ini terdiri dari platelet yang teragregasi, benang fibrin dan komponen darah lainnya (Lullmann *et al.*, 2000). Gangguan tromboemboli (trombosis) terjadi jika endotel yang melapisi pembuluh darah mengalami kerusakan atau terlepas (misalnya akibat ruptur suatu plak aterosklerosis). Proses ini juga mencakup agregasi platelet, pembekuan darah (koagulasi) dan pembentukan trombus (Murray *et al.*, 2009).

Trombosis pada arteri akibat adanya plak aterosklerosis dapat menyebabkan serangan jantung dan *stroke*. Trombosis pada vena merupakan gangguan vaskuler yang paling sering terjadi setelah serangan jantung dan *stroke* (Gross dan Weitz, 2009). Insidensi gangguan trombosis yang terjadi pada arteri maupun vena sangat tinggi. Pada tahun 2014 jumlah penderita penyakit jantung di Amerika pada kelompok usia lebih 20 tahun mencapai lebih dari 80% dari total populasi dan lebih dari 13% dari total populasi menderita *stroke* (American Heart Association, 2014). Hal tersebut menyebabkan penelitian mengenai obat antitrombosis menarik untuk dilakukan.

Terapi trombosis yang selama ini ada meliputi antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis. Antiplatelet merupakan agen yang digunakan untuk mencegah terjadinya agregasi platelet. Antikoagulan diberikan untuk mencegah terjadinya koagulasi pada platelet yang telah teragregasi. Trombolisis digunakan untuk

melisiskan trombus yang telah terbentuk (Gross dan Weitz, 2009). Agen antitrombosis dapat berupa senyawa sintesis maupun berasal dari alam.

Permasalahan dari beberapa obat antitrombosis yang sudah ada juga menjadi penyebab pentingnya penemuan alternatif sumber bahan alam atau senyawa baru yang memiliki aktivitas antitrombosis. Salah satu permasalahan tersebut adalah resistensi aspirin sebagai antiplatelet. Prevalensi resistensi aspirin berkisar antara 5%-60%, tergantung dari penggunaan dosis dan tingkat penyakit yang diderita (Saraf *et al.*, 2009). Permasalahan lain yang timbul adalah penggunaan warfarin sebagai antikoagulan jangka panjang untuk mencegah stroke pada kelompok yang berisiko akan menghasilkan metabolit yang dapat menyebabkan terjadinya polimorfisme genetik (Gross dan Weitz, 2009). Selain itu penggunaan trombolisis dapat menyebabkan terjadinya pendarahan yang dapat berujung pada kematian. Data yang ada menunjukkan bahwa 4% dari pasien mengalami perdarahan besar, dan lebih dari 14% membutuhkan transfusi darah (Moscucciet *et al.*, 2003).

Eksplorasi sumber obat antitrombosis yang berasal dari tanaman banyak dilakukan oleh peneliti. Tanaman tersebut antara lain adalah bawang putih (*Allium sativum*) (Arifin, 2004), *Garcinia* sp. (Jantan *et al.*, 2011), dan kubis merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (Putri *et al.*, 2014). Belimbing wuluh merupakan salah satu tanaman yang diduga memiliki aktivitas antitrombosis. Ekstrak etanol 80% dari buah dan daun belimbing wuluh menunjukkan aktivitas antikoagulan pada tikus diabetes (Daud *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Shidique *et al.* (2013) juga menunjukkan beberapa fraksi ekstrak kulit batang belimbing wuluh juga memiliki aktivitas trombolisis.

Senyawa kimia yang terdapat dalam belimbing wuluh antara lain alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, glikosida, triterpen, fenol, dan karbohidrat (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Flavonoid merupakan salah satu kandungan yang diduga memiliki aktivitas antitrombosis. Flavonoid mampu menghambat pelepasan mediator asam arakidonat yang menyebabkan tromboksan A<sub>2</sub> tidak



terbentuk sehingga tidak mampu mengaktivasi platelet untuk beragregasi (Lafuente *et al.*, 2009); mengikat radikal bebas dan mempertahankan konsentrasi prostasiklin dan nitrit oksid pada endotel sehingga dapat menghambat interaksi monosit dengan endotel dan agregasi trombosit (Nijveldt *et al.*, 2001); menghambat interleukin 1 yang menginduksi faktor jaringan yang merupakan faktor ekstrinsik dalam mekanisme pembekuan darah (Guglimone *et al.*, 2002). Oleh karena itu, kandungan flavonoid pada belimbing wuluh diduga memiliki aktivitas antitrombosis.

Berdasarkan pemaparan di atas, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antiplatelet, antikoagulan dan trombolisis dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh. Penelitian bioaktivitas ekstrak tersebut dilakukan *in vitro*. Pengujian aktivitas antiplatelet dilakukan dengan mengukur kekeruhan *platelet rich plasma* (PRP) sebelum dan sesudah diinduksi dengan ADP (Vogel, 2002). Pengujian aktivitas antikoagulan dilakukan dengan menentukan waktu pembekuan yang meliputi *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) (Ulfa *et al.*, 2014). Uji aktivitas trombolisis dilakukan dengan menentukan presentase bekuan lisis (Siddique *et al.*, 2013).

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian di atas dapat disusun rumusan permasalahan, yaitu apakah ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis?

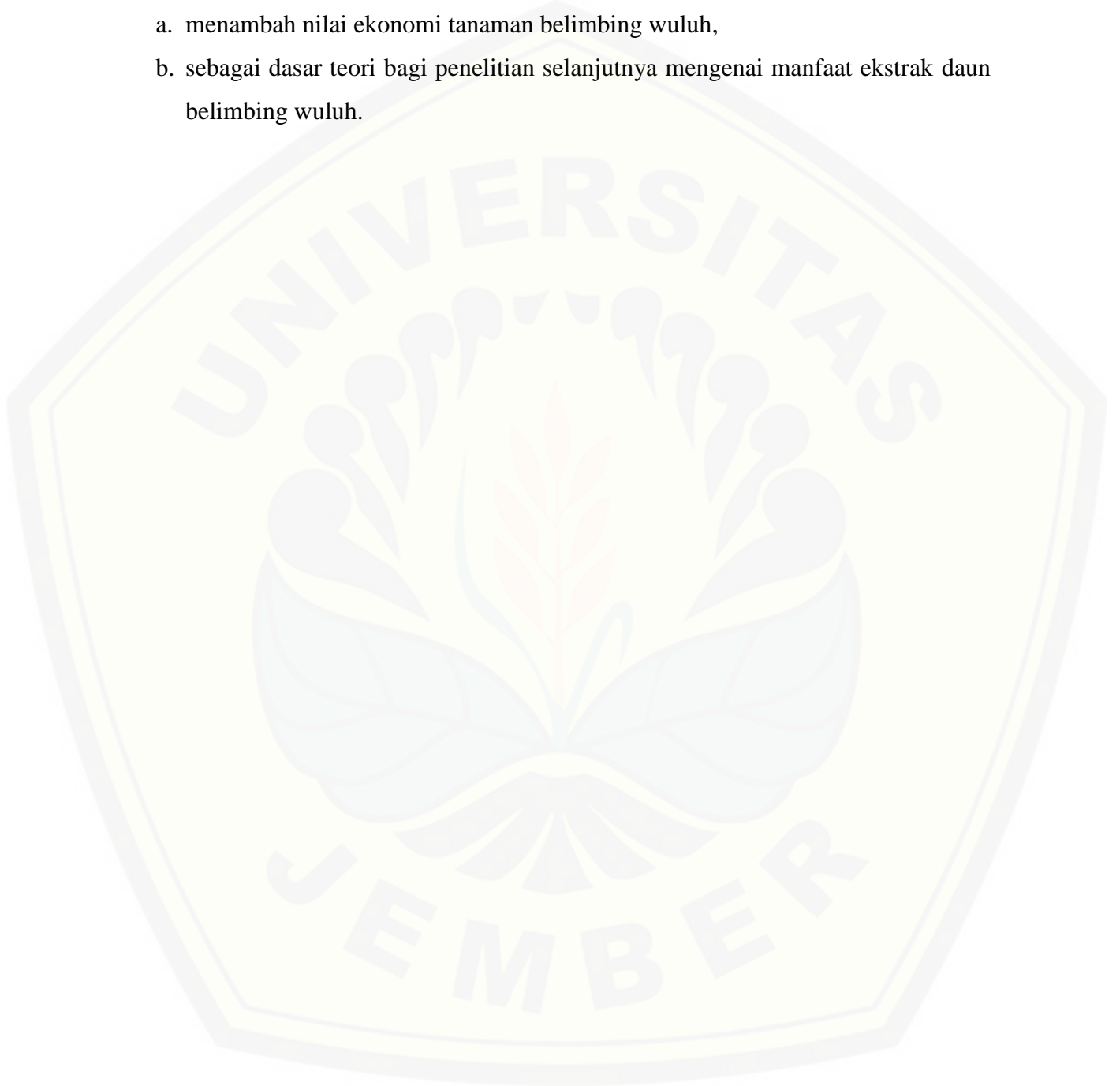
## 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui aktivitas antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain:

- a. menambah nilai ekonomi tanaman belimbing wuluh,
- b. sebagai dasar teori bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak daun belimbing wuluh.





## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang Tanaman Belimbing Wuluh

#### 2.1.1 Klasifikasi Belimbing Wuluh

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

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Oxalidles
Famili	: Oxalidaceae
Genus	: <i>Averrhoa</i>
Spesies	: <i>Averrhoa bilimbi</i> L.

#### 2.1.2 Diskripsi Belimbing wuluh

Belimbing wuluh merupakan pohon tropis yang berumur panjang. Tinggi pohon mencapai 5-10 m; memiliki batang pendek yang segera membentuk beberapa cabang yang tegak. Kayu memiliki warna putih, bahkan keabu-abuan. Daun majemuk menyirip ganjil dengan 21-45 pasang anak daun. Anak daun bertangkai pendek, bentuknya bulat telur, ujung runcing, pangkal membulat, tepi rata, panjang 2-10 cm, lebar 1,2-1,25 cm (Orwa *et al.*, 2009). Gambar daun tanaman belimbing wuluh ditunjukkan oleh Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Daun tanaman belimbing wuluh

Belimbing wuluh merupakan pohon tropis yang sensitif terhadap dingin terutama ketika sangat muda. Tanaman ini lebih menyukai sinar matahari langsung dan iklim lembab, dan curah hujan yang merata hampir sepanjang tahun tetapi ada 2-3 bulan musim kering (Roy *et al.*, 2011). Tanaman ini biasa tumbuh di berbagai negara seperti Indonesia, Malaysia, Argentina, Australia, Brazil, Kolombia, Kuba, Ekuador, Guyana, India, Jamaika, Myanmar, Filipina, Puerto Rico, Singapura, Sri Lanka, Suriname, Tanzania, Thailand, Trinidad dan Tobago, AS, Venezuela (Siddique *et al.*, 2013).

### 2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Senyawa pada Tanaman Belimbing Wuluh

Pemanfaatan ekstrak belimbing wuluh telah banyak dilakukan. Belimbing wuluh mengobati batuk, pilek, gatal, bisul, rematik, sifilis, diabetes, batuk rejan, dan hipertensi. Belimbing wuluh juga digunakan dalam pengobatan batuk anak-anak (sirup dari bunga), dan sakit perut. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh dan fraksi semi-dimurnikannya memiliki aktivitas hipoglikemik dan hipolipidemik. Ekstrak daun belimbing wuluh segar juga dapat dimanfaatkan sebagai antiinflamasi, dan sariawan (Roy *et al.*, 2011).

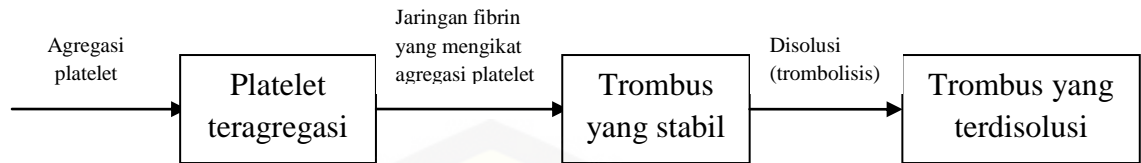
Kandungan kimia yang teridentifikasi pada belimbing wuluh meliputi asam alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, glikosida, triterpen, fenol, dan karbohidrat (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) juga mengandung asam oksalat yang tinggi jika dibandingkan dengan *Averrhoa carambola* (Joseph dan Mendonca, 1991).

## 2.2 Tinjauan tentang Hemostasis dan Trombosis

Hemostasis merupakan proses penghentian perdarahan akibat pembuluh darah yang terpotong atau robek, sedangkan trombosis terjadi jika endotel yang melapisi pembuluh darah mengalami kerusakan atau terlepas (misal akibat aterosklerosis). Proses-proses ini melibatkan pembuluh darah dan mencakup agregasi platelet, pembekuan darah (koagulasi) dan disolusi agregat platelet (Murray *et al.*, 2009).

Pada hemostasis dan trombosis terdapat tiga fase yang sama (Gambar 2.2) meliputi:

- a. Pembentukan agregat platelet yaitu terikatnya platelet dengan kolagen di bagian dinding pembuluh yang cedera, kemudian mengeluarkan *adenosine diphosphate* (ADP) dan membentuk tromboksan  $A_2$  yang mengaktifkan trombosit lain yang mengalir disekitar tempat cedera. Trombin yang terbentuk sewaktu koagulasi di tempat yang sama, juga mengaktifkan platelet yang lain. Jika diaktifkan, platelet berubah bentuk dan dengan adanya fibrinogen akan bergumpal untuk membuat sumbat hemostatik (pada hemostasis) atau trombus (pada trombosis);
- b. Pembentukan jaringan fibrin yang mengikat agregat platelet, membentuk sumbat hemostatik atau trombus yang lebih stabil;
- c. Disolusi sumbat hemostatik atau trombus secara parsial atau total plasmin (Murray *et al.*, 2009).



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

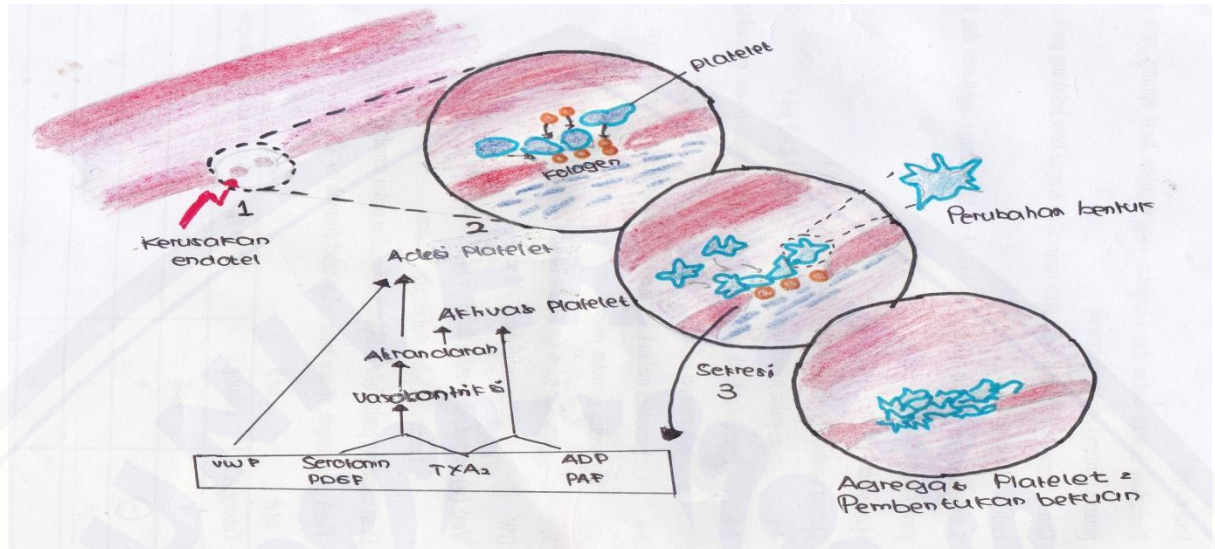
### 2.3 Tinjauan tentang Agregasi Platelet

Sel platelet berasal dari fragmentasi sitoplasma megakariosit sumsum tulang. Interval waktu semenjak diferensiasi sel induk sampai produksi platelet berkisar sekitar 10 hari. Jumlah sel platelet yang bersirkulasi dalam darah tepi sangat tergantung jumlah sel megakariosit, volume sitoplasma megakariosit, umur platelet dan sekuestrasi oleh limpa (Hoffbrand *et al.*, 2002).

Platelet memberikan respon terhadap cedera jaringan dengan melekat pada tempat cedera, kemudian melepaskan granul-granul mengandung mediator kimiawi yang meningkatkan agregasi. Faktor-faktor yang dilepaskan oleh platelet dan jaringan yang cedera menyebabkan aktivasi serangkaian tahap koagulasi. Keadaan ini menyebabkan pembentukan trombin, yang selanjutnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Pengikatan silang berikutnya pada untai fibrin tersebut menstabilkan bekuan (Stringer, 2008).

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 akan beragregasi pada situs luka dan menarik platelet lain untuk menutup bocoran dengan sumbatan platelet. Selanjutnya, sistem koagulasi akan memproduksi fibrin yang saling berikatan silang yang membentuk bekuan fibrin atau trombus yang memperkuat proses penutupan luka. Proses rekanalisasi pembuluh darah dapat dilakukan melalui fibrinolisis (Gambar 2.3) (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).





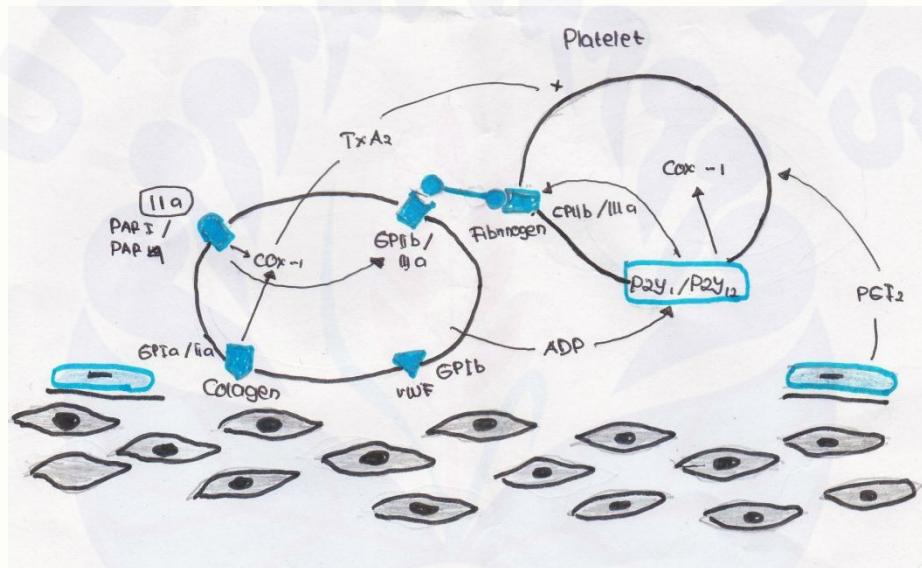
Gambar 2.3 Hemostasis yang dimediasi oleh platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003)

Pada saat terjadi trauma pada sel endotelial, platelet merupakan sel darah yang melekat pada serat kolagen subendotelial yang dijumpai oleh faktor von Willebrand (vWF) yang dibentuk oleh sel endotelial dan bersirkulasi dalam kompleks plasma dengan faktor VIII. Kompleks *glycoprotein* GP Ib/IX pada platelet merupakan reseptor vWF. Proses adesi akan mengaktivasi platelet dan mulai melepaskan senyawa yang meningkatkan daya adesi platelet. Serotonin, *platelet derived growth factor* (PDGF) dan *tromboxane A<sub>2</sub>* (TXA<sub>2</sub>) meningkatkan vasokonstriksi (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

Vasokonstriksi dan kontraksi platelet akan memperlambat aliran darah. Mediator yang dilepaskan oleh platelet meningkatkan aktivasi platelet sehingga menarik dan mengaktivasi 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) yang 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).

Reseptor P2Y1 dan P2Y12 merupakan reseptor untuk ADP dan ketika terstimulasi akan mengaktifasi GP IIb/IIIa dan COX 1 yang meningkatkan sekresi dan daya adesi platelet sehingga memudahkan untuk berikatan dengan fibronectin subendotelial. Tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) merupakan produk dari COX 1 yang mengaktifasi agregasi platelet sedangkan PGI<sub>2</sub> atau prostasiklin dihasilkan oleh sel endotelhel untuk menghambat aktivasi agregasi platelet (Gambar 2.4) (Brunton, 2006).

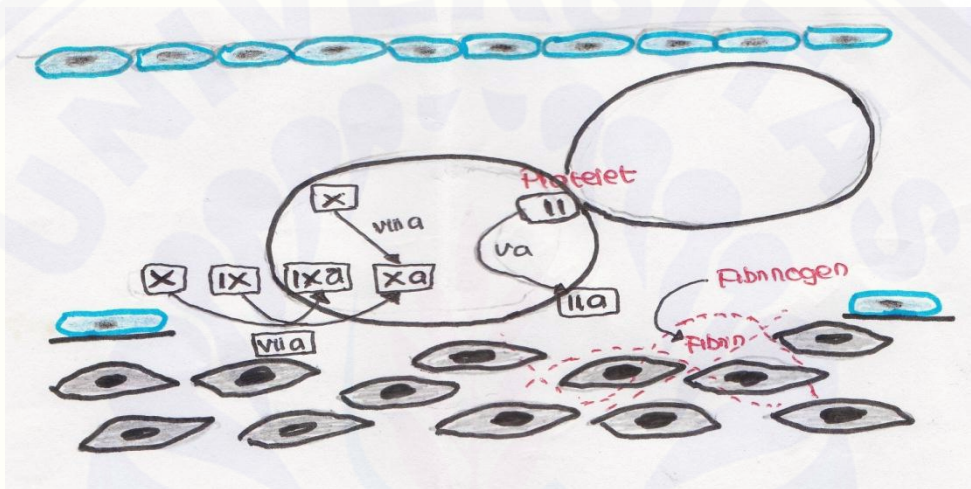


Gambar 2.4 Adesi dan agregasi platelet (Brunton, 2006)

## 2.4 Tinjauan tentang Koagulasi

Koagulasi diinisiasi *in vivo* melalui jalur ekstrinsik. Sejumlah faktor VIIa dalam plasma berikatan dengan faktor jaringan subendotelial setelah adanya trauma vaskular. Faktor jaringan ini akan mempercepat aktivasi faktor X oleh faktor VIIa, fosfolipid, dan Ca<sup>2+</sup>. Faktor VIIa juga dapat mengaktifasi faktor IX yang menghasilkan efek konvergen antara jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik. Pembekuan yang disebabkan oleh jalur intrinsik diinisiasi *in vitro* ketika faktor

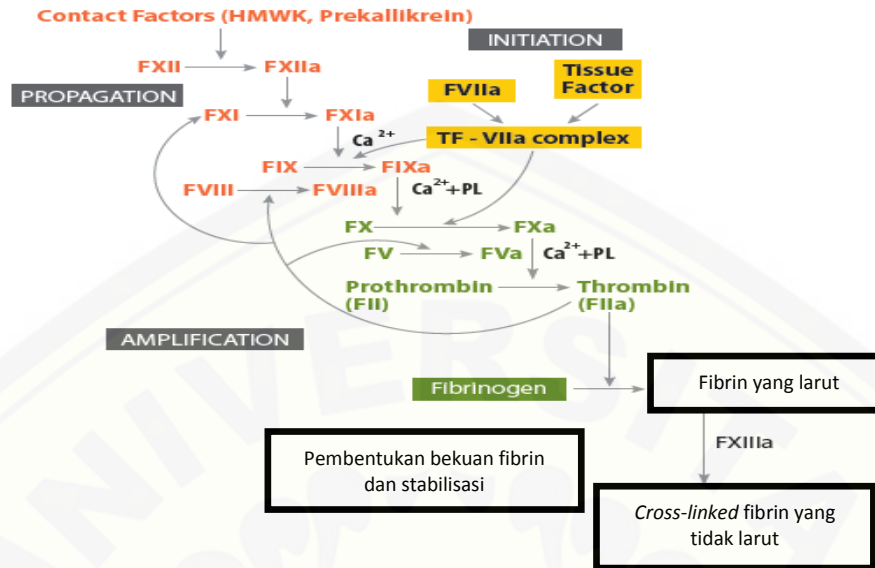
XII, prekalkrein, dan molekul berbobot besar kininogen berinteraksi dengan kaolin, kaca atau permukaan lain yang dapat memicu faktor XIIa. Hal ini akan diikuti dengan aktivasi faktor XI menjadi XIa dan faktor IX menjadi IXa. Faktor IXa akan mengaktifkan faktor X dalam reaksi yang diakselerasi oleh faktor VIIIa, fosfolipid dan  $Ca^{2+}$ . Aktivasi faktor X menjadi Xa oleh faktor IXa muncul disebabkan oleh mekanisme yang sama untuk aktivasi protrombin dan dapat diakselerasi oleh platelet secara *in vivo* (Gambar 2.5) (Brunton, 2006).



Gambar 2.5 Mekanisme koagulasi darah (Brunton, 2006)

Faktor Xa dan Va bersama dengan fosfolipid dan  $Ca^{2+}$  membentuk kompleks protrombinase yang merubah protrombin (Faktor II) menjadi thrombin (Faktor IIa). Trombin akan merubah fibrinogen menjadi monomer fibrin dimana polimernya merupakan bekuan yang larut. Trombin kemudian mengaktifasi faktor XIII yang memiliki fibrin ikatan silang dan menyebabkan bekuan menjadi stabil dan tidak larut (Gambar 2.6) (Selbi *et al.*, 2013).



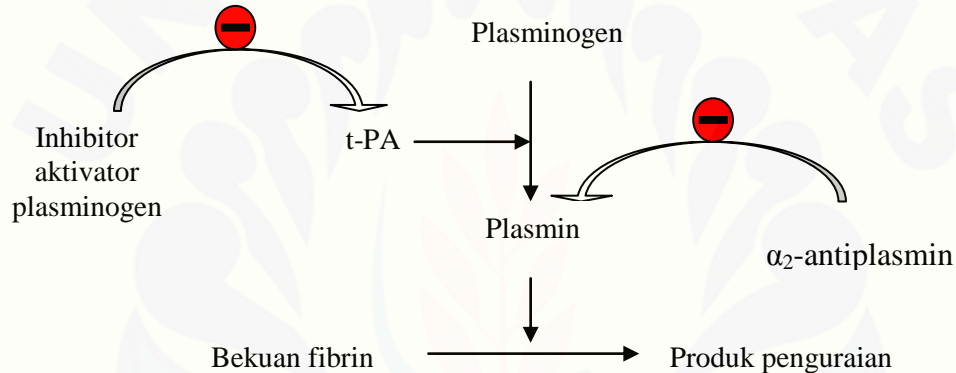
Gambar 2.6 Pembentukan fibrin (Selbi *et al.*, 2013)

## 2.5 Tinjauan tentang Mekanisme Trombolisis

Sistem koagulasi secara normal berada dalam kesetimbangan dinamis yang membentuk dan melarutkan bekuan fibrin terus menerus. Proses pelarutan bekuan fibrin disebut fibrinolisis atau trombolisis. Plasmin merupakan serin protease yang bertugas menguraikan fibrin dan fibrinogen, beredar dalam bentuk zimogen inaktif, plasminogen, dan sejumlah plasmin yang terbentuk dalam fase cair dalam keadaan fisiologis akan cepat dinaktifkan oleh inhibitor plasmin plasma yang bekerja cepat yaitu  $\alpha_2$ -antiplasmin. Plasminogen berikatan dengan fibrin dan dapat terserap ke dalam bekuan yang terbentuk. Plasmin yang berikatan dengan fibrin akan terlindung dari  $\alpha_2$ -antiplasmin sehingga plasmin akan tetap aktif. Disebagian besar jaringan tubuh terdapat berbagai jenis aktivator plasminogen dan semua aktivator ini memutuskan ikatan Arg-Val yang sama di plasminogen untuk menghasilkan plasmin (Murray *et al*, 2009).

Aktivator plasminogen jaringan (*tissue plasminogen activator, t-PA*) adalah protease serin yang dibebaskan dari sirkulasi endotel vaskuler yang

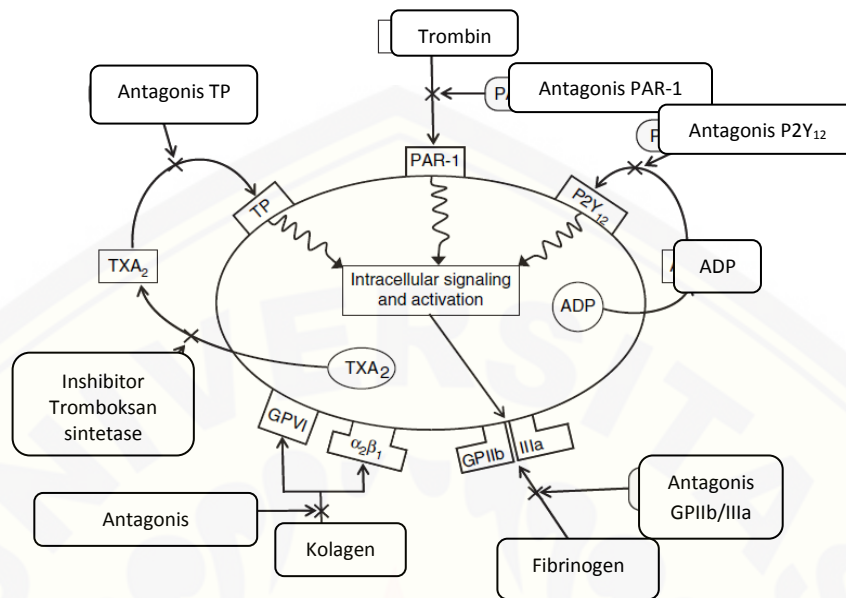
mengalami cedera atau stres dan secara katalis belum aktif kecuali jika terikat oleh fibrin. Sewaktu berikatan dengan fibrin, t-PA memutus plasminogen di dalam bekuan untuk menghasilkan plasmin yang sebaliknya mencerna fibrin untuk menghasilkan produk penguraian yang larut sehingga bekuan mencair. Plasmin atau aktivator plasminogen tidak dapat terus berikatan dengan produk-produk penguraian ini sehingga keduanya dibebaskan dalam fase cair, tempat keduanya diinaktifkan oleh inhibitor alami zat tersebut (Gambar 2.7) (Murray *et al.*, 2009).



2.7 Mekanisme trombolisis (Murray *et al.*, 2009).

## 2.6 Tinjauan tentang Obat Antiagregasi Platelet

Obat antiplatelet dapat disubklasifikasikan berdasarkan tempat aksinya, yaitu bekerja pada proses adhesi, aktivasi, agregasi atau kaitannya dengan media inflamasi. Masing-masing obat tersebut bekerja sebagai inhibitor atau penghambat pada terjadinya proses yang bersangkutan (Gambar 2.8) (Gross & Weitz, 2009).



Gambar 2.8 Mekanisme antiagregasi platelet (Gross & Weitz, 2009)

### 2.6.1 Inhibitor Adhesi Platelet

Adhesi platelet adalah tahapan pertama dalam pembentukan plak platelet pada lokasi pembuluh darah yang mengalami kerusakan. Tahapan ini bergantung pada interaksi antara protein subendotelial dan reseptor pada permukaan platelet. Penghambatan adhesi platelet dapat dilakukan dengan memblok ikatan antara reseptor platelet terhadap kolagen atau vWF, memblok perlekatan vWF pada kolagen, atau dengan cara mengikat kolagen atau vWF secara langsung sehingga interaksi antara kolagen-vWF dan platelet dapat dicegah. Interaksi yang paling penting untuk diperhatikan adalah interaksi antara platelet dan kolagen. Hal itu dikarenakan kolagen dalam jumlah berlebih dapat memicu terbentuknya plak aterosklerosis (Gross dan Weitz, 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).

### 2.6.2 Inhibitor Aktivasi Platelet

Obat-obatan golongan inhibitor aktivasi platelet dirancang untuk memblokir atau menghambat aktivasi platelet melalui jalur beberapa jalur sintesis seperti TXA<sub>2</sub>, P2Y<sub>12</sub>, PAR-1 dan fosfodiesterase (Gross dan Weitz, 2009).

#### a. Inhibitor jalur TXA<sub>2</sub>

Contoh obat golongan inhibitor jalur TXA<sub>2</sub> adalah aspirin. Aspirin menghambat sintesis *tromboxane A<sub>2</sub>* (TXA<sub>2</sub>) di dalam platelet, yaitu dengan menghambat enzim siklooksigenase secara ireversibel. Penghambatan enzim siklooksigenase terjadi karena aspirin mengasetilasi enzim tersebut (Dewoto *et al.*, 2007).

Aspirin dosis kecil hanya dapat menekan pembentukan TXA<sub>2</sub>, sebagai akibatnya terjadi pengurangan agregasi trombosit. Dosis yang lebih tinggi selain meningkatkan toksisitas (terutama perdarahan) juga menjadi kurang efektif karena selain menghambat TXA<sub>2</sub> juga menghambat pembentukan prostasiklin (Gambar 2.9) (Dewoto *et al.*, 2007).

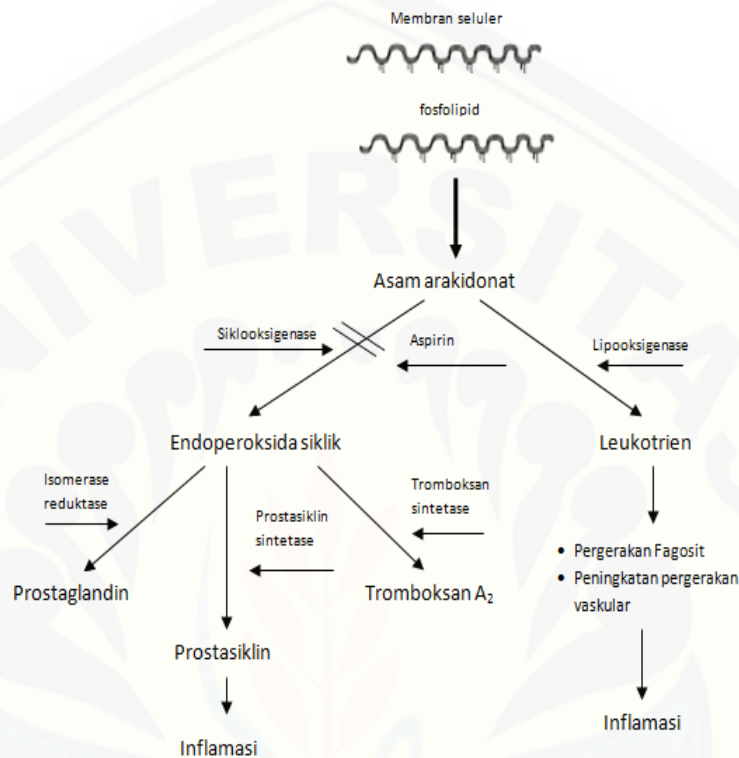
#### b. Inhibitor P2Y<sub>12</sub>

Clopidogrel adalah trienopiridina yang dapat menghambat P2Y<sub>12</sub> secara ireversibel pada permukaan platelet. Clopidogrel berada dalam bentuk prodrug dan harus dimetabolisme terlebih dahulu untuk mengaktifkan metabolit yang menghambat reseptor ADP (Gross dan Weitz, 2009).

#### c. Inhibitor PAR-1

Trombin adalah agonis platelet yang paling poten, mengaktivasi platelet melalui PAR-1 dan PAR-2. Reseptor tersebut disebut reseptor G-protein berpasangan. PAR-1 merupakan reseptor dengan afinitas tinggi dan efektor

utama dalam pelepasan sinyal thrombin. Pada saat reseptor PAR-1 dihambat, maka aktivasi platelet akan terhambat (Gross dan Weitz, 2009).



Gambar 2.9 Mekanisme kerja aspirin pada enzim siklooksigenase (Dewoto *et al.*, 2007)

#### d. Inhibitor fosfodiesterase

Adenosin monofosfat siklik menghasilkan suatu sinyal intraseluler yang berfungsi untuk menekan aktivasi dan agregasi platelet. Penghambatan fosfodiesterase akan menyebabkan dipiridamol dan cilostazol untuk meningkatkan level adenosine monofosfat. Penggunaan inhibitor fosfodiesterase dapat dipertimbangkan sebagai upaya pencegahan sekunder pada pasien aterosklerosis, khususnya *stroke*. Hal itu dikarenakan golongan inhibitor fosfodiesterase ini memiliki resiko perdarahan yang rendah (Gross dan Weitz, 2009).



### 2.6.3 Inhibitor Agregasi Platelet

Obat pada golongan ini merupakan antagonis GPIIb/IIIa, yang akan memblokir jalur terakhir proses agregasi platelet. Penggunaan antagonis GPIIb/IIIa secara intravena telah terbukti mampu mereduksi terjadinya penyakit *ischemic*, namun pada penggunaan oral, obat golongan ini tidak menunjukkan manfaat. Penjelasan tentang kurangnya efikasi penggunaan antagonis GPIIb/IIIa secara oral masih belum diketahui secara pasti. Penyebab hal tersebut diperkirakan berhubungan dengan aktivitas agonis parsial dan atau efek proinflamasi (Gross dan Weitz, 2009).

### 2.6.4 Inhibitor Jalur Inflamasi Platelet

Platelet berkontribusi terhadap proses inflamasi melalui jalur sintesis CD40/ligan CD40 dan P-selektin. CD40 merupakan suatu sel terlarut yang dilepaskan dari platelet teraktivasi. Respon proinflamasi akan diperoleh setelah CD40 berikatan membentuk ligan pada monosit, sel endothelium, atau limfosit T (Gross dan Weitz, 2009).

P-selektin, merupakan suatu molekul sel adhesi yang terdapat pada platelet teraktivasi dan pada sel-sel endotel. Ikatan antara reseptor P-selektin dan leukosit ini akan membentuk suatu agregasi antara platelet-leukosit serta mengikat leukosit untuk berikatan pada trombus dan permukaan sel endotel teraktivasi. Penghambatan dalam interaksi tersebut dapat memperkecil trombosis dan mengurangi inflamasi pada hewan percobaan, namun efek yang sama pada manusia belum diketahui (Gross dan Weitz, 2009).

## 2.7 Tinjauan tentang Obat Antikoagulan

Obat-obat antikoagulan mencegah pembentukan bekuan darah yang menyumbat sirkulasi. Tidak seperti trombolisis, obat ini tidak melarutkan bekuan darah yang sudah ada tetapi bekerja sebagai pencegahan pembentukan bekuan

baru. Antikoagulan dipakai pada pasien yang memiliki gangguan pembuluh arteri dan vena yang beresiko tinggi untuk pembekuan darah (Fedan, 2009).

### 2.7.1 Heparin

Heparin diberikan secara subkutan atau intravena untuk pencegahan untuk megobati trombolisis akut karena heparin tidak diabsorpsi dengan baik pada saluran cerna. Heparin memperpanjang masa pembekuan atau *thrombin time* (TT), *prothrombin time* (PT), dan *activation partial tromboplastin time* (aPTT). Heparin dapat menurunkan jumlah trombosit atau menyebabkan *trombositopenia* (Fedan, 2009).

### 2.7.2 Antikoagulan Oral

Obat antikoagulan oral merupakan senyawa larut lemak yang merupakan derivat *4-hydroxycumarin* atau *indan-1,3-dione*. Obat-obat tersebut menyerupai vitamin K. Warfarin merupakan salah satu contoh obat antikoagulan yang sering digunakan (Fedan, 2009).

Mekanisme antikoagulan oral berbeda dengan heparin. Obat-obat tersebut merupakan antagonis vitamin K. Vitamin K dibutuhkan sebagai katalis dalam pembentukan faktor II, VII, IX dan X (Fedan, 2009).

## 2.8 Tinjauan tentang Obat Trombolisis

Obat trombolisis menyebabkan lisis pada bekuan darah yang terjadi pada vena maupun arteri dan melancarkan kembali aliran darah (Fedan, 2009). Agen trombolisis yang sering digunakan diantaranya adalah *streptokinase* (SK), *urokinase* (UK), *tissue plasminogen activator* (t-PA) yang bekerja dengan cara mengaktifkan plasminogen bebas menjadi protease aktif, plasmin. Plasmin yang terbentuk akan mendegradasi bekuan darah (Kunamneni *et al.*, 2007). Enzim mirip plasmin seperti *lumbrokinase* dan *fibrolase* merupakan enzim protease yang



mendegradasi trombus secara langsung. *Lumbrokinase* merupakan enzim trombolisis yang berasal dari *Lumbricus rubellus* dan mampu mengaktivasi plasminogen dan juga mendegradasi fibrin secara langsung (Mihara *et al.*, 1991).

## 2.9 Tinjauan tentang Belimbing Wuluh sebagai Antitrombosis

Salah satu kandungan kimia dari daun belimbing wuluh adalah flavonoid (Daud *et al.*, 2013). Kemampuan flavonoid sebagai antitrombosis disebabkan flavonoid tersebut mampu menghambat pelepasan mediator asam arakidonat dari membran sel sehingga jalur metabolisme siklooksigenase menjadi terhambat. Adanya penghambatan tersebut menyebabkan tromboksan A<sub>2</sub> tidak terbentuk atau berkurang, sehingga tidak mampu mengaktivasi platelet untuk beragregasi dan penggumpalan platelet pada pembentukan trombus akan terhambat. Flavonoid juga dapat mengikat radikal bebas dan mempertahankan konsentrasi prostasiklin dan nitrit oksid pada endotel sehingga dapat menghambat interaksi monosit dengan endotel dan agregasi trombosit (Nijveldt *et al.*, 2001). Flavonoid juga dapat menghambat interleukin 1 yang menginduksi faktor jaringan yang merupakan faktor ekstrinsik dalam mekanisme pembekuan darah (Guglimone *et al.*, 2002).

Flavonoid dalam bentuk aglikon bersifat non-polar dan dalam bentuk glikosidanya bersifat polar. Untuk melakukan penyarian flavonoid dapat dilakukan dengan pelarut air maupun etanol (Harbone, 1987). Penggunaan etanol 80% sebagai pelarut ekstraksi daun belimbing wuluh dilakukan karena etanol 80% merupakan pelarut semi polar. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% dari daun belimbing wuluh dan buah belimbing wuluh memiliki aktivitas antikoagulan (Daud *et al.*, 2013).

Penelitian terhadap bagian belimbing wuluh yang lain, yaitu kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas trombolisis (Shiddique *et al.*, 2013). Kandungan flavonoid pada daun belimbing wuluh dan adanya aktivitas

antitrombosis pada beberapa bagian tanaman belimbing wuluh yang lain menyebabkan penelitian mengenai aktivitas antitrombosis pada daun belimbing wuluh *in vitro* perlu dilakukan.

## 2.10 Tinjauan tentang Metode Pengujian

### 2.10.1 Metode Pengujian Antiplatelet

Pengujian agregasi platelet yang sering digunakan adalah metode *optical density* (OD) dan *impdance method*. Kedua metode tersebut dapat digunakan untuk mengukur platelet tetapi keduanya tidak dapat mengetahui hubungan agregasi trombosit dengan waktu inkubasi (Moriyama *et al.*, 2008). 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.*, 2008).

### 2.10.2 Metode Pengujian Antikoagulan

Metode pengujian yang digunakan untuk menentukan aktivitas antikoagulan adalah dengan menentukan waktu bekuan plasma yang meliputi *thrombin time* (TT), *prothrombin time* (PT), dan *activation partial tromboplastin time* (aPTT). PT digunakan untuk menentukan penghambatan faktor ekstrinsik (Faktor VII) dan faktor jalur lainnya (Faktor X, V, II, fibrinogen). aPTT digunakan untuk mengetahui penghambatan faktor intrinsik (Faktor XI, XI, IX, VIII) dan faktor jalur lainnya (Faktor X, V, II, fibrinogen). aPTT reagen mengandung aktivator (seperti silika, asam elagik atau kaolin) dan fosfolipid

tetapi tidak mengandung kalsium klorida. TT digunakan untuk menilai defisiensi atau disfungsi fibrinogen atau adanya inhibitor dari trombin (Faktor IIa) (Selbi *et al.*, 2013). Pada penelitian ini yang digunakan hanya metode aPTT dan PT. Hal tersebut dilakukan karena metode PT sudah dapat menentukan pengaruh hambatan faktor ekstrinsik dan dengan metode aPTT sudah dapat menentukan pengaruh hambatan faktor intrinsik.

### 2.10.3 Metode Pengujian Trombolisis

Pengujian trombolisis dapat dilakukan menggunakan beberapa metode antara lain metode ultrasonik (Basta, *et al.*, 2006), matematik (Beltrami, *et al.*, 1955), dan komputasi (Anand, *et al.*, 1955). Pada penelitian ini menggunakan metode yang dikembangkan oleh Prasad *et al.* (2006) karena lebih mudah dilakukan. Aktivitas trombolisis ditentukan dengan cara menghitung presentase bekuan lisis.

$$\text{Presentase bekuan lisis} = \frac{\text{Selisih berat sebelum dan sesudah perlakuan}}{\text{Berat sebelum perlakuan}} \times 100 \%$$

Berat bekuan sebelum perlakuan diperoleh dari darah yang diambil dari sukarelawan sehat dan dimasukkan dalam tabung mikro sentrifus dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah membeku, serum diambil agar tidak mengganggu bekuan darah. Perlakuan diberikan dengan cara memasukkan suspensi ekstrak dengan berbagai konsentrasi dan air sebagai kontrol negatif ke dalam tabung mikro sentrifus yang telah berisi bekuan darah. Kemudian ditentukan selisih berat bekuan sebelum dan sesudah perlakuan.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian, Tempat dan Waktu Penelitian

#### 3.1.1 Jenis Penelitian

Uji aktivitas antiplatelet ekstrak etanol daun belimbing wuluh *in vitro* pada sampel PRP dan darah manusia ini merupakan penelitian *experimental laboratories*.

#### 3.1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

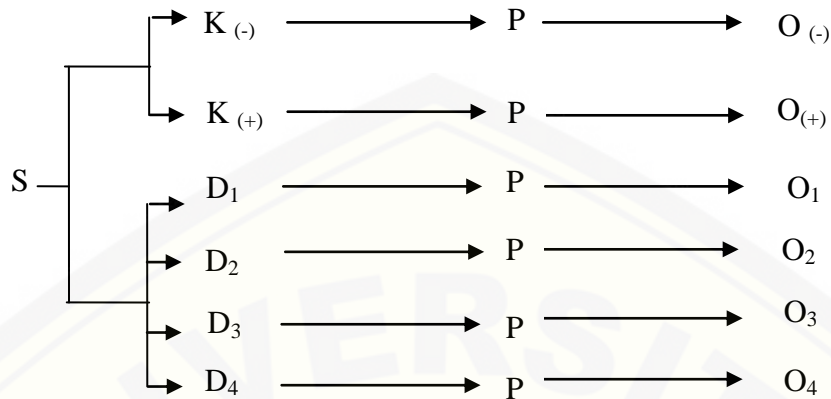
Penelitian dilakukan mulai bulan Juli 2014 di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember serta Laboratorium Prosenda Jember.

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design*. Rancangan penelitian ditunjukkan pada Gambar 3.1

### 3.3 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh yang diperoleh dari daerah kampus Universitas Jember, Kecamatan Sumbersari, Kabupaten Jember, etanol 80%, reagen *trombogel® S* untuk pengukuran PT, reagen *actin FSL* untuk pengukuran aPTT, akuades, asetosal (Merck), pereaksi *adenosine diphosphate (ADP)* (Sigma-Aldrich).



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

## Keterangan :

- S : Sampel; uji antiplatelet = PRP; uji antikoagulan= PPP; uji trombolisis = darah
- K<sub>(-)</sub> : Kontrol negatif adalah dengan pemberian air suling
- K<sub>(+)</sub> : Kontrol positif; uji antiplatelet= asetosal; uji antikoagulan= heparin
- D<sub>1</sub> : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,25 mg/mL
- D<sub>2</sub> : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 0,5 mg/mL
- D<sub>3</sub> : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 1 mg/mL
- D<sub>4</sub> : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 2 mg/mL
- P : Perlakuan pada masing-masing kelompok
- O<sub>(-),(+),1,2,3,4</sub> : Hasil; uji antiplatelet=persen agregasi platelet; uji antikoagulan= PT (*prothrombin time*), dan aPTT (*activation partial thromboplastin time*); uji trombolisis = persen *clot lysis*

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah maserator, blender, alat gelas (corong, *beaker glass*, gelas ukur, batang pengaduk), *rotary evaporator*, *vial*, spuit injeksi, mikropipet, tabung mikrosentrifus, kertas saring, kapas, gunting, alat sentrifus (Hettich Zentrifuge EBA 20), neraca digital, spektrofotometer visibel (Labomed UVD-2950), dan *coagulometer systmex*.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel darah normal, *platelet rich plasma* (PRP) dan *platelet poor plasma* (PPP). Sampel PRP dibuat dengan cara diambil darah dari vena lengan relawan sehat kemudian dipindahkan ke dalam tabung sentrifus yang telah berisi natrium sitrat 3,2% (dibutuhkan 1 ml natrium sitrat untuk 9 ml darah). Untuk uji aktivitas antiplatelet PRP diperoleh



dengan cara darah disentrifus selama 15 menit pada 1000 rpm, lapisan atas dipisahkan secara hati-hati dan dibiarkan pada tabung plastik tertutup pada suhu kamar. Sisa darah yang telah dipisahkan PRPnya, disentrifus lagi 3000 rpm selama 15 menit. Plasma yang diperoleh adalah PPP. PRP digunakan untuk pengujian, sedangkan PPP digunakan sebagai blanko pada saat dilakukan spektrofometri. PPP untuk uji antikoagulan diperoleh dengan cara darah disentrifus selama 10 menit pada 2000 rpm, lapisan atas dipisahkan secara hati-hati dan dibiarkan pada tabung plastik tertutup pada suhu kamar. Untuk menjamin jumlah platelet tetap konstan, pengujian harus diselesaikan 3 jam setelah pengambilan darah (Wirawan, 2007).

### **3.4 Variabel Penelitian**

#### **3.4.1 Variabel Bebas**

Konsentrasi ekstrak 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, *activated partial thromboplastin time* (aPTT), *prothrombin time* (PT) dan presentase bekuan lisis.

#### **3.4.3 Variabel Terkendali**

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah cara ekstraksi, sampel darah normal, PRP dan PPP yang diperoleh dari pria sehat, berusia >19 tahun, tidak memiliki keluhan klinik, tidak berpenyakit, dan tidak mengkonsumsi obat-obatan selama satu minggu terakhir, serta prosedur pengujian aktivitas antiagregasi platelet, antikoagulan dan trombolisis *in vitro*.



### 3.5 Definisi Operasional Penelitian

Definisi operasional pada penelitian ini adalah:

- a. Bagian tanaman belimbing wuluh yang digunakan adalah daun tanaman belimbing wuluh yaitu seluruh anak daun pada setiap cabang, kecuali pada cabang yang paling ujung (muda)
- b. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol 80% daun belimbing wuluh yang telah dipekatkan dan disuspensikan dalam air suling.
- c. Ekstrak etanol 80% daun belimbing wuluh dikatakan memiliki aktivitas antiagregasi platelet jika terjadi penurunan serapan plasma yang signifikan dengan kontrol negatif.
- d. Penurunan serapan plasma adalah selisih antara serapan plasma awal sebelum diinduksi ADP dikurangi dengan serapan plasma setelah diinduksi ADP. Adanya efek antiagregasi platelet ditunjukkan oleh persentase agregasi yang semakin besar.
- e. *Prothrombin time* (PT) adalah waktu yang diperlukan plasma untuk dapat membeku setelah ditambahkan reagen PT, dan *aPTT activation partial thromboplastin time* (aPTT) adalah waktu yang diperlukan plasma untuk dapat membeku setelah ditambahkan reagen aPTT.
- f. Presentase bekuan lisis adalah perbedaan berat gumpalan sebelum diberi perlakuan dan setelah perlakuan.

### 3.6 Prosedur Pengujian

#### 3.6.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh

Sebanyak 1 kg daun belimbing wuluh dibersihkan dengan air mengalir, setelah itu dikeringkan di udara terbuka sampai diperoleh simplisia kering. Simplisia kering kemudian dihaluskan sampai diperoleh serbuk. Serbuk dimaserasi menggunakan 2 L etanol 80% dalam maserator. Maserator ditutup rapat, diaduk lalu dibiarkan selama 2 hari. Ekstrak cair disaring dengan

menggunakan kertas saring. Ekstrak yang dihasilkan ditampung dalam suatu wadah. Ekstrak cair diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C, 180 rpm hingga diperoleh ekstrak kental.

Metode maserasi dipilih karena memiliki beberapa kelebihan yaitu alat yang digunakan sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam; prosesnya relatif menggunakan sedikit pelarut; tidak menggunakan pemanasan yang dapat merusak senyawa yang tidak stabil; serta biaya operasional relatif rendah (Ditjen POM, 2000). Etanol 80% dipilih sebagai penyari karena merupakan pelarut yang baik untuk alkaloid, flavonoid, glikosida, dan minyak atsiri tetapi bukan untuk jenis-jenis gom, gula dan albumin (Fong *et al.*, 1973). Etanol 80% juga mampu mengekstraksi alkaloid, flavonoid, dan oksalat pada buah belimbing wuluh (Dewi *et al.*, 2013). Suhu 40°C untuk penguapan menggunakan *rotary evaporator* merupakan suhu optimum untuk menguapkan ekstrak, penggunaan suhu yang lebih tinggi dapat menyebabkan senyawa fenolik (flavonoid) terdestruksi (Zulkipli, 2012).

### 3.6.2 Pemilihan Relawan Sehat

Pemilihan relawan berdasarkan kriteria inklusi antara lain pria, berusia >19 tahun, tekanan darah normal, tidak memiliki keluhan klinik, tampak sehat, memiliki pola hidup sehat (tidak dalam kondisi tegang; tidak merokok; tidak mengonsumsi alkohol dan nikotin).

Sedangkan kriteria eksklusi meliputi adanya riwayat perdarahan (seperti mimisan dan hematom), meminum obat-obatan (yaitu antitrombosit, NSAID, antibiotik  $\beta$ -laktam, vitamin E dan suplemen antioksidan dosis tinggi) selama satu minggu terakhir (Wirawan, 2007).

### 3.6.3 Pembuatan Na Sitrat 3,2 %

Penggunaan Na sitrat sebagai antikoagulan dalam penelitian dikarenakan Na sitrat ini bersifat isotonis dengan darah dan tidak bersifat toksik. Dalam pemeriksaan antikoagulan yang dipakai adalah sitrat karena sitrat memiliki pH netral sedangkan EDTA yang memiliki pH basa yang akan mengakibatkan pemanjangan PT dan aPTT (Widmann dan Frances K., 1999).

Na sitrat 3,2 % dibuat dengan cara sebanyak 3,2 gram Na sitrat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam sedikit air terdeionisasi sampai larut. Selanjutnya ditambahkan air terdeionisasi sampai volume 100 ml.

### 3.6.4 Pembuatan Larutan ADP

Larutan ADP yang dibuat adalah ADP dengan konsentrasi 5  $\mu$ M. ADP 5  $\mu$ M dibuat dengan mengencerkan 25 $\mu$ l ADP 5 mM ke dalam 25 ml salin. ADP 5 mM dibuat dengan melarutkan 20,0 mg ADP ke 40 ml dalam salin.

### 3.6.5 Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak sebanyak 50 mg disuspensikan ke dalam 25 ml akuades dan diultrasonikasi sampai partikel yang tidak larut tidak terlihat sehingga didapat konsentrasi uji 2 mg/ml kemudian diencerkan hingga didapat konsentrasi uji 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, dan 0,25 mg/ml.

### 3.6.6 Pembuatan Larutan Asetosal untuk Uji Agregasi Platelet

Asetosal sebanyak 25 mg ditimbang, dilarutkan dalam 25 ml akuades dan dicampur sampai homogen. Kemudian disaring menggunakan kertas saring.

### 3.6.7 Pembuatan Larutan Heparin untuk Uji Antikoagulan

Dipipet 1 ml sediaan heparin 5000 IU/ml (100 IU=1 mg) dilarutkan dalam 50 mL akuades dan dicampur sampai homogen (Bjornsson dan Wolfram, 1981).

### 3.6.8 Uji Aktivitas Antiplatelet

Uji agregasi platelet *in vitro* dilakukan dengan metode turbidimetrik seperti yang dikemukakan oleh Born's. Prinsip ini adalah perubahan transmisi cahaya sebelum penambahan *platelet agonist* (agregator), transmisi cahaya melalui PRP rendah karena trombosit masih tersuspensi homogen dalam PRP. Setelah penambahan *agonist* maka trombosit akan mengalami agregasi kemudian agregat trombosit tersebut mengendap, sehingga plasma menjadi jernih akibatnya plasma akan meningkat (Wirawan, 2007).

Sampel uji dilarutkan dalam akuades hingga diperoleh konsentrasi 2; 1; 0,5; dan 0,25 mg/ml. Sebanyak 70 µl larutan uji dipipet dengan mikropipet, ditambahkan ke dalam 560 µl PRP dalam mikrosentrifus kemudian diinkubasi 2 menit dan divorteks dengan kecepatan rendah. Diukur serapannya sebelum dan sesudah diberi ADP sebanyak 70 µl pada panjang gelombang 600 nm. Setelah diberi ADP dilakukan inkubasi selama 4-20 menit.

Kekeruhan plasma darah sebelum dan sesudah pemberian ADP diukur dengan spektrofotometer. Kemudian dihitung persentase agregasi platelet dan dibandingkan antar kelompok uji dengan kelompok kontrol. Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak empat kali.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Moriyama *et al.* (2008), persentase agregasi ditentukan dengan rumus:

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

Keterangan B= absorbansi setelah penambahan ADP

A= absorbansi sebelum penambahan ADP

### 3.6.9 Uji Aktivitas Antikoagulan

Prinsip uji antikoagulan adalah menentukan waktu yang diperlukan oleh plasma untuk membeku. Waktu tersebut meliputi *activated partial thromboplastin*



*time* (aPTT) dan *prothrombin time* (PT). Konsentrasi uji yang digunakan adalah konsentrasi yang memberikan aktivitas tertinggi pada uji angregasi platelet.

a. Penentuan *prothrombin time* (PT)

Sampel uji disuspensikan dalam akuadest hingga diperoleh konsentrasi yang diinginkan dalam mg/ml. Sebanyak 100 µl PPP setelah diinkubasi suhu 37°C selama 1 menit ditambahkan 100 µl larutan uji dan 200µl reagen PT kemudian ditentukan waktu pembekuan darahnya (PT). Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak tiga kali.

b. Penentuan *activated partial thromboplastin time* (aPTT)

Sampel uji disuspensikan dalam akuades hingga diperoleh konsentrasi yang diinginkan dalam mg/ml. Sebanyak 100 µl PPP ditambahkan 100 µl larutan uji dan 200µl reagen aPTT kemudian diinkubasi suhu 37°C selama 2 menit dan ditentukan waktu pembekuan darahnya (aPTT) dengan alat koagulometer (*sysmex coagulometer*) dihitung setelah penambahan 100 µl CaCl<sub>2</sub> mM. Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak tiga kali.

### 3.6.10 Uji Aktivitas Trombolisis

Ditimbang tabung mikrosentrifus kosong dan mencatat beratnya. Darah diambil dari sukarelawan sehat sebanyak 500 µl dimasukkan dalam tabung mikro sentrifugasi dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 45 menit. Setelah membeku, serum diambil agar tidak mengganggu bekuan darah. Kemudian tabung yang berisi bekuan ditimbang, berat bekuan ditentukan (berat bekuan = berat tabung + bekuan -berat tabung kosong).

Sampel uji disuspensikan dalam akuades hingga diperoleh konsentrasi 2; 1; 0,5 dan 0,25 mg/ml. Sebanyak 100 µl larutan uji dipipet dengan mikropipet, ditambahkan ke dalam tabung tabung mikro sentrifus yang berisi bekuan. Selain itu juga dilakukan penambahan air ke dalam salah satu tabung mikro sentrifus yang berisi bekuan sebagai kontrol negative. Semua tabung kemudian diinkubasi

pada suhu 37°C selama 90 menit dan diamati bekuan yang mengalami lisis. Setelah inkubasi, cairan hasil lisis dibuang dan tabung mikro sentrifugasi kembali ditimbang untuk mengamati perbedaan berat, dan ditentukan presentase bekuan lisis. Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak empat kali.

$$\text{Presentase bekuan lisis} = \frac{\text{Selisih berat sebelum dan sesudah perlakuan}}{\text{Berat sebelum perlakuan}} \times 100 \%$$

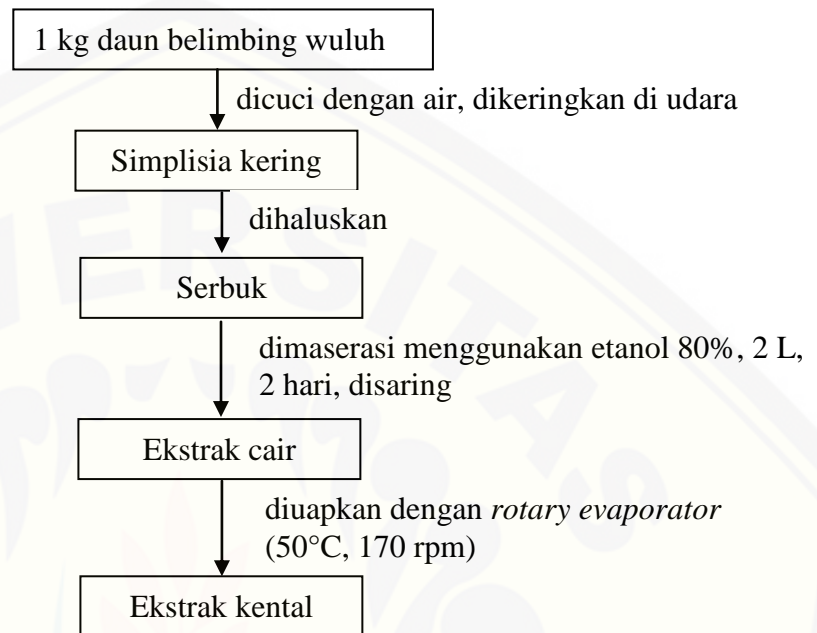
### 3.7 Analisis Data

Hasil uji aktivitas antiagregasi platelet adalah persentase agregasi platelet. Hasil uji aktivitas antikoagulan adalah PT dan aPTT. Sedangkan hasil uji aktivitas trombolisis adalah presentase bekuan lisis. Analisis data yang dilakukan adalah uji normalitas dan uji varian. Jika sebaran data normal dan data varian sama ( $p > 0,05$ ), analisis data yang digunakan adalah *One Way Anova*. Namun, jika tidak sama ( $p < 0,05$ ), penulis menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Selanjutnya digunakan uji *Least Significantly Difference (LSD)* sebagai lanjutan *One Way Anova* dan *Mann Whitney* sebagai uji lanjutan *Kruskal Wallis* untuk menentukan perbedaan yang bermakna dalam tiap kelompok. Perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila nilai  $p < 0,05$ .



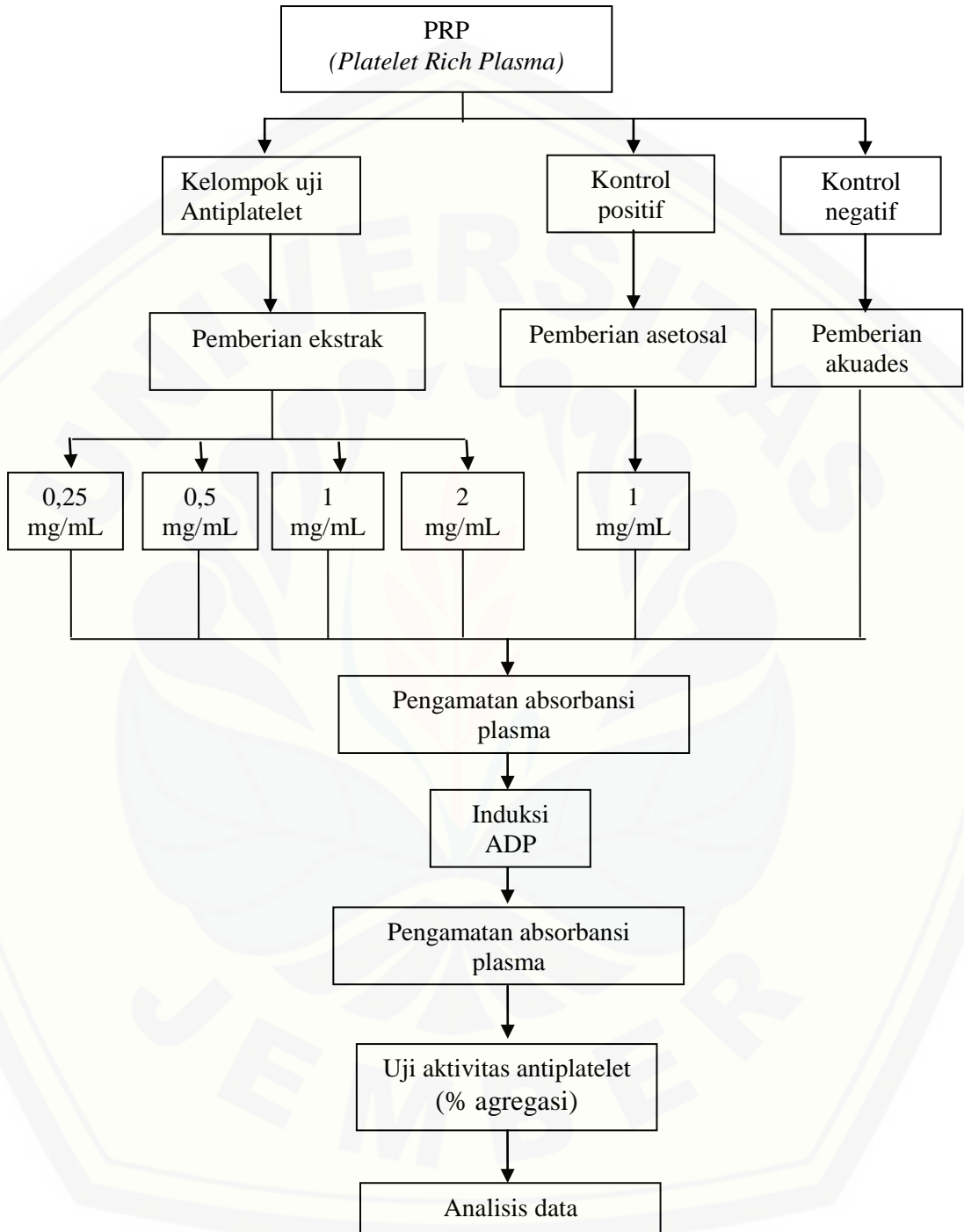
### 3.8 Alur Penelitian

#### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak



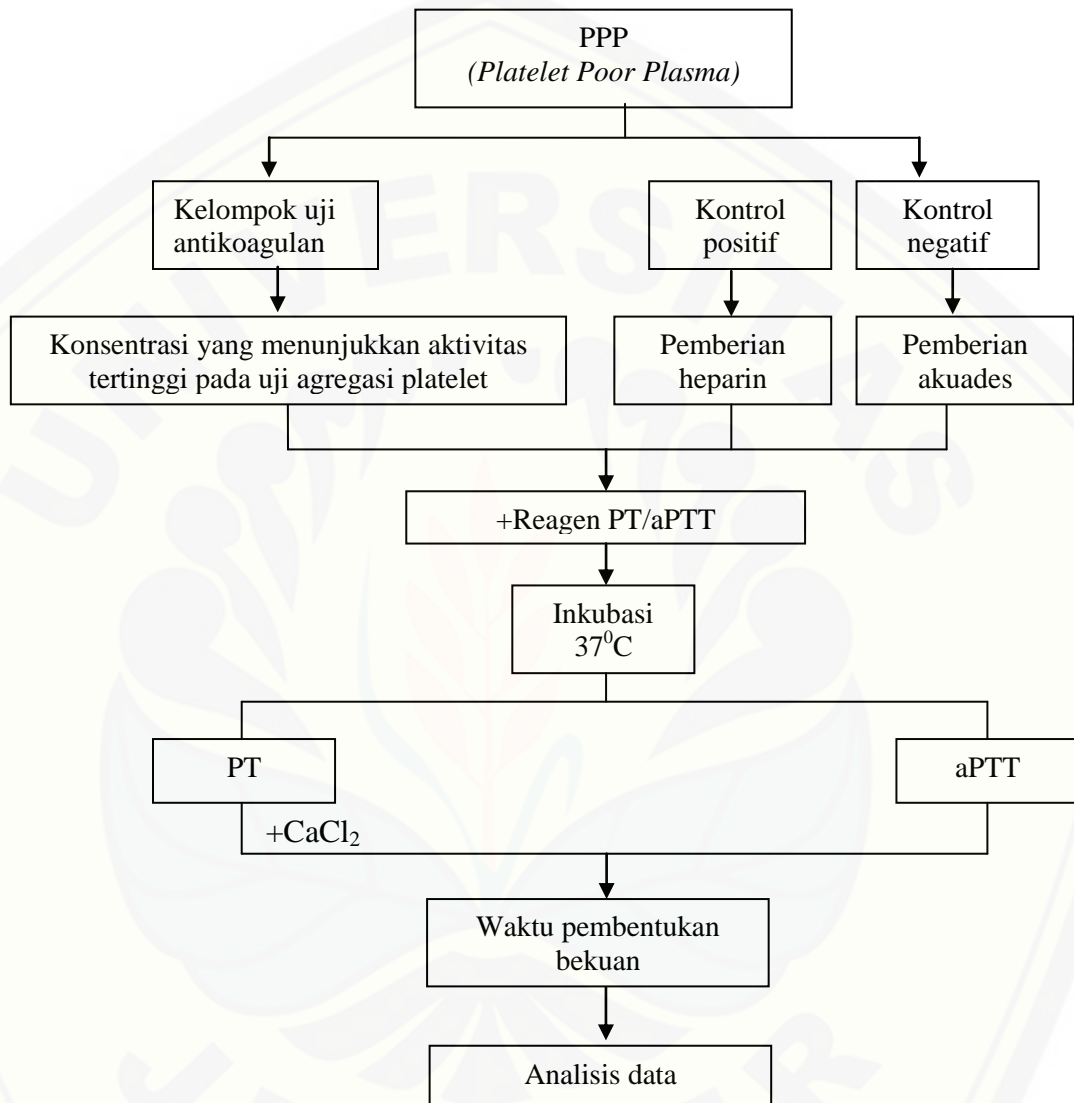
Gambar 3.2 Alur kerja pembuatan ekstrak etanol daun belimbing wuluh

## 3.8.2 Pengujian Aktivitas Antiplatelet



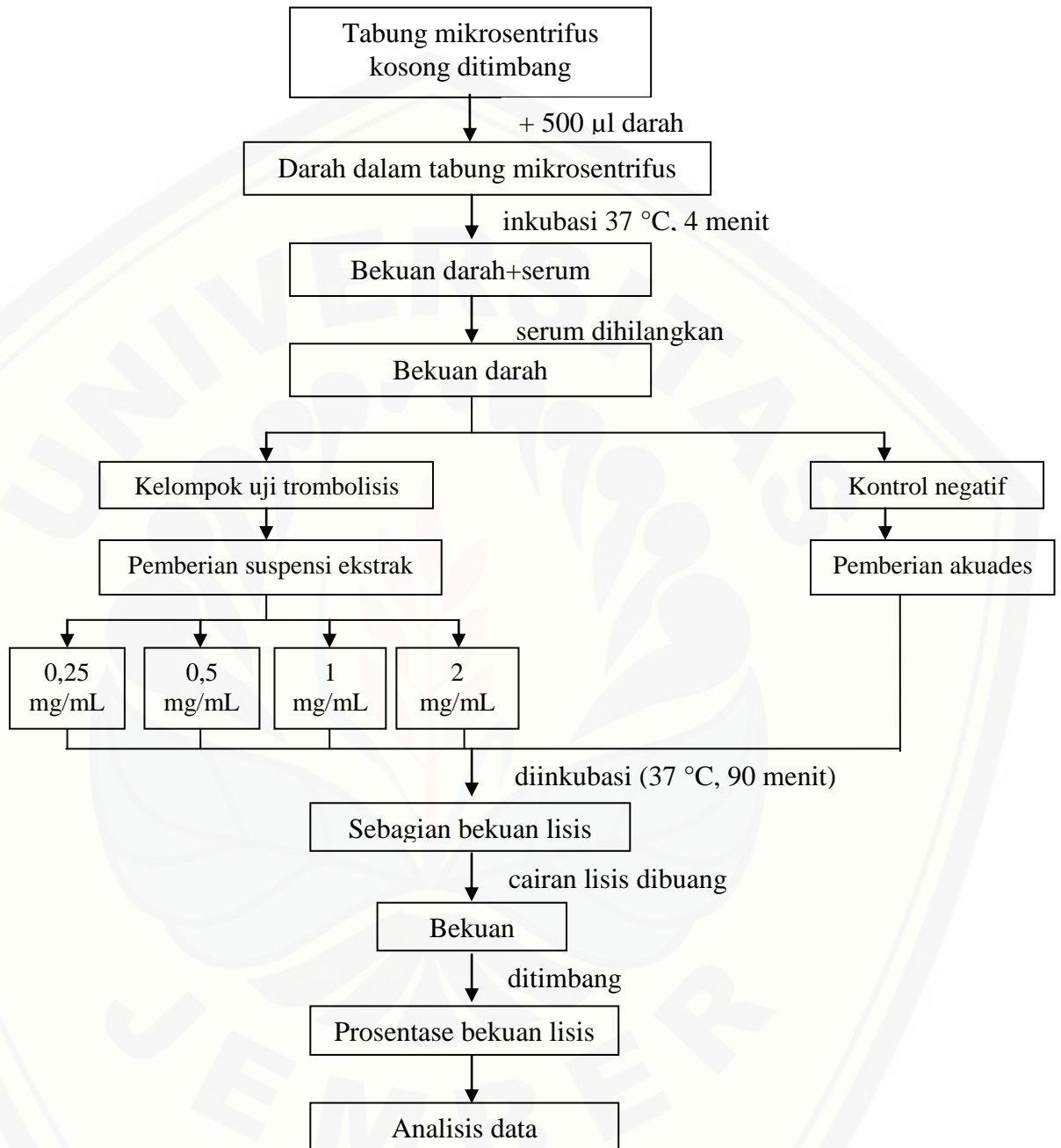
Gambar 3.3 Alur kerja penentuan pengujian aktivitas antiplatelet

## 3.8.3 Pengujian Aktivitas Antikoagulan



Gambar 3.4 Alur kerja penentuan aktivitas antikoagulan

## 3.8.4 Pengujian Aktivitas Trombolisis



Gambar 3.5 Alur kerja penentuan aktivitas trombolisis

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

#### 4.1.1 Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

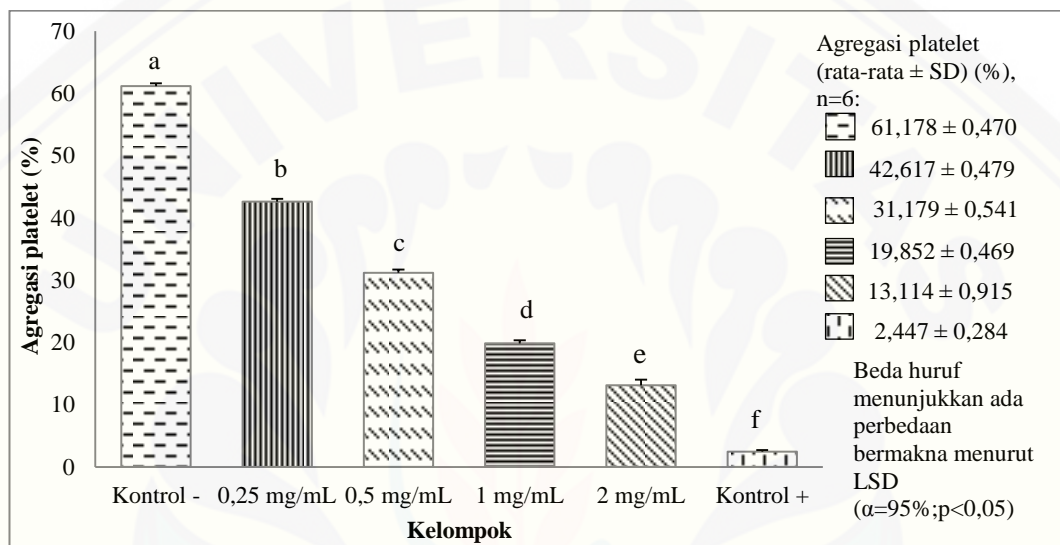
Ekstraksi daun belimbing wuluh dilakukan menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 80%. Pada proses maserasi, simplisia daun belimbing wuluh direndam dalam etanol 80% selama dua hari. Ekstrak cair yang dihasilkan ditampung dan diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C 180 rpm, ekstrak hasil dari proses ini kemudian diuapkan dengan oven hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental 42,6 gram diperoleh dari 375,20 gram serbuk kering yang dimaserasi dalam 2 L etanol 80%. Rendemen yang dihasilkan sebesar 11,35%.

#### 4.1.2 Uji Aktivitas Antiplatelet

Uji aktivitas antiplatelet dilakukan untuk menentukan aktivitas agregasi platelet dalam *Platelet rich plasma* (PRP) darah manusia. Tujuan penggunaan darah manusia pada penelitian ini adalah untuk mengurangi keragaman biologis sehingga mengurangi variabel yang bisa mempengaruhi hasil percobaan. Pengamatan dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Absorbansi awal menunjukkan kekeruhan plasma mengandung platelet yang belum teragregasi. Setelah penambahan ADP, serapan plasma akan menurun karena platelet-platelet dalam plasma membentuk agregat yang kemudian mengendap (Yulinah, 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 (Yuliet, 20014).



Hasil pengujian aktivitas antiplatelet ekstrak etanol daun belimbing wuluh menunjukkan adanya penurunan serapan plasma setelah ditambah ADP (Lampiran A). Persentase agregasi tertinggi terjadi pada PRP dengan penambahan ekstrak 0,25 mg/mL yaitu sebesar  $42,617 \pm 0,479$  %, persentase agregasi terendah terjadi pada PRP dengan penambahan ekstrak 2 mg/mL yaitu sebesar  $13,114 \pm 0,284$  % (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Persentase agregasi platelet

Berdasarkan data persentase agregasi tersebut, ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL memiliki persentase inhibisi yang tinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu 78,56 %. Pada penambahan asetosal 1 mg/mL (kontrol positif) persentase inhibisi 96,00 %.

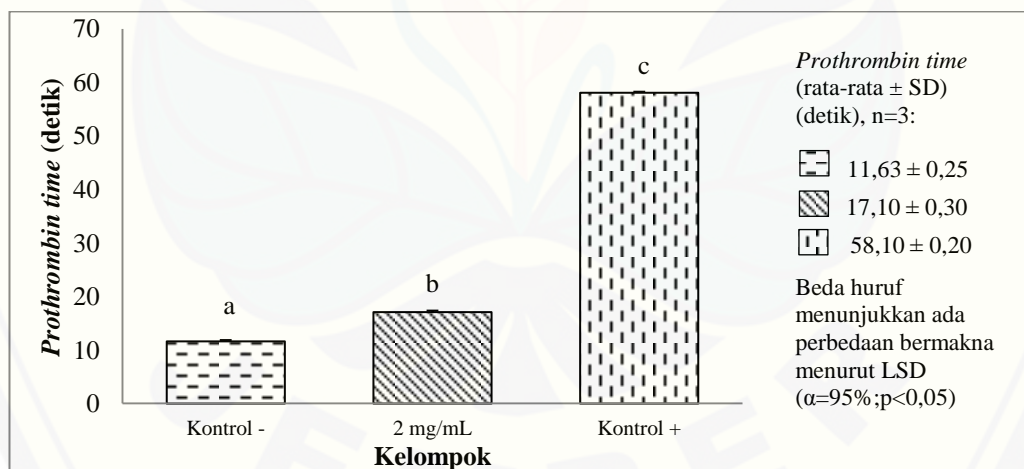
#### 4.1.3 Uji Aktivitas Antikoagulan

*Platelet poor plasma* (PPP) digunakan untuk uji aktivitas antikoagulan ekstrak etanol daun belimbing wuluh. PPP digunakan karena pada pengujian ini yang diuji adalah faktor-faktor pembekuan darah dari jalur intrinsik dan ekstrinsik sehingga platelet dan sel darah yang tidak diperlukan dibuang untuk memperoleh

hasil yang valid. Pengujian PT dan aPTT bertujuan untuk melihat faktor manakah yang berpengaruh terhadap proses penghambatan waktu pembekuan darah dari ekstrak etanol belimbing wuluh.

PT merupakan waktu pembekuan plasma setelah penambahan kalsium dan aktivator dari jalur ekstrinsik (tromboplastin) yang mempengaruhi aktivitas faktor V, VII, X. aPTT merupakan waktu plasma untuk membeku setelah penambahan kalsium dan aktivator dari jalur intrinsik (fosfolipid) yang mempengaruhi aktivitas faktor VIII, IX, XI, XII dan vWF. Perpanjangan waktu PT dan aPTT menunjukkan defisiensi faktor koagulasi dari jalur ekstrinsik dan intrinsik (Yuan, *et al.*, 2007).

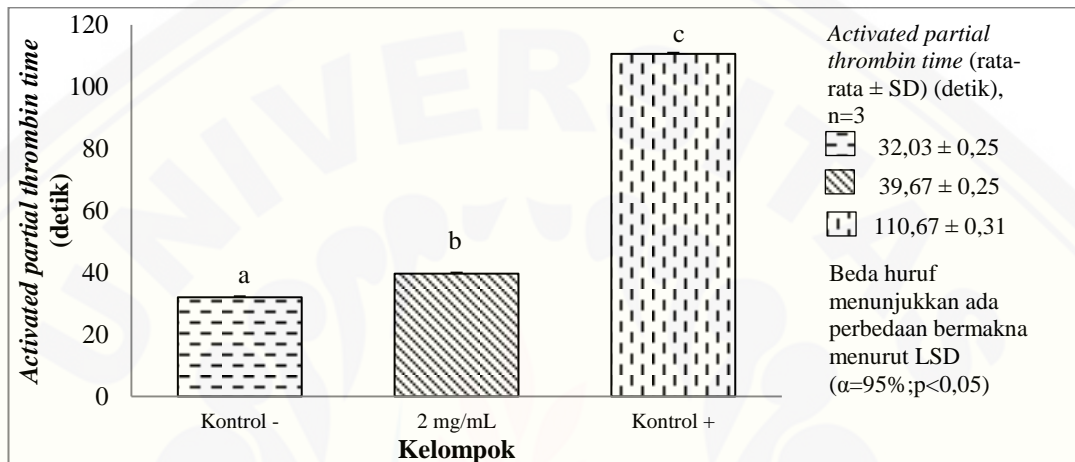
Hasil uji PT pada ekstrak etanol daun belimbing wuluh menunjukkan waktu koagulasi 17,10 detik atau 1,47 kali lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif. Sedangkan waktu koagulasi pada kontrol positif (Heparin 1 mg/mL) adalah 58,10 detik atau 5 kali lebih lama dibandingkan kontrol negatif (Gambar 4.2).



Gambar 4.2 Hasil pengujian *prothrombin time* (PT)

Pada pengujian aPPT menggunakan ekstrak etanol daun belimbing wuluh terjadi perpanjangan waktu koagulasi yaitu 39,67 detik atau 1,24 kali lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif. Sedangkan waktu koagulasi pada kontrol

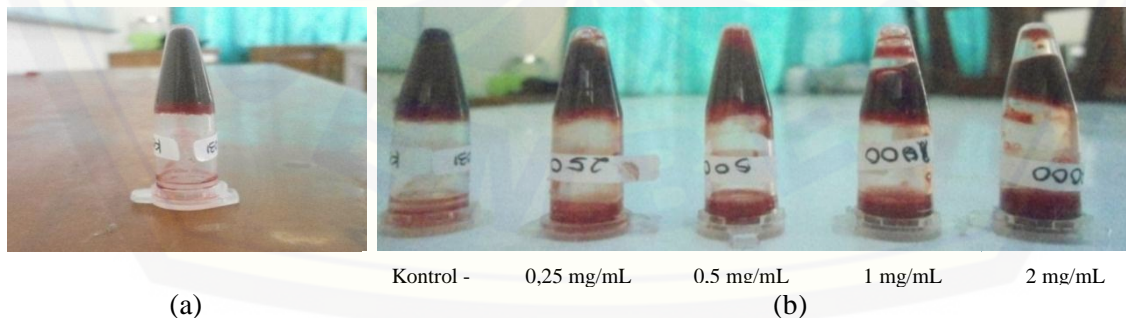
posistif (Heparin 1 mg/mL) adalah 110,67 detik atau 3,45 kali lebih lama dibandingkan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh dapat memperpanjang waktu koagulasi melalui jalur ekstrinsik (PT) maupun jalur intrinsik (aPTT) meskipun aktivitasnya sangat rendah bila dibandingkan dengan heparin (Gambar 4.3).



Gambar 4.3 Hasil pengujian *activated partial thrombin time* (aPTT)

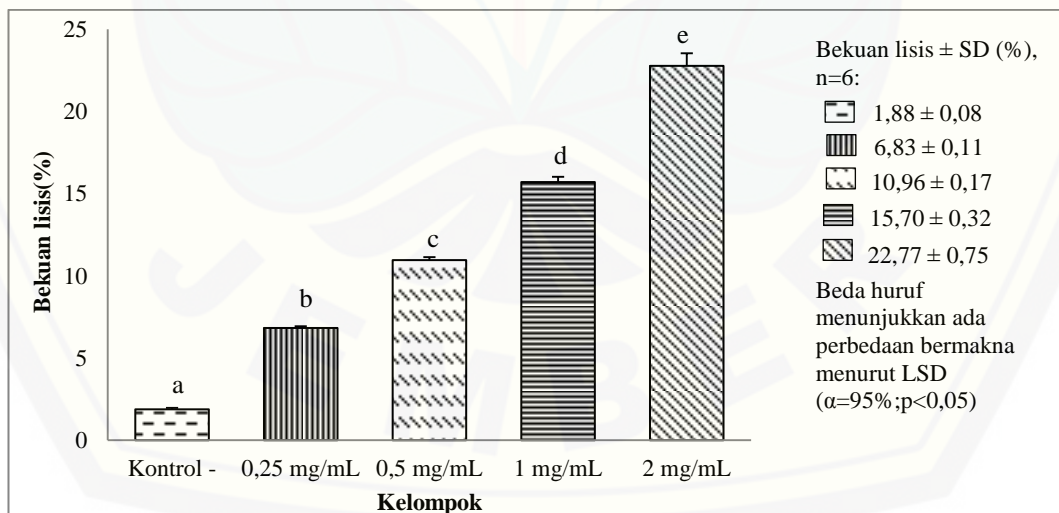
#### 4.1.4 Uji Aktivitas Trombolisis

Bekuan darah digunakan untuk uji aktivitas trombolisis. Aktivitas trombolisis ditentukan dengan cara menghitung persentase bekuan lisis. Persentase bekuan lisis dihitung berdasarkan berat bekuan sebelum dan setelah perlakuan (Gambar 4.4).



Gambar 4.4 Bekuan pada pengujian aktivitas trombolisis, bekuan sebelum perlakuan (a); bekuan setelah perlakuan (b)

Hasil uji aktivitas trombolisis menunjukkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki kemampuan untuk melisiskan bekuan darah yang ditunjukkan dengan persentase bekuan yang mengalami lisis (Lampiran C). Ekstrak etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,25 mg/mL sudah menunjukkan efek melisiskan bekuan, namun efek tersebut masih kecil yaitu 3,63 kali lebih tinggi dibandingkan kontrol negatif. Pada kelompok uji yang ditambahkan dengan ekstrak dengan konsentrasi 0,5 mg/mL menunjukkan efek melisiskan bekuan 5,82 kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif dan menunjukkan peningkatan kemampuan melisiskan bekuan bila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 0,25 mg/mL. Peningkatan kemampuan melisiskan bekuan juga terjadi pada ekstrak dengan konsentrasi 1 mg/mL yang ditandai dengan peningkatan kemampuan melisiskan bekuan yang dimiliki menjadi 8,34 kali lebih besar dibandingkan dengan kontrol negatif. Efek melisiskan bekuan tertinggi dimiliki oleh ekstrak dengan konsentrasi 2 mg/mL yang memiliki persentase bekuan lisis 12,10 kali lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Di samping itu, semua kelompok uji juga memiliki hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok uji lainnya (Gambar 4.5).



Gambar 4.5 Persentase bekuan lisis setelah penambahan ekstrak dan diinkubasi 90 menit



## 4.2 Pembahasan

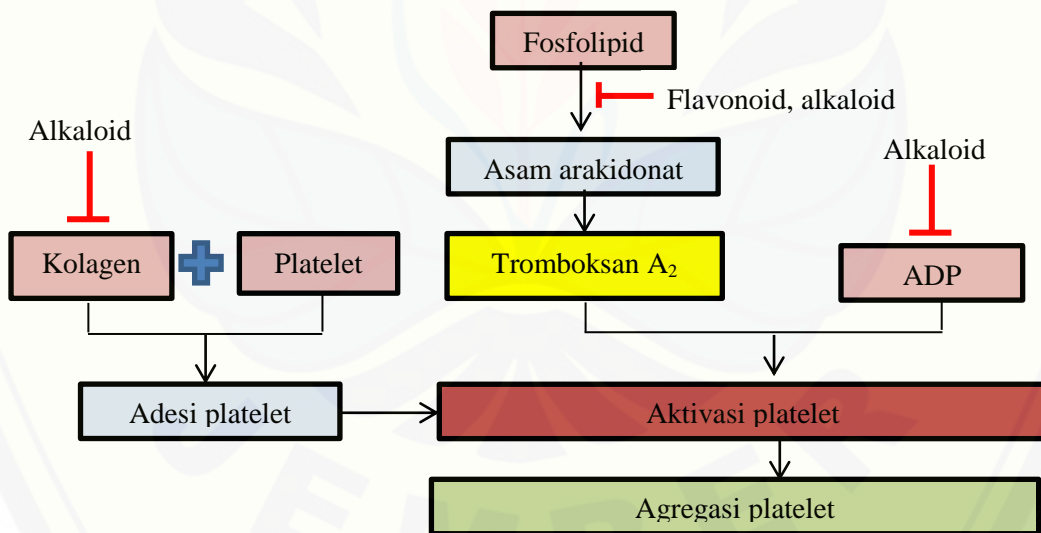
Pada penelitian ini terdapat tiga parameter yang diamati, yaitu persentase agregasi platelet, waktu koagulasi PT dan aPTT, serta persentase bekuan lisis. Persentase agregasi platelet diamati untuk melihat pengaruh ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap proses pembentukan agregat platelet. Waktu perdarahan diamati untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap proses pembentukan jaringan fibrin. Persentase bekuan lisis diamati untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun belimbing wuluh terhadap proses disolusi sumbat hemostatik (trombus).

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. Induksi menggunakan ADP menyebabkan platelet teraktivasi. Pengikatan ADP pada membran platelet dapat mengaktifkan enzim fosfolipase, menghidrolisis fosfolipid untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenase untuk membentuk prostaglandin G<sub>2</sub> (PGG<sub>2</sub>). PGG<sub>2</sub> akan diubah menjadi prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>), yang kemudian akan diubah lagi menjadi tromboksan A<sub>2</sub> oleh tromboksan sintetase. Tromboksan A<sub>2</sub> merupakan penginduksi terjadinya agregasi platelet (Setiabudy, 2009).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi dengan penambahan ekstrak 2 mg/mL, yaitu persen agregasinya mencapai  $13,114 \pm 0,915$  % dan persen inhibisinya mencapai 78,56 %, namun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (Asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar  $2,447 \pm 0,284$  % dan persen inhibisinya mencapai 96,00 %. Penelitian yang dilakukan oleh Amrani *et al.* (2009) menunjukkan bahwa ekstrak air daun kemangi (*Ocimum basilicum*) 2 mg./mL memiliki persentase inhibisi sebesar 28,2%. Bila dibandingkan dengan ekstrak daun kemangi ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas yang lebih besar.



Aktivitas antiplatelet pada daun belimbing wuluh diduga berasal dari senyawa flavonoid dan alkaloid. Flavonoid dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat sintesis asam arakidonat yang menyebabkan sintesis tromboksan  $A_2$  terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat (Middleton, 2000; Morimitsu *et al.*, 2000). Alkaloid dapat menghambat sintesis asam arakidonat, kolagen serta ADP yang dapat menginduksi terjadinya agregasi platelet (Jantan *et al.*, 2006) (Gambar 4.6). 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  $A_2$  serta ADP. Tromboksan  $A_2$  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).



Gambar 4.6 Mekanisme flavonoid dan alkaloid sebagai antiplatelet (Morimitsu *et al.*, 2000; Jantan *et al.*, 2006)

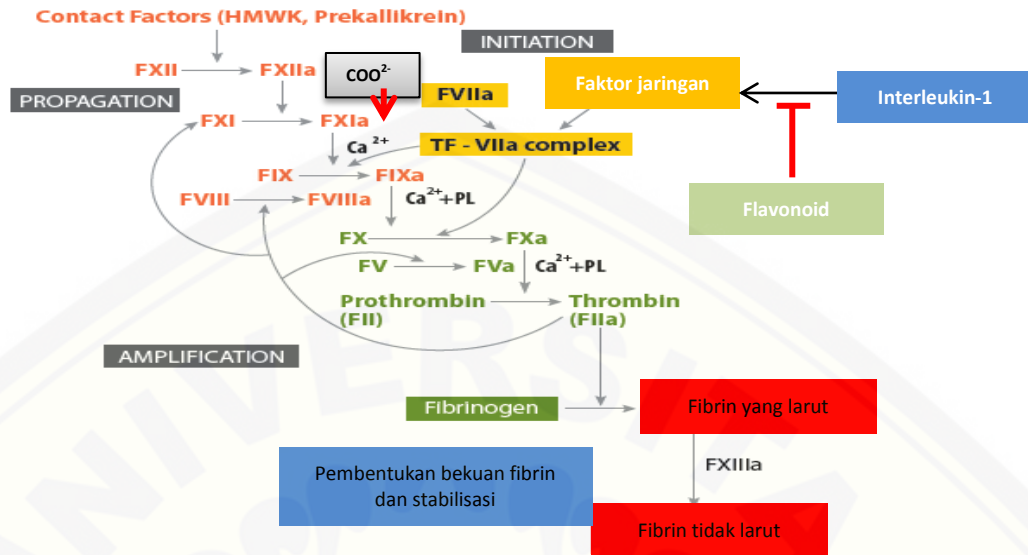
Penentuan waktu koagulasi pada pengujian aktivitas antikoagulan menunjukkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menghambat mekanisme koagulasi baik jalur ekstrinsik yang ditandai dengan perpanjangan nilai PT 1,47 kali maupun jalur intrinsik yang ditandai perpanjangan aPTT 1,24 kali. Penelitian yang dilakukan Hassan *et al.* (2013) menunjukkan bahwa ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) mampu memperpanjang nilai PT menjadi 1,69 kali dan aPTT menjadi 1,02 kali, pada ekstrak buah jeruk lemon (*Citrus limon*) mampu memperpanjang PT menjadi 1,46 kali dan aPTT menjadi 1,5 kali, sedangkan pada ekstrak buah pare (*Momordica caranthis*) mampu memperpanjang PT menjadi 1,5 kali dan aPTT menjadi 1,11 kali.

Jalur ekstrinsik dipicu oleh faktor jaringan ketika ada pembuluh darah yang luka, jalur ini digunakan untuk uji waktu koagulasi *Protrombin Time* (PT). Faktor jaringan dengan bantuan kalsium menyebabkan aktivasi faktor VII menjadi FVIIa. Kompleks FVIIa, faktor jaringan dan kalsium mengaktifkan faktor X menjadi FXa dan faktor IX menjadi FIXa. Jalur ekstrinsik hanya memulai proses koagulasi, begitu terbentuk sedikit trombin, maka trombin akan mengaktifkan faktor IX menjadi FIXa lebih lanjut, kemudian proses koagulasi dilanjutkan oleh jalur intrinsik. Jalur intrinsik dimulai dengan adanya *contact activation* yang melibatkan faktor XII yang kemudian mengaktifkan faktor IX menjadi FIXa, pada jalur ini biasa dilakukan untuk uji koagulasi *Partial thromboplastin time* (PTT) dan *activated PTT* (aPTT) (Bakta, 2007).

Aktivitas antikoagulan dari ekstrak etanol daun belimbing wuluh ini diduga karena kandungan flavonoid dan asam oksalat yang ada pada belimbing wuluh. Flavonoid dapat menghambat interleukin 1 yang menginduksi faktor jaringan yang merupakan faktor ekstrinsik dalam mekanisme pembekuan darah. Penghambatan terhadap faktor jaringan menyebabkan proses koagulasi akan terhambat (Guglimone *et al.*, 2002). Oksalat dapat mengikat kalsium (Ca) pada jalur intrinsik dan jalur bersama dalam darah, sehingga menghambat polimerisasi monomer fibrin dan bekuan tidak dapat terbentuk. Oksalat juga dapat mengikat

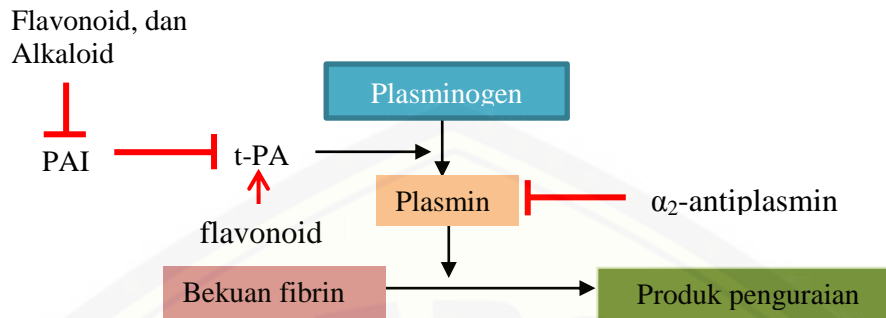
ion  $\text{Na}^+$  sehingga mengganggu aksi trombin. Ikatan antara trombin dan  $\text{Na}^+$  dapat meningkatkan aktivitas pembelahan fibrinogen menjadi fibrin. Pengikatan  $\text{Na}^+$  oleh oksalat menyebabkan pembelahan fibrin terhambat dan pembekuan darah terganggu (Gambar 4.7) (Di Cera, 2008).  $\text{Ca}^{2+}$  merupakan ion yang berperan sebagai katalisator dalam reaksi pembekuan darah pada jalur intrinsik dan jalur bersama. Pada jalur intrinsik  $\text{Ca}^{2+}$  berperan dalam perubahan faktor IX menjadi serin protease, yaitu faktor IXa. Pada jalur bersama  $\text{Ca}^{2+}$  dan fosfolipid berperan dalam pengaktifan faktor X menjadi Xa dan Protrombin (Faktor II) menjadi Trombin (Faktor IIa) (Brunton, 2006).

Persentase bekuan lisis menunjukkan ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki kemampuan untuk melisiskan bekuan darah (Lampiran C). Aktivitas melisiskan bekuan tertinggi terjadi pada penambahan ekstrak 2 mg/mL yaitu sebesar 22,77 %. Penelitian yang dilakukan oleh Siddique *et al.* (2013) menunjukkan beberapa fraksi ekstrak metanol kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas trombolisis. Aktivitas trombolisis tertinggi dimiliki oleh fraksi kloroform yang dapat melisiskan bekuan sebesar 8,13 %, sedangkan kontrol positif yang digunakan pada penelitian tersebut adalah streptokinase yang mampu melisiskan bekuan sebesar 92,81 %. Apabila dibandingkan dengan penelitian tersebut ekstrak etanol daun memiliki aktivitas yang lebih tinggi daripada fraksi kloroform kulit batang belimbing wuluh, namun jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol positif.



Gambar 4.7 Mekanisme aktivitas antikoagulan flavonoid dan Oksalat (Guglimone *et al.*, 2002; Di Cera, 2008)

Aktivitas trombolisis ekstrak etanol daun belimbing wuluh ini diduga karena kandungan flavonoid dan alkaloid yang ada pada belimbing wuluh. Flavonoid memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivator plasminogen jaringan (*tissue plasminogen activator*, t-PA) dan dapat menghambat inhibitor aktivator plasminogen (*plasminogen inhibitor activator*, PAI) sehingga perubahan plasminogen menjadi plasmin semakin tinggi dan jumlah plasmin meningkat (Gambar 4.8) (Miao *et al.*, 2013). Selain flavonoid, alkaloid juga dapat berikatan dengan PAI sehingga aktivitas PAI akan terganggu (Ammal, 2014). Pada keadaan normal plasminogen akan diaktifkan oleh t-PA menjadi plasmin. Disisi lain, adanya PAI akan menghambat aktivitas t-PA sehingga perubahan plasminogen menjadi plasmin akan terhambat. Plasmin yang berikatan dengan dengan fibrin dapat melisiskan bekuan fibrin. Aktivitas plasmin sendiri dapat dihambat oleh  $\alpha_2$ -antiplasmin (Murray *et al.*, 2009).



Gambar 4.8 Mekanisme kerja flavonoid dan alkaloid sebagai trombolisis (Miao *et al.*, 2013; Ammal, 2014)

Berdasarkan hasil pengujian ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antitrombosis yang meliputi antiplatelet, antikoagulan dan trombolisis. Aktivitas tertinggi yang dimiliki adalah aktivitas antiplatelet. Pada penelitian ini ekstrak yang digunakan adalah ekstrak total (*crude extract*) sehingga senyawa yang memiliki aktivitas antitrombosis belum diketahui secara pasti. Aktivitas antitrombosis yang dimiliki ekstrak etanol belimbing wuluh diduga berasal dari beberapa senyawa yang terekstraksi dengan etanol 80%. Senyawa tersebut antara lain alkaloid, flavonoid, dan oksalat. Seluruh pengujian yang dilakukan menggunakan metode *in vitro*, sehingga perlu adanya pengujian lebih lanjut dengan metode *in vivo* untuk mengetahui pengaruh metabolisme terhadap aktivitas antitrombosis yang dimiliki ekstrak etanol daun belimbing wuluh.



## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas sebagai antiplatelet, antikoagulan, dan trombolisis. Aktivitas yang memiliki potensi paling tinggi adalah antiplatelet. Aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi pada penambahan ekstrak 2 mg/mL dimana persen agregasinya  $13,114 \pm 0,284$  %. Pada pengujian aktivitas antikoagulan dengan penambahan ekstrak etanol belimbing wuluh 2 mg/mL nilai PT mengalami perpanjangan 1,47 kali dan aPTT mengalami perpanjangan 1,24 kali. Pada pengujian aktivitas trombolisis, ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL memiliki kemampuan melisiskan bekuan tertinggi dibandingkan konsentrasi lainnya yaitu sebesar 22,7709%.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

- a. *Screening* fitokimia kandungan ekstrak etanol 80% daun belimbimbing wuluh;
- b. Kandungan ekstrak etanol belimbing wuluh dengan cara fraksinasi kromatografi kolom dan dilakukan uji aktivitas pada setiap fraksi yang diperoleh;
- c. Uji aktivitas antiplatelet, antikoagulan dan trombolisis *in vivo*;
- d. Pengembangan ekstrak etanol daun belimbing wuluh sebagai obat antiplatelet.

**DAFTAR PUSTAKA**

**Terbitan Berkala**

- American Heart Association. 2014. *Heart Disease and Stroke Statistic 2014 Update*. American Heart and Stroke Association.
- Amrani, S., Harnafi H., Gadi, D., Mekhfi H. 2009. Vasorelaxant and anti-platelet aggregation effects of aqueous *Ocimum basilicum* extract. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 125: 157-162
- Anand S, dan Diamond S.L. 1966. Computer Simulation of Systemic Circulation and Clot Lysis Dynamics During Thrombolytic Therapy that Accounts for Inner Clot Transport and Reaction Circulation. *American Heart Association*. Vol. 94: 763-774.
- Arifin, S. 2004. *Aktivitas Fibrinolisis Jus Bawang Putih (Allium Sativum) pada Tikus Wistar yang Dipapar Asam Traneksamat*. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Bakta, I. M. 2007. Thrombosis dan Usia Lanjut. *Jurnal Penyakit Dalam*. Denpasar: Divisi Hematologi dan Onkologi Medik Bagian Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/RS Sanglah. Vol. 8: 148-160
- Beltrami E, dan Jesty J: 1955. Mathematical Analysis of Activation Thresholds in Enzyme Catalyzed Positive Feedbacks: Application to the Feedbacks of Blood Coagulation. *Proceeding of the National Academy of Science*. Vol. 92: 8744-8748
- Bjornsson T. D., dan Wolfram, K. M. 1981. Determine of The Anticoagulant Effect of Heparin *in vitro*. *Annals New York Academy of Sciences*
- Daud, N., Harita H., dan Nurdiana S.. 2013. Anticoagulant Activity of *Averrhoa Bilimbi Linn* in Normal and Alloxan-Induced Diabetic Rats. *The Open Conference Proceedings Journal*. Vol. 4: 21–26.

- Dewi, K. I., Joharman, dan Budiarti, L. Y. 2013. Perbandingan Daya Hambat Ekstrak Etanol dengan Sediaan Sirup Herbal Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* *In Vitro* *Berkala Kedokteran* Vol.9 (2): 191-198
- Di Cera, E. 2008. Thrombin. *Molecular Aspect of Medicine*. Vol. 29 (4): 203-254.
- Gross, P. L., dan Weitz, J. L., 2009. New Antithrombotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. Vol. 86 (2): 139-146.
- Gugliemone, H. A., Agnese, A. M., Montaya, dan Cabrera. 2002. Anticoagulant Effect and Action Mechanism of Sulphated Flavonoids from *Flaveria bidentis*. *Pergamon. Thrombosis Reseach* Vol 105: 183-188.
- Hasanuzzaman, Ali Ramjan, Hossain, 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.
- Hassan, M. H., Sabih, D., Choudary, A., Asad, Muratza, G., dan Hussain. 2014. Compensatory Effects of Medicinal Plants of Pakistan Upon Prolongation of Coagulation Assays Induced by *Naja naja karachiensis* bite. *Research Communications*. Vol. 106 (6): 870-873
- Jantan, I., Raweh, S. M., Yasin, dan Murrad. 2006. Antiplatelet Activity of Aporphine and Phenanthrenoid Alkaloids from *Aromadendron elegans* Blume. *Phytotherapy Research*. Vol. 20: 493-297
- Jantan, I., Yasin, Y. H. M., Jamil, S., Sirat, H., dan Basar, N. 2010. Effect of Prenylated flavonoids and Chalcones Isolated from *Artocarpus* Species on Platelet Agregation in Human Whole Blood. *Journal of Natural Medicine*. Vol. 64 (3): 365-369.
- Joseph, J., dan Mendonca. 1991. *Oxalic Acid Content of Carambola and Bilimbi*. Guyana: Department of Chemistry, University of Guyana Turkeyen.
- Kunamneni, A., Abdelghani, T. T. A., dan Ellaiah, P. 2007. Streptokinase-The Drug of Choice for Thrombolytic Therapy. *Journal Thrombolysi*. Vol. 23: 9-23
- Lafuente, A. G., Guillamo, E., Villares, A., Rostagno, M. A., dan Martinez, J. A. 2009. Flavonoids as Anti-inflammatory Agents: Implications in Cancer and Cardiovascular Disease. *Inflammation Research*. Vol. 58: 537-552.

- Miao, M., Zhang X., dan Wang, L. 2013. Persimmon Leaf Flavonoid Induces Brain Ischemic Tolerance in Mice. *Neural Regeneration Research*. Vol. 8 (15): 1376-1382.
- Middleton, E. C., Kandaswami., dan Theoharides T, C. 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: 673-751
- Mihara, H., Sumi, H., Yoneta, T., Mizumoto, H., Ikeda R., Seiki, M., dan Maruyama, M. 1991. A Novel Fibrinolytic Enzyme Extracted from The Earthworm, *Lumbricus rubellus*. *Japanese Journal of Physiology*. Vol 41: 461-472
- 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, H., Hosoe, T., Wakana, D., Itabashi, T., Kawai, K., Iizuka T., Hoshi, K., Fuushima, K., dan Chun, L.F. 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.
- Moscucci, M. 2003. Predictors of Major Bleeding in Acute Coronary Syndromes: The Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *European Heart Journal*. Vol. 24: 15–23.
- Nijveldt, R. J., Nood, Hoorn, Boelens, Norren, dan Leewen. 2001. Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *American Society for Clinical Nutrition*. Vol. 74: 418-25.
- Prasad, S., Kashyap, R. S., Deopujari, J. Y., Purohit H. J., Taori G. M., dan Daginawala, H. F. 2006. Development of an In vitro Model to Study Clot Lysis Activity of Thrombolytic Drugs. *Thrombosis Journal*. Vol 14: 1-4.
- 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



- Roy, A., Geetha R. V., dan Lakshmi, T. 2011. Averrhoa Bilimbi Linn–Nature’s Drug Store- A Pharmacological Review. *International Journal of Drug Development & Research*. Vol. 3 (3): 101–106.
- 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.
- Siddique, K. I., Uddin M. N., Islam, S., Parvin, S., dan Shahriar, M. 2011. Phytochemical Screenings, Thrombolytic Activity and Antimicrobial Properties of the Bark Extracts of Averrhoa Bilimbi. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol. 3 (3): 094–096
- Ulfa, E. U., Riyanti, R., dan Rachim, R R. 2014. Pengaruh Ekstrak Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) terhadap Waktu Pembekuan Darah. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA) XVI*
- Wirawan, R. 2007. Nilai Rujukan Pemeriksaan Agregasi Trombosit dengan Adenosin Difosfat pada Orang Indonesia Dewasa Normal di Jakarta. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol. 57 (7): 212-219
- Yuan, S., Ferrel, C., dan Chandler, W. L. 2007. Comparing The Prothrombin Time INR versus The aPTT to Evaluate The Coagulopathy of Acute Trauma. *Thrombosis Reseach*. Vol. 120 (1): 29-37
- Yuliet, Yusriadi, Ilham Risah. 2014. Aktvitas Anti Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Prosding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA) XVI*
- Yulinah, E. S., 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. *Majalah Farmasi ITB*. Vol. 7 (2): 1-18

### **Buku**

- Brunton, L. L. 2006. *The Pharmacological Basis Therapeutics*. 11<sup>th</sup> Edition. New York: Mc Graw Hill.
- Dewoto, H. R., Louisa, M., Gunawan, S. G., Setiabudy, R., dan Nafrialdi, E. 2007. *Farmakologi dan Terapi 5<sup>th</sup> Edition*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.



- Despopoulos, A. dan Silbernagl, S. 2003. *Color Atlas of Physiology*. 5<sup>th</sup> Edition. New York: Stuttgart.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Ebadi, M. 2008. *Desk Refrence Of Clinical Pharmacology*. 2<sup>nd</sup> Edition. New York: CRC Press.
- Fedan, J. S. 2009. Anticogulant, Antiplatelet, and Fibrinolytic (Trombolytic) Drug. In *Grugs Affecting the Cardiovascular System*. Elsevier.
- Fong, Tinwa, Farnsworth, dan Dobberstein. 1977. *Phytochemical Screening Methods (Laboratory Manual)*. Chicago: University of Illinois at the Medical Center
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi Kedua. Bandung: ITB
- Hartanti, S. 2007. Anti Trombosit Sumber Hayati Indonesia. Tidak Diterbitkan. *Laporan Akhir Kumulatif Kegiatan Program Kompetitif LIPI*. Serpong: Pusat Penelitian Kimia LIPI Serpong.
- Hoffbrand, A. V., Pettit, J. E., dan Moss, P. A. H. 2002. Trombosit, Pembekuan Darah, dan Hemostasis. *Dalam: Hoffbrand, A.V., Pettit, J.E., dan Moss, P.A.H. 2002. Kapita Selekta Hematologi*. Edisi Keempat. Jakarta: EGC.
- Lullmann, H., Mohr, K., Ziegler A., dan Bieger, D., 2000. *Color Atlas of Physiology*. 2<sup>th</sup> Edition. New York: Stuttgart.
- Murray, R. K., Granner, D. K., dan Rodwell, V. W. 2009. *Biokimia Harper*. Alih bahasa oleh Brahm U. Pendit. Edisi 27. Jakarta: EGC.
- 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.
- Stringer, J. L. 2008. *Konsep Dasar Farmakologi*. 3<sup>rd</sup> ed. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Vogel, H. G. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. 2<sup>nd</sup> Edition. Berlin: Springer.

### Tesis

Astuti, Ketut Widyani. 2011. *Kombinasi Asetosal dan Ekstrak Mengkudu (Morinda citrifolia L.) dapat Memperpanjang Waktu Pendarahan dan Koagulasi pada Mencit*. Denpasar: Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik.

Ammal, R. P. 2014. *Evaluation of Thrombolytic and Antioxidant Potential of Murraya koenigii and Spinacia oleracea*. Coimbatore: Avinashilingam Deemed University For Women

Zulkipli, H. B. 2012. *Optimization of Extraction Parameters of Total Phenolic Compound from Cosmos caudatus*. Pahang: Faculty of Chemical and Natural Resources Engineering Universiti Malaysia Pahang

### Internet

ITIS. 2014. *Taxonomi and Nomenclature Averrhoa bilimbi L.* [http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=506370&print\\_version=PRT&source=to\\_print](http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506370&print_version=PRT&source=to_print). [16 November 2014].

Orwa C., Muta A., Kindt R., Jamnads R., dan Simons A. 2009. *Agroforestry Database: a Tree Reference and Selection Guide version 4.0.* [http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Averrhoa\\_bilimbi.pdf](http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Averrhoa_bilimbi.pdf) [02 Desember 2014].

**LAMPIRAN**

**Lampiran A. Data Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet**

**A.1 Kontrol negatif (akuades)**

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,536	0,210	60,821
2	0,538	0,209	61,152
3	0,535	0,209	60,935
4	0,534	0,210	60,674
5	0,527	0,201	61,860
6	0,529	0,203	61,626
Rata-rata±SD	0,533±0,004	0,207±0,004	61,178±0,470

**A.2 Konsentrasi 0,25 mg/mL**

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,530	0,308	41,887
2	0,533	0,306	42,589
3	0,524	0,302	42,366
4	0,531	0,301	43,315
5	0,497	0,284	42,857
6	0,499	0,286	42,685
Rata-rata±SD	0,519±0,017	0,298±0,010	42,617±0,479

**A.3 Konsentrasi 0,5 mg/mL**

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,541	0,372	31,238
2	0,535	0,372	30,467
3	0,536	0,366	31,716
4	0,543	0,373	31,308
5	0,415	0,288	30,602
6	0,419	0,286	31,742
Rata-rata±SD	0,498±0,063	0,343±0,043	31,179±0,541

**A.4 Konsentrasi 1 mg/mL**

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,508	0,411	19,094
2	0,511	0,409	19,961
3	0,511	0,409	19,961
4	0,511	0,406	20,548
5	0,487	0,391	19,713
6	0,484	0,388	19,835
Rata-rata±SD	0,502±0,013	0,402±0,010	19,852±0,469

**A.5 Konsentrasi 2 mg/mL**

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,493	0,424	13,996
2	0,494	0,423	14,372
3	0,490	0,425	13,265
4	0,485	0,425	12,371
5	0,427	0,375	12,178
6	0,432	0,378	12,500
Rata-rata±SD	0,470±0,032	0,408±0,025	13,114±0,915

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

Replikasi	Absorbansi		Platelet teragregasi (%)
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,444	0,432	2,703
2	0,445	0,433	2,697
3	0,447	0,435	2,685
4	0,445	0,435	2,247
5	0,435	0,425	2,299
6	0,439	0,430	2,050
Rata-rata±SD	0,443±0,005	0,432±0,004	2,447±0,284



**Lampiran B. Data Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan****B.1 *Prothrombin time (PT)*****B.1.1 Kontrol negatif (akuades)**

Replikasi	PT (detik)
1	11,9
2	11,6
3	11,4
Rata-rata±SD	11,6±0,252

**B.1.2 Ekstrak 2 mg/mL**

Replikasi	PT (detik)
1	16,8
2	17,1
3	17,4
Rata-rata±SD	17,1±0,300

**B.1.3 Kontrol positif (Heparin 1 mg/mL)**

Replikasi	PT (detik)
1	57,9
2	58,3
3	58,1
Rata-rata±SD	58,1±0,200

**B.2 *Activated partial thromboplastin time (aPTT)*****B.2.1 Kontrol negatif (akuades)**

Replikasi	aPTT (detik)
1	31,8
2	32,3
3	32,0
Rata-rata±SD	32,0±0,252

## B.2.2 Ekstrak 2 mg/mL

Replikasi	aPTT (detik)
1	39,4
2	39,7
3	39,9
Rata-rata±SD	39,7±0,252

## B.2.3 Kontrol positif (Heparin 1 mg/mL)

Replikasi	aPTT (detik)
1	110,6
2	111
3	110,4
Rata-rata±SD	110,7±0,306

**Lampiran C. Data Hasil Uji Aktivitas Trombolisis**

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan		Setelah perlakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis (%)
		Berat tabung+bekuan	Berat bekuan	Berat tabung+bekuan	Berat bekuan		
Kontrol negatif (akuades)	1,0214	1,4513	0,4299	1,4431	0,4217	0,0082	1,9074
	1,0231	1,4624	0,4393	1,4537	0,4306	0,0087	1,9804
	1,0425	1,5032	0,4607	1,4949	0,4524	0,0083	1,8016
	1,0315	1,5512	0,5197	1,5421	0,5106	0,0091	1,7510
	1,0474	1,5156	0,4682	1,5065	0,4591	0,0091	1,9436
	1,0329	1,4848	0,4519	1,4764	0,4435	0,0084	1,8588
0,25 mg/mL	1,0258	1,4821	0,4563	1,4507	0,4249	0,0314	6,8814
	1,0517	1,5488	0,4971	1,5156	0,4639	0,0332	6,6787
	1,0127	1,5188	0,5061	1,4837	0,4710	0,0351	6,9354
	1,0431	1,5678	0,5247	1,5324	0,4893	0,0354	6,7467
	1,0423	1,5694	0,5271	1,5337	0,4914	0,0357	6,7729
	1,0210	1,4935	0,4725	1,4606	0,4396	0,0329	6,9630
0,5 mg/mL	1,0371	1,5594	0,5223	1,5027	0,4656	0,0567	10,8558
	1,0425	1,5039	0,4614	1,4527	0,4102	0,0512	11,0967
	1,0327	1,5203	0,4876	1,4683	0,4356	0,0520	10,6645
	1,0326	1,5251	0,4925	1,4706	0,4380	0,0545	11,0660
	1,0523	1,5637	0,5114	1,5076	0,4553	0,0561	10,9699
	1,0568	1,5159	0,4591	1,4650	0,4082	0,0509	11,0869

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan		Setelah perlakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis (%)
		Berat tabung+bekuan	Berat bekuan	Berat tabung+bekuan	Berat bekuan		
1 mg/mL	1,0513	1,6337	0,5824	1,5453	0,4940	0,0884	15,1786
	1,0237	1,5410	0,5173	1,4602	0,4365	0,0808	15,6196
	1,0329	1,5257	0,4928	1,4462	0,4133	0,0795	16,1323
	1,0500	1,5415	0,4915	1,4672	0,4172	0,0743	15,1170
	1,0122	1,5290	0,5168	1,4470	0,4348	0,0820	15,8669
	1,0323	1,5154	0,4831	1,4393	0,4070	0,0761	15,7524
2 mg/mL	1,0498	1,6200	0,5702	1,4952	0,4454	0,1248	21,8871
	1,0516	1,5342	0,4826	1,4298	0,3782	0,1044	21,6328
	1,0488	1,6315	0,5827	1,5010	0,4522	0,1305	22,3957
	1,0504	1,5017	0,4513	1,3960	0,3456	0,1057	23,4212
	1,0527	1,5350	0,4823	1,4245	0,3718	0,1105	22,9111
	1,0513	1,5425	0,4912	1,4283	0,3770	0,1142	23,2492





**Lampiran D. Hasil Analisis Data**

**D.1 Uji Aktivitas Antiplatelet**

**D.1.1 Uji Normalitas**

Tests of Normality							
Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen_agregasi	Kontrol negatif	.197	6	.200 <sup>*</sup>	.917	6	.486
	250 ppm	.144	6	.200 <sup>*</sup>	.989	6	.986
	500 ppm	.210	6	.200 <sup>*</sup>	.885	6	.292
	1000 ppm	.183	6	.200 <sup>*</sup>	.939	6	.652
	2000 ppm	.249	6	.200 <sup>*</sup>	.893	6	.336
	Kontrol positif	.216	6	.200 <sup>*</sup>	.869	6	.221

a. Lilliefors Significance Correction  
 \*. This is a lower bound of the true significance.

**D.1.2 Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
Persen agregasi			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.332	5	30	.067

**D.1.3 Uji Anova**

ANOVA					
Persen agregasi					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13639.345	5	2727.869	8.152E3	.000
Within Groups	10.038	30	.335		
Total	13649.384	35			

## D.1.4 Uji LSD

## Post Hoc Tests

## Multiple Comparisons

Persen\_agregasi  
LSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif	250 ppm	18.561500*	.333971	.000	17.87944	19.24356
	500 ppm	29.999167*	.333971	.000	29.31711	30.68123
	1000 ppm	41.486167*	.333971	.000	40.80411	42.16823
	2000 ppm	48.064333*	.333971	.000	47.38227	48.74639
	Kontrol positif	58.845333*	.333971	.000	58.16327	59.52739
250 ppm	Kontrol negatif	-18.561500*	.333971	.000	-19.24356	-17.87944
	500 ppm	11.437667*	.333971	.000	10.75561	12.11973
	1000 ppm	22.924667*	.333971	.000	22.24261	23.60673
	2000 ppm	29.502833*	.333971	.000	28.82077	30.18489
	Kontrol positif	40.283833*	.333971	.000	39.60177	40.96589
500 ppm	Kontrol negatif	-29.999167*	.333971	.000	-30.68123	-29.31711
	250 ppm	-11.437667*	.333971	.000	-12.11973	-10.75561
	1000 ppm	11.487000*	.333971	.000	10.80494	12.16906
	2000 ppm	18.065167*	.333971	.000	17.38311	18.74723
	Kontrol positif	28.846167*	.333971	.000	28.16411	29.52823
1000 ppm	Kontrol negatif	-41.486167*	.333971	.000	-42.16823	-40.80411
	250 ppm	-22.924667*	.333971	.000	-23.60673	-22.24261
	500 ppm	-11.487000*	.333971	.000	-12.16906	-10.80494
	2000 ppm	6.578167*	.333971	.000	5.89611	7.26023
	Kontrol positif	17.359167*	.333971	.000	16.67711	18.04123
2000 ppm	Kontrol negatif	-48.064333*	.333971	.000	-48.74639	-47.38227
	250 ppm	-29.502833*	.333971	.000	-30.18489	-28.82077
	500 ppm	-18.065167*	.333971	.000	-18.74723	-17.38311
	1000 ppm	-6.578167*	.333971	.000	-7.26023	-5.89611
	Kontrol positif	10.781000*	.333971	.000	10.09894	11.46306
Kontrol positif	Kontrol negatif	-58.845333*	.333971	.000	-59.52739	-58.16327
	250 ppm	-40.283833*	.333971	.000	-40.96589	-39.60177
	500 ppm	-28.846167*	.333971	.000	-29.52823	-28.16411
	1000 ppm	-17.359167*	.333971	.000	-18.04123	-16.67711
	2000 ppm	-10.781000*	.333971	.000	-11.46306	-10.09894

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## D.2 Uji Aktivitas Antikoagulan

## D.2.1 Prothrombin time (PT)

## a. Uji Normalitas

Tests of Normality							
Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PT	Kontrol -	.219	3	.	.987	3	.780
	ekstrak 2000 ppm	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Kontrol +	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

b Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
PT			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.175	2	6	.844

c. Uji Anova

ANOVA					
PT					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3870.036	2	1935.018	3.003E4	.000
Within Groups	.387	6	.064		
Total	3870.422	8			

d. Uji LSD

Post Hoc

Multiple Comparisons						
PT LSD						
(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol -	ekstrak 2000 ppm	-5.46667 <sup>*</sup>	.20728	.000	-5.9739	-4.9595
	Kontrol +	-46.46667 <sup>*</sup>	.20728	.000	-46.9739	-45.9595
ekstrak 2000 ppm	Kontrol -	5.46667 <sup>*</sup>	.20728	.000	4.9595	5.9739
	Kontrol +	-41.00000 <sup>*</sup>	.20728	.000	-41.5072	-40.4928
Kontrol +	Kontrol -	46.46667 <sup>*</sup>	.20728	.000	45.9595	46.9739
	ekstrak 2000 ppm	41.00000 <sup>*</sup>	.20728	.000	40.4928	41.5072

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

D.2.2 *Activated partial thromboplastin time (aPTT)*

## a Uji Normalitas

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
aPTT Kontrol -	.219	3	.	.987	3	.780
Ekstrak 2000 ppm	.219	3	.	.987	3	.780
Kontrol +	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

## b. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
aPTT			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.116	2	6	.892

## c. Uji Anova

## ANOVA

aPTT	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11282.469	2	5641.234	7.693E4	.000
Within Groups	.440	6	.073		
Total	11282.909	8			

## d. Uji LSD

**Post Hoc**

**Multiple Comparisons**

aPTT  
LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol -	Ekstrak 2000 ppm	-7.63333'	.22111	.000	-8.1744	-7.0923
	Kontrol +	-78.63333'	.22111	.000	-79.1744	-78.0923
Ekstrak 2000 ppm	Kontrol -	7.63333'	.22111	.000	7.0923	8.1744
	Kontrol +	-71.00000'	.22111	.000	-71.5410	-70.4590
Kontrol +	Kontrol -	78.63333'	.22111	.000	78.0923	79.1744
	Ekstrak 2000 ppm	71.00000'	.22111	.000	70.4590	71.5410

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**D.3 Uji Aktivitas Trombolisis**

**D.3.1 Uji Normalitas**

Tests of Normality							
Konsentrasi		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen_lisis	Kontrol -	.162	6	.200'	.971	6	.896
	250	.196	6	.200'	.919	6	.498
	500	.239	6	.200'	.855	6	.172
	1000	.204	6	.200'	.963	6	.843
	2000	.240	6	.200'	.827	6	.102

a. Lilliefors Significance Correction  
\*. This is a lower bound of the true significance.

**D.3.2 Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
Persen_lisis			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.272	4	25	.000

**D.3.3 Transformasi Uji Homogenitas**

Test of Homogeneity of Variances			
log_persen			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.730	4	25	.052

**D.3.4 Uji Anova**



**ANOVA**

log_persen					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.225	4	1.056	7.097E3	.000
Within Groups	.004	25	.000		
Total	4.229	29			

D.3.5 Uji LSD

**Post Hoc**

**Multiple Comparisons**

log_persen LSD						
(I) Konsent rasi	(J) Konsent rasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol -	250	-.56025'	.00704	.000	-.5748	-.5457
	500	-.76560'	.00704	.000	-.7801	-.7511
	1000	-.92189'	.00704	.000	-.9364	-.9074
	2000	-1.08313'	.00704	.000	-1.0976	-1.0686
250	Kontrol -	.56025'	.00704	.000	.5457	.5748
	500	-.20535'	.00704	.000	-.2199	-.1908
	1000	-.36164'	.00704	.000	-.3761	-.3471
	2000	-.52288'	.00704	.000	-.5374	-.5084
500	Kontrol -	.76560'	.00704	.000	.7511	.7801
	250	.20535'	.00704	.000	.1908	.2199
	1000	-.15629'	.00704	.000	-.1708	-.1418
	2000	-.31753'	.00704	.000	-.3320	-.3030
1000	Kontrol -	.92189'	.00704	.000	.9074	.9364
	250	.36164'	.00704	.000	.3471	.3761
	500	.15629'	.00704	.000	.1418	.1708
	2000	-.16124'	.00704	.000	-.1757	-.1467
2000	Kontrol -	1.08313'	.00704	.000	1.0686	1.0976
	250	.52288'	.00704	.000	.5084	.5374
	500	.31753'	.00704	.000	.3030	.3320
	1000	.16124'	.00704	.000	.1467	.1757

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**Lampiran E. Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan**



**Prosenda**  
Laboratorium Klinik

Izin Dinkes : 442/855/414/2011  
NPWP : 03.172.952.8626.000  
Email Address : prosenda.lab@gmail.com

*Monitor Utama Kesehatan Anda*

#### LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN PT

NO	KODE SAMPEL	HASIL	KONTROL	NILAI NORMAL
1.	A1	11.9"	15.9"	Selisih 2 detik dari kontrol
2.	A2	11.6"	15.9"	
3.	A3	11.4"	15.9"	
4.	B1	16.8"	15.9"	
5.	B2	17.1"	15.9"	
6.	B3	17.4"	15.9"	
7.	C1	57.9"	15.9"	
8.	C2	58.3"	15.9"	
9.	C3	58.1"	15.9"	

#### LAPORAN HASIL PEMERIKSAAN aPTT

NO	KODE SAMPEL	HASIL	KONTROL	NILAI NORMAL
1.	A1	31.8"	39.1"	Selisih 7 detik dari kontrol
2.	A2	32.3"	39.1"	
3.	A3	32.0"	39.1"	
4.	B1	39.4"	39.1"	
5.	B2	39.7"	39.1"	
6.	B3	39.9"	39.1"	
7.	C1	110.6"	39.1"	
8.	C2	111.0"	39.1"	
9.	C3	110.4"	39.1"	

Jember, 13 Februari 2015



**( dr. Anri Novrianto )**

Penanggung Jawab

