



**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET DAN TROMBOLITIK EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C.) *IN VITRO***

SKRIPSI

Oleh

Ratnaning Setyowati

NIM.112210101048

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015



**Uji Aktivitas Antiplatelet dan Trombolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk
Purut (*Citrus hystrix* D.C) *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

Ratnaning Setyowati

NIM 112210101048

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Mama Subaiin dan Bapak Suyut tercinta, terimakasih atas doa, kasih sayang, nasihat, pengorbanan, dukungan dan semuanya sampai saat ini. Saya sangat bangga menjadi anakmu, mempunyai orang tua hebat seperti Bapak dan Mama
2. Kakakku Dedi Kurniawan yang menjadi inspirasi dan motivasi
3. Keluarga besar dan teman-teman sepanjang hidupku yang selalu memberi dukungan serta doa
4. Bapak/ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak/Ibu Guru SMAN 3 Lumajang, SMPN 1 Yosowilangun, SDN 04 Yosowilangun dan TK Dharma Wanita yang telah berkenaan membagi rangkaian ilmu berharga dan mendidikku menjadi manusia lebih berarti, jasa itu takkan terganti
5. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember

MOTTO

Sungguh bersama kesukaran ada keringanan. Karena itu bila kau telah selesai
(mengerjakan yang lain). Dan kepada Tuhan, berharaplah.

(Terjemahan Surat Q.S Al Insyirah : 6-8*)

If you spend too much thinking about a thing, you'll never get it done

(Bruce Lee)

Raihlah ilmu dan untuk meraih ilmu belajarlah untuk tenang dan sabar

(Khalifah 'Umar)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. Al Qur'an dan Terjemahannya.
Semarang: PT Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ratnaning Setyowati

NIM : 112210101048

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antiplatelet dan Trombolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) *In vitro*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar

Jember, 7 Agustus 2015



Ratnaning Setyowati
NIM. 112210101048

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET DAN TROMBOLITIK EKSTRAK
ETANOL KULIT BUAH JERUK PURUT (*Citrus hystrix* D.C) *IN VITRO***

Oleh

Ratnaning Setyowati

NIM 112210101048

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Fifteen Aprila F., S.Farm., Apt., M.Farm

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

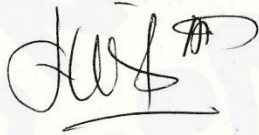
PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antiplatelet dan Trombolitik Ekstrak Etanol Kulit buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) *In Vitro*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

hari : Rabu,
tanggal : 12 Agustus 2015
tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama,



Fifteen Aprila F., S.Farm., Apt., M.Farm
NIP. 198204152006042002

Dosen Pembimbing Anggota,



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

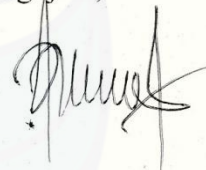
Tim Penguji

Dosen Penguji I,



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

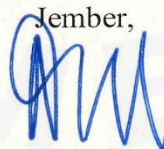
Dosen Penguji II,



Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si
NIP. 197806092005012004

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas

Jember,


Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm
NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Antiplatelet dan Trombolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C) *in Vitro*; 80 halaman; Ratnaning Setyowati, 112210101048; 2015; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Salah satu faktor penting yang berperan pada terjadinya gangguan kardiovaskular adalah trombosis dan aterosklerosis. Aterosklerosis adalah peristiwa terjadinya penebalan dan pengerasan pada pembuluh arteri jantung yang disebabkan akumulasi kolesterol pada daerah tempat penebalan dan penggabungan *clot* (gumpalan darah) membentuk trombus. Trombosis merupakan proses pembentukan atau adanya bekuan darah (trombus) di dalam pembuluh darah atau kavitas jantung yang mengakibatkan pembuluh darah menjadi tersumbat (emboli). Sumbatan aliran darah menyebabkan jantung dan otak tidak menerima suplai darah yang cukup. Selain itu sumbatan aliran darah juga menyebabkan terjadinya robekan jaringan di arteri yang kemudian akan membengkak dan dapat menghambat seluruh pembuluh darah. Hambatan aliran darah yang terjadi berakibat pada gangguan kardiovaskular yang lebih serius termasuk serangan jantung dan stroke.

Pembentukan bekuan darah (trombus) secara medis dapat dicegah dengan agen antiplatelet (antitrombotik) dan dapat dilarutkan atau dihilangkan dengan agen trombolitik. Ekstrak kulit buah jeruk purut diduga memiliki aktivitas sebagai agen antiplatelet dan trombolitik, dan beberapa kandungan senyawa yang diduga berperan dalam aktivitas tersebut antara lain flavonoid, minyak atsiri dan saponin.

Tujuan penelitian adalah mengetahui aktivitas antiplatelet dan trombolisis dari ekstrak etanol kulit buah jeruk purut pada tiga konsentrasi uji yang digunakan. Hasil penelitian diharapkan dapat memberi sumbangan informasi pendukung pada

penelitian bahan obat khususnya pengobatan tradisional dan data ilmiah mengenai efek ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dalam aktivitasnya sebagai antiplatelet dan trombolisis., serta dapat digunakan sebagai dasar teori bagi penelitian selanjutnya mengenai manfaat ekstrak kulit buah jeruk purut.

Pengujian aktivitas antiplatelet dilakukan dengan mengukur kekeruhan *platelet rich plasma* (PRP) sebelum dan sesudah diinduksi dengan *adenosine diphosphate* (ADP). 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)*.

Pada uji aktivitas antiplatelet diketahui terjadi penurunan nilai agregasi platelet pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada pemberian ekstrak 0,5 mg sudah terlihat adanya inhibisi agregasi yang lebih besar (nilai agregasi $14,952 \pm 1,014\%$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif (nilai agregasi $41,644 \pm 2,391\%$). Aktivitas inhibisi agregasi terbesar terdapat pada pemberian ekstrak 20 mg/ml yaitu sebesar 97,173% dengan nilai agregasi yang hanya sebesar $2,827 \pm 0,473\%$, nilai tersebut terlihat lebih besar dari nilai inhibisi kontrol positif (asetosal 1 mg/ml) dengan nilai agregasi $5,727 \pm 0,854\%$ dan nilai inhibisi sebesar 94,273%.

Pada uji aktivitas trombolitik nilai lisis terbesar terlihat pada ekstrak dengan pemberian 20 mg/ml, dimana pada menit ke-30 sebesar $40,999 \pm 1,378\%$, pada menit ke-60 $50,977 \pm 3,095\%$ dan pada menit ke-90 sebesar $61,967 \pm 1,911\%$, nilai lisis pada masing-masing waktu inkubasi pada konsentrasi 20 mg/ml terlihat hampir mendekati nilai lisis pada kontrol positif (sediaan nattokinase 10 mg/ml). Pada setiap waktu inkubasi tiap-tiap kelompok uji terlihat memiliki hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok uji lainnya. Berdasarkan hasil pengujian maka dapat disimpulkan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas antiplatelet yang ditandai dengan penurunan persentasi agregasi, dan aktivitas trombolisis yang ditandai dengan peningkatan persentase lisis.

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 Fifteen Aprila F., S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Endah Puspitasari S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota serta Ibu Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt. Dosen Pembimbing Akademik atas waktu, pikiran perhatiannya dalam membimbing dan memberi petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
3. Ibu Siti Muslichah, S.Si., Apt., M.Sc dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., M.Si. 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 Subaiin dan Bapak Suyut. Terima kasih atas kasih sayang, perhatian, dukungan, motivasi serta ketulusan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanan selama ini

6. Kakak Dedi Kurniawan dan segenap keluarga besarku di Lumajang yang telah memberikan motivasi serta do'anya hingga terselesaikan skripsi ini;
7. Bu Widi dan Mbak Anggra selaku teknisi Laboratorium Biologi serta Mbak Indri selaku teknisi di Laboratorium Farmasi Klinik atas dukungan semangat dan bantuan selama penulis menyelesaikan penelitian;
8. Choirul Anam, terimakasih atas bantuan, motivasi, kasih sayang dan semangatnya selama ini;
9. Teman sekamar Intan Paramudita dan sahabat-sahabatku tersayang Putri eka, Zulviyati, Nikmatur, terimakasih selalu menemani, mendukung, memberikan motivasi dan nasihat-nasihat selama menempuh pendidikan hampir 4 tahun di Universitas Jember ini, saya selalu bersyukur bisa mengenal kalian;
10. Alan, Bibin, Hendry, Faisal, Joko dan Zakariyah selaku probandus dalam penelitian ini, terimakasih sumbangan darah kalian sangat berarti dalam pengerjaan skripsi ini;
11. Ichlasul, Prisma, Fitriana, Yuniar, Rara, Arum, terimakasih atas segala bantuan dan semangatnya,
12. Keluarga besar ASMEF (Farmasi angkatan 2011), yang tidak dapat disebutkan satu per satu terimakasih atas persaudaraan, doa dan semangat 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.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMBUTAN.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan masalah.....	4
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Manfaat	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Hemostasis Tubuh	6
2.2. Sistem dan Jalur Pembekuan Darah.....	6
2.2.1. Trombosit	6
2.2.2. Endotel Vaskular	8
2.2.3. Proses Pembekuan Darah.....	8
2.3. Hubungan Aterotrombosis dengan Gangguan Kardiovaskuler	10
2.4. Mekanisme Kerja Obat-Obat Antiplatelet	12

2.4.1.	Asetosal.....	12
2.4.2.	Dipiridamol.....	13
2.4.3.	Tiklopidin.....	13
2.4.4.	Klopidogrel.....	13
2.4.5.	Kilostazol.....	14
2.4.6.	Penghambat Glikoprotein IIb/IIIa.....	14
2.5.	Mekanisme Kerja Obat-Obat Trombolitik.....	15
2.5.3.	Streptokinase.....	15
2.5.4.	Urokinse.....	15
2.5.5.	<i>Tissue Plasminogen Activator</i> (t-PA).....	16
2.6.	Tinjauan Tanaman.....	16
2.6.3.	Klasifikasi Tanaman.....	16
2.6.4.	Deskripsi Tanaman.....	17
2.6.5.	Manfaat.....	18
2.6.6.	Kandungan Tanaman.....	19
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	22
3.1.	Jenis Penelitian.....	22
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	22
3.3.	Rancangan Penelitian.....	22
3.3.1.	Uji Penentuan Inhibisi Agregasi Platelet.....	22
3.3.2.	Uji Aktivitas Trombolitik.....	23
3.4	Variabel Penelitian.....	23
3.4.1	Variabel Bebas.....	23
3.4.2	Variabel Terikat.....	24
3.4.3	Variabel Terkendali.....	24
3.5.	Definisi Operasional.....	24
3.6	Bahan dan Alat.....	25
3.7	Prosedur Kerja.....	25

3.7.1 Preparasi Sampel.....	25
3.7.2. Proses Ekstraksi	25
3.7.3. Sampel Darah.....	26
3.7.4. Pembuatan Suspensi Ekstrak Kulit Jeruk Purut.....	26
3.7.5. Pembuatan Suspensi Asetosal.....	26
3.7.6. Pembuatan Suspensi Nattokinase	27
3.7.7. Pembuatan PRP (<i>Platelet Rich Plasma</i>).....	27
3.7.8. Pembuatan PPP (<i>Platelet Poor Plasma</i>)	27
3.7.9. Uji Aktivitas Antiplatelet	27
3.7.10 Uji aktivitas trombolitik	28
3.8 Analisis Data	29
3.9 Alur Penelitian.....	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1. Hasil	33
4.1.1. Estraksi Kulit Buah Jeruk Purut.....	33
4.1.2 Uji Aktivitas Antiplatelet	33
4.1.3 Uji Aktivitas trombolitik	35
BAB V. PENUTUP.....	43
5.1 Kesimpulan	43
5.2 Saran	43
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Peran trombosit dalam trombosis	7
Gambar 2.2. Plak aterosklerosis dan trombosis pada pembuluh darah.....	11
Gambar 2.3. Buah Jeruk Purut	18
Gambar 2.4. Mekanisme ekstrak sebagai antiplatelet.....	21
Gambar 2.5. Mekanisme ekstrak sebagai trombolitik	21
Gambar 3.1. Rancangan Penelitian Uji Antiplatelet	22
Gambar 3.2. Rancangan Penelitian Uji Trombolitik	23
Gambar 3.3 Alur pembuatan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut	30
Gambar 3.4 Alur penentuan pengujian aktivitas antiplatelet	31
Gambar 3.5 Alur penentuan pengujian aktivitas trombolitik	32
Gambar 4.1 Nilai agregasi platelet pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan	34
Gambar 4.2 Hasil lisis bekuan pada uji aktivitas trombolitik sebelum (a) dan sesudah.....	35
Gambar 4.3. Mekanisme hambatan agregasi platelet oleh flavonoid, minyak atsiri dan saponin	39
Gambar 4.4. Mekanisme ekstrak sebagai trombolitik	41

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular (*cardiovascular disease/CVD*) merupakan suatu istilah untuk gangguan yang menyebabkan penyakit jantung (kardio) dan pembuluh darah (vaskular). Beberapa yang termasuk penyakit kardiovaskular antara lain penyakit jantung koroner, penyakit tekanan darah tinggi (hipertensi), penyakit urat nadi perifer (pembuluh darah pada kaki yang tersumbat), penyakit jantung reumatik, penyakit jantung bawaan (akibat cacat lahir) dan kegagalan jantung (*World Health Organization, 2015*).

Salah satu faktor penting yang berperan pada terjadinya gangguan kardiovaskular adalah trombosis dan aterosklerosis. Aterosklerosis adalah peristiwa terjadinya penebalan dan pengerasan pada pembuluh arteri jantung yang disebabkan akumulasi kolesterol pada daerah tempat penebalan dan penggabungan *clot* (gumpalan darah) membentuk trombus (Oliver, 2008). Trombosis merupakan proses pembentukan atau adanya bekuan darah di dalam pembuluh darah atau kavitas jantung yang mengakibatkan pembuluh darah menjadi tersumbat (emboli) (Canon, 2005). Sumbatan aliran darah menyebabkan jantung dan otak tidak menerima suplai darah yang cukup, selain itu juga menyebabkan terjadinya robekan jaringan di arteri yang kemudian akan membengkak dan dapat menghambat seluruh pembuluh darah. Hambatan aliran darah yang terjadi berakibat pada gangguan kardiovaskular yang lebih serius termasuk serangan jantung dan stroke (Guyton dan Hall, 1997).

Penyakit kardiovaskular adalah penyebab kematian utama di dunia. Diperkirakan sekitar 17 juta orang meninggal disebabkan penyakit kardiovaskular pada tahun 2005, yang menunjukkan 30% dari seluruh kejadian kematian secara global. Kejadian penyakit kardiovaskular semakin meningkat, diperkirakan sekitar tiga sampai empat kali lebih tinggi pada negara-negara berkembang. Hingga tahun

2030 diperkirakan masih terdapat hampir 23 juta orang meninggal karena penyakit kardiovaskular, terutama karena serangan jantung dan stroke. Jumlah kasus terbesar akan terjadi di daerah Mediterania Timur dan peningkatan jumlah kasus kematian terbesar diperkirakan terjadi di daerah Asia Tenggara (*World Health Organization*, 2015).

Penyakit jantung dan pembuluh darah di Indonesia menduduki peringkat pertama penyebab kematian secara umum. Berdasarkan hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001, pada tahun 2000 kematian yang diakibatkan penyakit kardiovaskular sebesar 26,3% dari total kematian. Proporsi kematian semakin meningkat dengan bertambahnya umur dan meningkat nyata pada usia 35 tahun ke atas (Tim Survei Kesehatan Nasional, 2002).

Pembentukan bekuan darah (trombus) secara medis dapat dicegah dengan agen antiplatelet (antitrombotik) dan dapat dilarutkan atau dihilangkan dengan agen trombolitik. Agen antiplatelet seperti asetosal, dipiridamol dan tiklopidin bersifat terbatas pada penggunaan terus-menerus karena dapat menyebabkan resistensi (Puri, 2007) dan beberapa efek samping, seperti sakit kepala, kram perut, muntah, dan ulserasi, sedangkan hampir semua pilihan obat trombolitik seperti streptokinase, nattokinase dan urokinase sangat mahal (Gunawan, 2007). Oleh karena itu sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mencari bahan alami dengan efek samping yang lebih sedikit dan harga yang lebih murah.

Penggunaan bahan alam sebagai obat saat ini cenderung mengalami peningkatan dengan adanya isu *back to nature* dan krisis berkepanjangan yang mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat terhadap obat-obatan modern yang relatif lebih mahal harganya. Hutan tropis Indonesia memiliki 30.000 spesies tumbuhan. Sebanyak 9.600 spesies dari jumlah tersebut diketahui berkasiat obat, tetapi baru 200 spesies saja yang telah dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri obat tradisional. Peluang pengembangan budi daya tanaman obat-obatan masih terbuka luas sejalan dengan berkembangnya industri jamu, obat herbal, fitofarmaka dan kosmetika tradisional (Prastyono, 2012).

Indonesia memiliki kekayaan alam yang melimpah, salah satunya tumbuhan jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C). Saat ini buah jeruk purut merupakan salah satu buah khas Indonesia yang masih belum sepenuhnya dimanfaatkan. Berdasarkan pada beberapa penelitian yang pernah dilakukan, tanaman jeruk purut diketahui memiliki aktivitas sebagai antidiabetes (Irawaty *et al.*, 2014), antioksidan, antimikroba (Wungsintaweekul *et al.*, 2010), hepatoprotektif dan kardioprotektif (Putri *et al.*, 2013). Beberapa penelitian terhadap jenis genus *Citrus* antara lain *Citrus limon* mempunyai aktivitas antikoagulan dan antiplatelet *in vitro/in vivo* (Riaz *et al.*, 2014) sedangkan *Citrus assamenses* (Mahmood *et al.*, 2013) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) (Ali *et al.*, 2015) mempunyai aktivitas trombolitik.

Hasil skrining fitokimia semua jenis jeruk mengindikasikan adanya senyawa fenolik, flavonoid, tanin, saponin, dan kulit buah jeruk purut menunjukkan kandungan tertinggi untuk flavonoid dan saponin total jika dibandingkan dengan bagian biji (Afifah, 2013). Ekstrak kulit buah jeruk purut diduga memiliki aktivitas sebagai agen antiplatelet dan trombolitik, dan beberapa kandungan senyawa yang diduga berperan dalam aktivitas tersebut antara lain, flavonoid, minyak atsiri dan saponin. Kandungan flavonoid terbukti dapat menghambat agregasi platelet *in vitro* dengan menghambat jalur metabolisme siklooksigenase (Jansen *et al.*, 1998). Flavonoid rutin (kuersetin-3-rutinosida) (Shehadeh *et al.*, 2007) dan minyak atsiri (Mencherini *et al.*, 2012) dapat meningkatkan efek antiplatelet dengan menghambat agregasi platelet oleh induksi ADP (*adhenosin-5-diphosphate*), sedangkan aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005). Aktivitas trombolitik ekstrak juga diduga karena adanya flavonoid (Ali *et al.*, 2015), minyak atsiri (Akhila, 2010) dan saponin (Bhowmick *et al.*, 2014), ketiga senyawa tersebut diperkirakan sama-sama bekerja dengan meningkatkan pembentukan dan pelepasan *tissue Plasminogen Activator* (t-PA) sehingga dapat memberikan aktivitas trombolitik dengan mendegradasi fibrinogen dan fibrin.

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antiplatelet dan trombolitik ekstrak kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix*

D.C) *in vitro*. Hasil penelitian tersebut diharapkan dapat menambah informasi masyarakat tentang pemanfaatan tanaman jeruk purut dan sebagai alternatif pengobatan pada penyakit kardiovaskular di Indonesia.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, rumusan masalah yang diperoleh yaitu:

1. Apakah ekstrak kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas antiplatelet *in vitro*?
2. Apakah ekstrak kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas trombolitik *in vitro*?
3. Bagaimana aktivitas ekstrak kulit buah jeruk purut sebagai antiplatelet dan trombolitik dalam tiga konsentrasi uji yang digunakan?

1.3. Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan dilaksanakan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antiplatelet ekstrak etanol kulit buah jeruk purut *in vitro*.
2. Mengetahui aktivitas trombolitik ekstrak etanol kulit buah jeruk purut *in vitro*.
3. Mengetahui bagaimana aktivitas ekstrak kulit buah jeruk purut sebagai antiplatelet dan trombolitik dalam tiga konsentrasi uji yang digunakan.

1.4. Manfaat

Berdasarkan tujuan penelitian tersebut, maka manfaat yang diharapkan dapat diperoleh yaitu

1. Aspek akademik

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi sumbangan informasi pendukung pada penelitian bahan obat khususnya pengobatan tradisional dan data ilmiah mengenai efek ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dalam aktivitasnya sebagai antiplatelet dan trombolisis.

2. Aspek praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan masyarakat sebagai bahan obat alternatif dalam pencegahan dan pengobatan penyakit kardiovaskular setelah dilakukan beberapa penelitian.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Hemostasis Tubuh

Hemostasis merupakan proses penghentian pendarahan secara spontan pada pembuluh darah yang cedera. Faktor-faktor yang mempengaruhi antara lain pembuluh darah, trombosit dan faktor pembekuan darah. Terganggunya proses hemostasis menyebabkan terjadinya tromboemboli dan peradangan. Hambatan hemostasis mengakibatkan pendarahan spontan, sedangkan hemostasis berlebihan mengakibatkan terbentuknya trombus. Dalam proses ini pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi dan trombosit akan beragregasi membentuk sumbat trombosit. Selanjutnya sumbat trombosit yang dibentuk oleh fibrin melalui proses pembekuan darah akan memperkuat sumbat trombosit yang telah terbentuk sebelumnya (Gunawan, 2007). Penyebab umum dari sistem hemostasis yang tidak teregulasi adalah cacat bawaan atau karena mekanisme pembekuan abnormal dan bisa disebabkan efek sekunder dari infeksi atau kanker (Katzung dan Trevor, 2015).

2.2. Sistem dan Jalur Pembekuan Darah

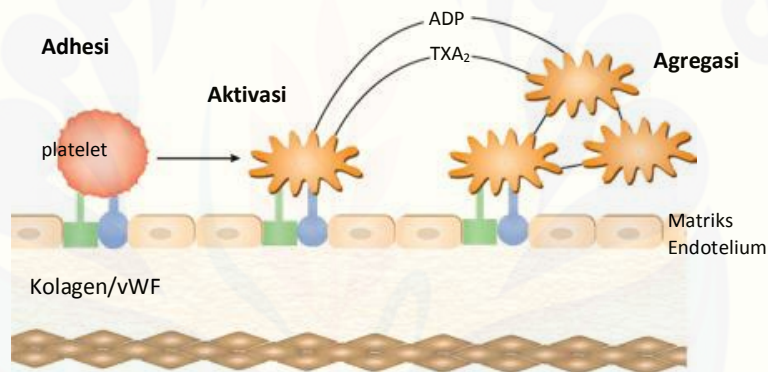
2.2.1. Trombosit

Trombosit merupakan bentuk terkecil dari jenis sel-sel darah, karena hanya fragmen dari megakariosit sitoplasma, namun trombosit memiliki peran penting dalam hemostasis normal dan merupakan kontributor penting untuk gangguan trombotik. Adanya pemahaman tentang peran trombosit dalam hemostasis dan gangguan yang disebabkan oleh fungsi trombosit yang abnormal telah menghasilkan terapi baru yang penting untuk penyakit trombotik (Bakta, 2007).

Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit, dan reaksi pelepasan (Gambar 2.1). Reaksi adhesi trombosit yaitu kemampuan trombosit untuk melekat pada permukaan lain misalnya

pada jaringan subendotel yang terbuka (Rahajuningsih, 2009). Trombosit menjadi aktif apabila terpajan ke kolagen subendotel dan bagian jaringan yang cedera. Adhesi trombosit melibatkan suatu interaksi antara glikoprotein membran trombosit dan jaringan yang terpejan atau cedera (Price dan Wilson, 2006).

Reaksi agregasi adalah kemampuan trombosit melekat satu sama lain untuk membentuk suatu sumbat. Reaksi agregasi berkaitan dengan perubahan bentuk trombosit dari diskoid menjadi bulat. Pada reaksi pelepasan trombosit terjadi pelepasan mediator-mediator kimiawi yang terdapat di dalam granula padat misalnya diasilgliserol (yang mengaktifkan fosforilasi protein melalui protein kinase C) dan inositol trifosfat (menyebabkan pelepasan ion kalsium intrasel) menyebabkan terbentuknya tromboksan A₂ (Price dan Wilson, 2006).



Gambar 2.1. Peran trombosit dalam trombosis (Gross dan Weitz, 2009)

Saat terjadi cedera, trombosit melekat (reaksi adhesi) pada kolagen dan vWF (*von Willebrand Factor*) yang terpapar pada sisi cedera vaskular melalui reseptor pada permukaan jaringan. Trombosit yang melekat mengintegrasikan sinyal, mengubah bentuk mereka dan melepaskan ADP (adenosin difosfat) dan TXA₂ (Tromboksan A₂), kemudian terjadi aktivasi trombosit dan membawa mereka ke lokasi cedera. Aktivasi trombosit memicu jalur sinyal yang menginduksi perubahan konformasi di GPIIb/IIIa (α IIb β 3), integrin yang sangat berlimpah di permukaan trombosit kemudian meningkatkan afinitas fibrinogen. Fibrinogen kemudian mengikat dan menjadi jembatan bagi trombosit yang berdekatan untuk membentuk

agregat (Gross dan Weitz, 2009). Tromboksan A₂ merupakan produk dari COX₁ yang mengaktivasi agregasi platelet sedangkan prostasiklin dihasilkan oleh sel endotelial secara alami yang berfungsi untuk menghambat aktivasi agregasi platelet (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

2.2.2. Endotel Vaskular

Sel endotel pembuluh darah yang utuh bersifat nontrombogenik, sehingga mencegah trombosit menempel pada permukaannya. Sifat nontrombogenik ini akan hilang bila endotel mengalami kerusakan/terkelupas (cedera vaskular) karena berkurangnya produksi senyawa antitrombotik dan meningkatnya produksi senyawa protrombotik. Berbagai senyawa protrombotik yang dilepaskan ini akan mengaktifkan sistem pembekuan darah dan menyebabkan menurunnya aktifitas fibrinolisis sehingga meningkatkan kecenderungan untuk terjadi trombosis (Setiabudy, 2009). Sebagai respon terhadap cedera vaskular, otot polos pada arteriol dan venula berkonstriksi dan produksi prostasiklin distimulasi oleh kontak dengan platelet atau leukosit yang teraktivasi. Prostasiklin memiliki kemampuan antiplatelet dan vasodilator yang kuat sehingga merupakan antagonis biologis terhadap vasokonstriktor yang berasal dari platelet, yaitu tromboksan (Brunton, 2006).

2.2.3. Proses Pembekuan Darah

Secara garis besar proses pembekuan darah berjalan melalui tiga tahap: (1) aktivasi tromboplastin (2) pembentukan trombin dari protrombin dan (3) pembentukan fibrin dari fibrinogen. Darah membeku karena fibrinogen yang larut berubah menjadi fibrin yang tidak larut. Saat proses pembekuan darah, beberapa protein dalam sirkulasi darah berinteraksi dalam reaksi proteolitik yang berurutan. Pada tiap langkah, satu faktor pembekuan zimogen mengalami proteolisis terbatas dan menjadi suatu protease yang aktif. Protease ini mengakibatkan faktor pembekuan berikutnya sampai akhirnya terbentuk suatu bekuan fibrin yang padat (Gunawan, 2007). Hingga kini dikenal 15 faktor bekuan darah (Tabel 1).

Tabel 1. Faktor-faktor pembekuan darah

Faktor	Keterangan
I	Fibrinogen
II	Protrombin
III	Tromboplatin jaringan
IV	Ca ⁺⁺
V	Faktor labil, proakselerin, Ac-globulin
VII	Faktor stabil, prokonvertin, akselerator konversi protrombin serum (SPCA)
VIII	Globulin antihemofilik (AHG), faktor A antihemofilik
IX	Faktor chritsmas, komponen tromboplastin (PTC), faktor B antihemofilik
X	Faktor stuart-power
XI	Antesenden tromboplastin plasm (PTA), faktor C antihemofilik
XII	Faktor Hageman
XIII	Faktor penstabil fibrin
HMW-K	Faktor Fitzgerald, kininogen dengan berat molekul tinggi
Pre-K	Preklariklein, faktor Flechter
vWf	Faktor van Willebrand

Aktivasi tromboplastin *in vitro*, yang mengubah protrombin (faktor II) menjadi trombin (faktor IIa) terjadi melalui 2 mekanisme yaitu mekanisme ekstrinsik dan intrinsik. Pada mekanisme ekstrinsik, tromboplastin jaringan (faktor III, berasal dari jaringan yang rusak) akan bereaksi dengan faktor VIIa yang dengan adanya kalsium (faktor VI) akan menghentikan faktor X. Faktor Xa bersama-sama dengan faktor Va, ion kalsium dan fosfolipid trombosit akan mengubah protrombin menjadi trombin. Oleh pengaruh trombin, fibrinogen (faktor I) akan diubah menjadi fibrin monomer, atas pengaruh faktor XIIIa akan menjadi stabil dan resisten terhadap enzim proteolitik misalnya plasmin (Gunawan, 2007).

Mekanisme intrinsik melibatkan semua faktor yang diperlukan untuk pembekuan darah di dalam darah. Pembekuan dimulai bila faktor *Hageman* (faktor XII) kontak dengan suatu permukaan yang bermuatan negatif, misalnya kolagen subendotel pembuluh darah yang rusak. Reaksi tersebut dipercepat dengan pembentukan kompleks antara faktor XII, faktor *Fitzgerald* dan preklarikrein. Faktor XIIIa selanjutnya akan mengaktivasi faktor XI dan faktor Xia bersama ion kalsium

akan mengaktivasi faktor IX. Faktor IX aktif, bersama-sama faktor VIII, ion kalsium dan fosfolipid akan mengaktifkan faktor X. Urutan mekanisme pembekuan darah selanjutnya sama seperti yang terjadi pada mekanisme intrinsik (Gunawan, 2007).

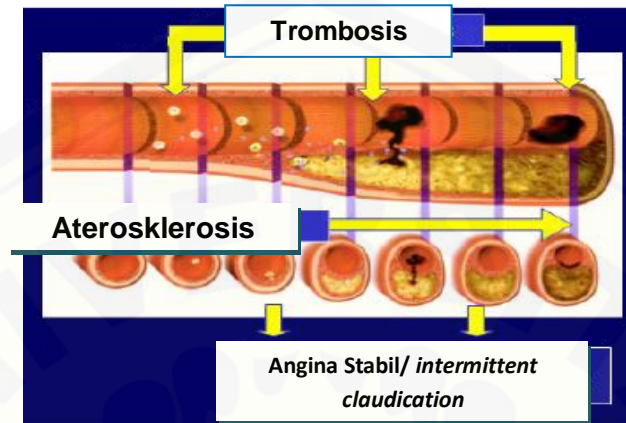
Faktor faktor yang menghentikan proses pembekuan darah ialah: (1) larutnya faktor pembekuan darah pada darah yang mengalir; (2) klirens bentuk aktif faktor pembekuan darah yang cepat oleh hati; (3) mekanisme umpan balik dimana trombin menghambat aktivitas faktor V dan VII; dan (4) adanya mekanisme antikoagulasi alami terutama oleh AT-III, protein C dan S (Gunawan, 2007).

2.3. Hubungan Aterotrombosis dengan Gangguan Kardiovaskuler

Aterotrombosis terdiri dari aterosklerosis dan trombosis (Gambar 2.2). Aterosklerosis merupakan proses pembentukan plak (plak aterosklerotik) akibat akumulasi beberapa bahan seperti *lipid-filled macrophages (foam cells)*, *massive extracellular lipid* dan plak *fibrous* yang mengandung sel otot polos dan kolagen. Perkembangan terkini menjelaskan aterosklerosis adalah suatu proses inflamasi/infeksi yang awalnya ditandai dengan adanya kelainan dini pada lapisan endotel, pembentukan sel busa dan *fatty streaks*, pembentukan *fibrouscups* dan lesi lebih lanjut, dan proses pecahnya plak aterosklerotik yang tidak stabil (Depkes, 2006).

Secara bertahap pembentukan plak aterosklerosis berjalan dari sejak usia muda bahkan dikatakan juga sejak usia anak-anak sudah terbentuk bercak-bercak garis lemak (*fatty streaks*) pada permukaan lapis dalam pembuluh darah, dan lambat-laun pada usia tua dapat berkembang menjadi bercak sklerosis (plak atau kerak pada pembuluh darah) sehingga terjadinya penyempitan dan/atau penyumbatan pembuluh darah. Kalau plak tadi pecah, robek atau terjadi perdarahan subendotel, mulailah proses trombogenik, yang menyumbat sebagian atau keseluruhan suatu pembuluh koroner. Proses aterosklerosis ini dapat stabil, tetapi dapat juga tidak stabil atau progresif. Konsekuensi yang dapat menyebabkan kematian adalah proses

aterosklerosis yang bersifat tidak stabil/progresif yang dikenal juga dengan SKA (Sindrom Koroner Akut) (Depkes, 2006).



Gambar 2.2. Plak aterosklerosis dan trombosis pada pembuluh darah (Depkes, 2006)

Sedangkan trombosis merupakan proses pembentukan atau adanya darah beku yang terdapat di dalam pembuluh darah atau kavitas jantung. Ada dua macam trombosis, yaitu trombosis arterial (trombus putih) yang ditemukan pada arteri, dimana pada trombus tersebut ditemukan lebih banyak platelet, dan trombosis vena (trombus merah) yang ditemukan pada pembuluh darah vena dan mengandung lebih banyak sel darah merah dan lebih sedikit platelet. Komponen-komponen yang berperan dalam proses trombosis adalah dinding pembuluh darah, aliran darah dan darah sendiri yang mencakup platelet, sistem koagulasi, sistem fibrinolitik, dan antikoagulan alamiah (Depkes, 2006).

Trombosis adalah keadaan dimana terjadi pembekuan massa bekuan darah intravaskuler, yang berasal dari konstituen darah pada orang yang masih hidup. Trombosis dapat terjadi pada arteri (*arterial thrombosis*), dapat juga terjadi pada vena (*venous thrombosis*). Komponen trombus arteri sebagian besar terdiri dari platelet (trombosit) yang dikelilingi oleh anyaman fibrin, komponen eritrositnya sangat rendah sehingga trombus berwarna putih. Sedangkan trombus vena sebagian besar terdiri dari sel darah merah di sela-sela anyaman fibrin, komponen trombus hanya sedikit (Bakta, 2007).

Pada saat terjadi trauma atau cedera pada pembuluh darah, platelet, faktor pembekuan darah dalam plasma dan dinding pembuluh darah akan berinteraksi untuk menutup luka pada pembuluh darah. Pembuluh darah yang rusak akan berkonstriksi melepaskan endotelin dan platelet akan beragregasi pada tempat terjadinya luka dan menarik platelet lain untuk menutup luka dengan sumbatan platelet. Selanjutnya, sistem koagulasi akan memproduksi fibrin yang saling berikatan silang untuk membentuk bekuan fibrin atau trombus yang memperkuat proses penutupan luka. Trombus yang terbentuk di pembuluh darah inilah yang dapat menghambat aliran darah dan oksigen ke seluruh tubuh sehingga menjadi penyebab munculnya berbagai presentasi klinik kardiavaskular seperti angina atau infark miokard (Despopoulos dan Silbernagl, 2003).

2.4. Mekanisme Kerja Obat-Obat Antiplatelet

Antiplatelet adalah obat-obat yang dapat menghambat agregasi trombosit sehingga menyebabkan terhambatnya pembentukan trombus yang terutama sering ditemukan pada arteri (Gunawan, 2007), namun sebagian besar obat-obat antiplatelet yang telah beredar di pasaran memiliki efek samping terutama pada saluran cerna, sehingga saat sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mencari inhibitor agregasi platelet alami dengan efek samping yang lebih sedikit. Beberapa contoh obat yang dapat digunakan sebagai antiplatelet antara lain:

2.4.1. Asetosal

Asetosal menghambat sintesis tromboksan A₂ (TXA₂) di dalam trombosit dan prostasiklin (PGI₂) di pembuluh darah dengan menghambat secara irreversibel enzim siklooksigenase (akan tetapi siklooksigenase dapat dibentuk kembali oleh sel endotel). Penghambatan enzim siklooksigenase terjadi karena aspirin mengasetilasi enzim tersebut. Asetosal dosis kecil hanya dapat menekan pembentukan TXA₂, sebagai akibatnya terjadi pengurangan agregasi trombosit. Dosis efektif aspirin sebagai antiplatelet 80-320 mg per hari, dosis lebih tinggi selain menyebabkan

toksisitas (pendarahan saluran cerna) juga menjadi kurang efektif karena selain menghambat TXA₂ akan menghambat pembentukan prostasiklin, efek samping lain misalnya rasa tidak enak di perut dan mual (Gunawan, 2007).

2.4.2. Dipyridamol

Dipyridamol menghambat ambilan dan metabolisme adenosin oleh eritrosit dan sel endotel pembuluh darah, dengan demikian meningkatkan kadarnya dalam plasma. Adenosin menghambat fungsi trombosit dengan merangsang adenilat siklase dan merupakan vasodilator. Dipyridamol juga memperbesar efek antiagregasi platelet prostasiklin. Efek samping yang paling sering yaitu sakit kepala. Bila digunakan untuk pasien angina pektoris, dipyridamol kadang-kadang memperberat gejala karena terjadinya fenomena *coronary steal*. Efek samping lain ialah pusing, sinkop, dan gangguan saluran cerna (Gunawan, 2007).

2.4.3. Tiklopidin

Tiklopidin menghambat agregasi trombosit yang diinduksi oleh ADP. Inhibisi maksimal agregasi trombosit baru terlihat setelah 8-11 hari terapi. Berbeda dari aspirin, tiklopidin tidak mempengaruhi metabolisme prostaglandin. Dari uji klinik secara acak dilaporkan adanya manfaat tiklopidin untuk pencegahan kejadian vaskular pada pasien TIA, stroke dan agina pektoris tidak stabil. Efek samping yang sering adalah mual muntah dan diare yang terjadi sampai 20% pasien, terjadi pendarahan (5%) dan yang paling berbahaya leukopenia (1%) (Gunawan, 2007).

2.4.4. Klopidoqrel

Klopidoqrel bekerja sebagai antagonis reseptor adenosine difosfat (ADP), adalah obat yang membutuhkan oksidasi oleh *hepatic cytochrome P450* (CYP 450) untuk menjadi metabolit aktif. ADP berikatan dengan trombosit melalui reseptor P2Y1, P2Y12 dan P2X1. Reseptor P2X1 tidak memiliki peranan yang penting dalam aktivasi trombosit. Hanya sebagian kecil klopidoqrel yang mengalami oksidasi oleh

CYP450, sebagian besar terhidrolasi oleh esterase menjadi turunan asam karboksilat yang tidak aktif. *CYP3A4* dan *CYP3A5* adalah enzim enzim yang bertanggung jawab pada cincin *thiophene clopidogrel* menjadi *2-clopidogrel* yang selanjutnya menjadi karboksil dan grup thiol. Bentuk yang terakhir ini membentuk jembatan disulfida dengan residu sistein ekstraseluler yang berlokasi di reseptor ADP *P2Y12* yang berada di permukaan trombosit dan menyebabkan blokade ADP secara ireversibel (Gross dan Weits, 2009). Efek samping yang ditimbulkan oleh obat ini adalah sakit kepala, kram perut, muntah, dan ulserasi lambung (Angiolillo *et al.*, 2007).

2.4.5. Kilostazol

Kilostazol merupakan obat antiplatelet yang dapat menaikkan kadar cAMP (*cyclic Adenosin Monophosphate*) dalam platelet melalui penghambatan fosfodiesterase. Adenosin monofosfat siklik (cAMP) menghasilkan sinyal intraseluler untuk menekan aktivasi platelet. Obat ini digunakan pada penyakit oklusif arterial kronik (Gross dan Weits, 2009).

2.4.6. Penghambat Glikoprotein IIb/IIIa

Glikoprotein IIb/IIIa merupakan integrin permukaan trombosit yang merupakan reseptor untuk fibrinogen dan faktor *von Willebrand*, yang menyebabkan melekatnya trombosit pada permukaan asing dan antar trombosit, sehingga terjadi agregasi trombosit. Obat yang termasuk dalam golongan penghambat glikoprotein IIb/IIIa adalah absiksimab dan integrilin. Absiksimab merupakan antibodi *monoklonal chimeric* mencit/manusia. Absiksimab bekerja memblokir reseptor glikoprotein IIb/IIIa sehingga menghambat agregasi trombosit. Integrilin merupakan peptida sintetik yang mempunyai afinitas tinggi terhadap reseptor glikoprotein IIb/IIIa. Integrilin digunakan untuk pengobatan angina tidak stabil dan untuk angioplasti koroner. Efek samping golongan ini antara lain pendarahan dan trombositopenia (Gunawan, 2007).

2.5. Mekanisme Kerja Obat-Obat Trombolitik

Obat trombolitik adalah jenis obat yang dapat melarutkan trombus yang sudah terbentuk. Indikasi golongan obat trombolitik adalah infark miokard akut, trombosis vena dalam dan emboli paru, tromboemboli arteri, melarutkan bekuan darah pada katup jantung buatan dan kateter intravena. Kelompok obat ini sangat mahal dan efek samping paling banyak ditimbulkan adalah pendarahan (untuk streptokinase dan urokinase), efek samping lain mual, muntah dan reaksi alergi. Beberapa contoh obat trombolitik adalah sebagai berikut:

2.5.3. Streptokinase

Streptokinase berasal dari *Streptococcus C. hemolyticus*, dan berguna untuk pengobatan fase dini emboli paru akut dan infark miokard akut. Streptokinase mengaktivasi plasminogen dengan cara tidak langsung yaitu dengan bergabung terlebih dahulu dengan plasminogen untuk membentuk kompleks aktivator. Selanjutnya kompleks aktivator tersebut mengkatalisis perubahan plasminogen bebas menjadi plasmin (Gunawan, 2007).

Kebanyakan pasien memiliki antibodi terhadap streptokinase sebagai akibat infeksi streptokokus sebelumnya, oleh karena itu mula-mula diberikan dosis muat. Jika dengan dosis 1 juta IU tidak efektif obat ini mungkin tidak aktif dan tidak digunakan. Streptokinase merupakan protein asing dapat menyebabkan alergi seperti pruritus, urtikaria, *flushing*, kadang-kadang angioderma, bronkospasme, demam dan atralgia (Gunawan, 2007).

2.5.4. Urokinase

Urokinase diisolasi dari urin manusia. Berbeda dengan streptokinase, urokinase langsung mengaktifkan plasminogen. Selain terhadap emboli paru, urokinase juga digunakan untuk tromboemboli pada arteri dan vena. Seperti streptokinase obat ini tidak bekerja spesifik terhadap fibrin sehingga menimbulkan

lisis sistemik (fibrinogenolisis dan destruksi faktor pembekuan darah lainnya) (Gunawan, 2007).

2.5.5. *Tissue Plasminogen Activator* (t-PA)

Plasminogen secara endogen juga diaktifkan oleh aktivator plasminogen jaringan. Alteplase dan reteplase yang merupakan aktivator plasminogen jaringan manusia dan diproduksi dengan teknik rekayasa DNA. Alteplase merupakan hasil rekayasa aktivator plasminogen jaringan manusia yang tidak dimodifikasi, sedangkan pada reteplase terdapat beberapa asam amino yang dihilangkan. Obat ini bekerja lebih selektif mengaktivasi plasminogen yang mengikat fibrin daripada plasminogen bebas di dalam darah. Dengan demikian t-PA bekerja lebih selektif terhadap bekuan darah (Gunawan, 2007).

2.5.6. Nattokinase

Nattokinase merupakan enzim fibrinolitik yang diekstraksi dari *natto*. *Natto* diperoleh dengan menambahkan bakteri *Bacillus subtilis natto* pada kedelai kemudian dikukus bersama-sama dalam suatu kontainer poliester dan di fermentasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Nattokinase bekerja seperti plasmin yang mendegradasi fibrinogen secara langsung, berperan sebagai aktivator plasmin jaringan, dan dapat meningkatkan produksi urokinase dari prourokinase sehingga produksi plasminogen meningkat (Milner dan Makise, 2002).

2.6. Tinjauan Tanaman

2.6.3. Klasifikasi Tanaman

Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat dimanfaatkan dalam semua aspek kehidupan manusia. Obat tradisional adalah salah satu bentuk nyata pemanfaatan sumber daya hayati tersebut. Salah satu tanaman yang biasa digunakan sebagai obat tradisional adalah buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C).

Dilihat dari taksonominya tanaman jeruk purut berasal dari:

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : Citrus
Spesies : *Citrus hystrix* D.C

(ITIS, 2015).

2.6.4. Deskripsi Tanaman

Pohon jeruk purut berukuran rendah atau perdu, namun bila dibiarkan tumbuh alami dapat mencapai ketinggian 12 m. Batang yang tua berwarna hijau tua, berbentuk bulat, polos, atau berbintik-bintik. Tata letak tajuk tanaman tidak beraturan dan cabang-cabangnya rapat. Dahan dan ranting-rantingnya bersudut tajam, berwarna hijau tua, berbintik-bintik, dan berduri di ketiak daun. Duri-durinya pendek, kaku, hitam, ujungnya coklat, dan panjangnya 0,2 cm – 1,0 cm. Letak daun jeruk purut terpenjar atau silih berganti dan bertangkai agak panjang serta bersayap lebar. Bentuk daun terbagi dua bulat telur, ujungnya tumpul, berbau sedap, mengkilap, dan berwarna hijau kekuning-kuningan. Tanaman jeruk purut berbunga majemuk. Daun jeruk purut memiliki panjang 8-12 cm dan lebar 3-5 cm. Bunganya terletak di ketiak daun atau di ujung tangkai, tajuk bunga berjumlah 4-5 lembar, dan benang sari berjumlah 24 – 30 helai. Buah jeruk purut berbentuk bulat sampai bundar, ukurannya kecil, kulit buah tidak rata, rasanya asam dan berbau sedap (Gambar 2.3) (Wiryanta dan Bernard, 2005).



Gambar 2.3. Buah Jeruk Purut (www.jurnalasia.com)

2.6.5. Manfaat

Jeruk purut merupakan buah yang dikenal luas oleh masyarakat Indonesia dan memiliki banyak kegunaan. Daun maupun buahnya banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Bagian daun biasanya digunakan untuk mengatasi badan letih dan lelah sehabis sakit berat dan juga untuk penyedap masakan. Sedangkan kulit buah jeruk purut digunakan sebagai obat bisul, panas dalam, radang kulit, radang payudara, kulit bersisik dan kulit mengelupas (Dalimartha, 2000). Di Indonesia, Thailand, dan Malaysia jeruk purut umumnya digunakan dalam masakan Asia dan obat tradisional. Daun jeruk memiliki berbagai kegunaan medis dan kuliner di Asia Tenggara. Kulit segar dan buah-buahan kering digunakan untuk meredakan mual, menghilangkan gas dan mengontrol datang bulan. Buah digunakan untuk menghilangkan batuk dan sebagai sampo. Daun jeruk dan ekstrak buahnya memiliki aktivitas antioksidan, aktivitas antimikroba dan aktivitas anti-inflamasi (Chueahongthong *et al.*, 2011).

Kebanyakan buah jeruk secara alami memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Antioksidan merupakan molekul atau nutrisi yang ditemukan dalam banyak makanan yang meningkatkan sistem kekebalan tubuh yang terjadi secara alamiah, membuat tahan terhadap banyak penyakit tubuh. Kerusakan akibat radikal bebas telah dikaitkan dengan penyakit jantung, kanker dan diabetes. Buah jeruk memberikan manfaat kesehatan sebagai pemasok vitamin dan sarat dengan antioksidan yang membantu membalikkan efek kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas, yang menyebabkan lebih lama dan hidup sehat (Gorinstein *et al.*, 2006).

2.6.6. Kandungan Tanaman

Berdasarkan teori kemotaksonomi, suatu tanaman yang secara taksonomi saling berkaitan misalnya marga atau sukunya sama akan menghasilkan senyawa yang jenisnya sama dan kemungkinan memiliki aktivitas sama (Markham, 1998). Pada skrining fitokimia semua jenis jeruk yaitu jeruk purut, jeruk limau dan *calamondin* mengindikasikan adanya senyawa fenolik, flavonoid, tanin dan saponin. Kulit buah jeruk purut menunjukkan kandungan tertinggi untuk flavonoid dan saponin total sedangkan pada analisis biji jeruk purut menunjukkan kandungan tertinggi untuk senyawa fenolik flavonoid dan tanin (Afifah, 2013). Senyawa flavonoid terbesar yang ada dalam buah jeruk limau adalah senyawa rutin yang dikenal dengan nama *quercetin-3-rutinoside* (Deschner *et al.*, 1991).

Pada tanaman jeruk purut mengandung senyawa flavanoids narigenin dan hesperidin dengan konsentrasi terbesar terdapat pada kulit buah (Putri *et al.*, 2013). Kulit jeruk purut juga mempunyai kandungan minyak atsiri dengan komponen β -pinena (30,6 %), limonena (29,2 %), dan sabinena (22,6 %) (Lawrence *et al.*, 1970).

Berbagai kelas senyawa polifenol dalam buah jeruk telah diidentifikasi sebagai aglikon flavanon (hesperitin, naringenin), aglikon flavon (acacetin, kuersetin, diosmetin), *polymethoxy flavones* (kuersetogetin, nobiletin, tangeretin), flavanon-O-glikosida (hesperidin, naringin, narirutin, neohesperidin), dan flavon-C dan flavon-C glukosida (Irawaty *et al.*, 2014).

Beberapa senyawa yang diduga bertanggung jawab pada aktivitas antiplatelet dan trombolitik dalam ekstrak etanol kulit buah jeruk purut adalah:

a. Flavonoid

Flavonoid adalah kelas besar senyawa polifenol dengan berat molekul rendah yang muncul hampir di seluruh bagian pada tanaman (Narasimhan, 1988). Flavonoid merupakan salah satu antioksidan yang mampu menghambat adesi, agregasi dan aktivasi platelet (Jantan *et al.*, 2011). Flavonoid hesperidin terbukti memiliki aktivitas sebagai antiplatelet dengan menghambat pembentukan tromboksan A_2 (Yu, *et al.*, 2011). Mekanisme dalam menghambat agregasi platelet disebabkan flavonoid mampu

menghambat metabolisme asam arakidonat yang menyebabkan terhambatnya PGH_2 sehingga pembentukan tromboksan A_2 terhambat (Middleton *et al.*, 2000). Tromboksan A_2 (TXA_2) yang tidak terbentuk atau berkurang akan tidak mampu mengaktivasi platelet untuk beragregasi dan penggumpalan platelet pada pembentukan trombus juga terhambat (Lafuente *et al.*, 2009) (Gambar 2.4). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat korelasi negatif antara asupan flavonoid dengan resiko munculnya penyakit jantung koroner (kardioprotektif) (Cook dan Samman, 1996). Zat rutin dapat meningkatkan efek antiplatelet dengan menghambat agregasi platelet oleh induksi ADP dan kolagen (Gambar 2.4) (Shehadeh *et al.*, 2007).

Dalam suatu penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa flavonoid dapat meningkatkan *Tissue Plasminogen Activator* (t-PA), menurunkan kandungan plasminogen activator inhibitor-1 dan mengurangi pembentukan trombosis serebral (Gambar 2.5) (Miao *et al.*, 2013). Plasmin merupakan salah satu agen antitrombotik alami, dimana plasminogen yang terikat permukaan sel dengan mudah diaktifkan untuk plasmin yang akhirnya mengarah ke fibrinolisis/trombolitik (Bhowmick *et al.*, 2014).

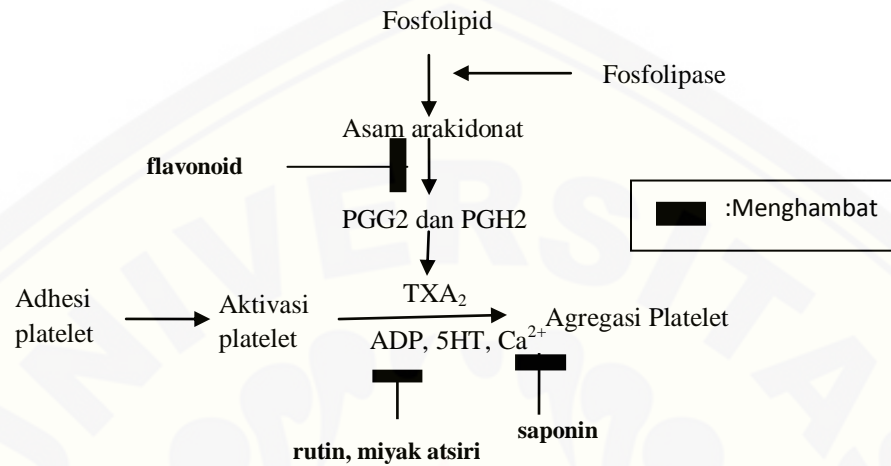
b. Minyak atsiri

Kandungan minyak atsiri pada genus *citrus* terbukti memiliki aktivitas antiplatelet dan trombolitik, aktivitas antiplatelet karena minyak atsiri dapat menghambat induksi ADP pada proses agregasi platelet (Gambar 2.6) (Mencherini, 2012). Adanya aktivitas trombolitik karena minyak atsiri juga memiliki kemampuan yang sama dengan flavonoid (Gambar 2.5) yaitu sebagai *Tissue Plasminogen Activator* (t-PA) dari sel vaskular trombosit (Akhila, 2010).

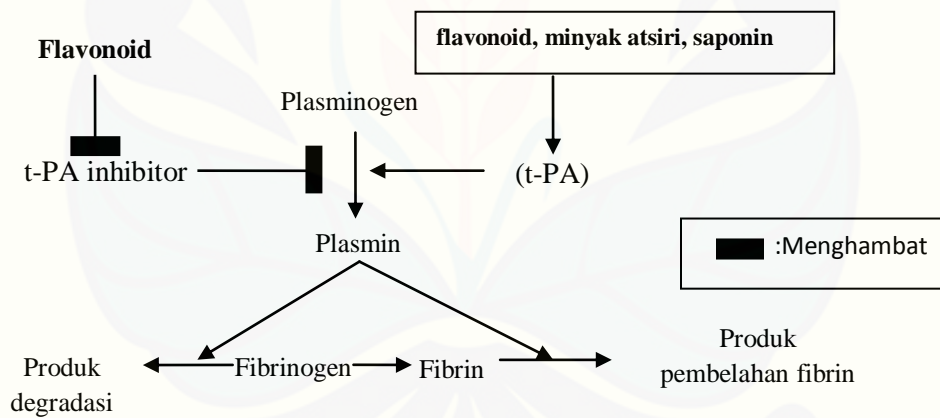
c. Saponin

Aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005). Pada peristiwa agregasi platelet ion kalsium berperan sebagai promotor vasokonstriksi (Grice *et al.*, 2009). Senyawa saponin pada ekstrak

tanaman juga diduga memiliki aktivitas trombolitik dengan bertindak sebagai *Tissue Plasminogen Activator* (t-PA) (Gambar 2.5) (Bhowmick *et al*, 2014).



Gambar 2.4. Mekanisme ekstrak sebagai antiplatelet (Lafuente *et al.*, 2009; Mencherini *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2005)



Gambar 2.5. Mekanisme ekstrak sebagai trombolitik (Miao *et al.*, 2013; Bhowmick *et al.*, 2014; Akhila, 2010)

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

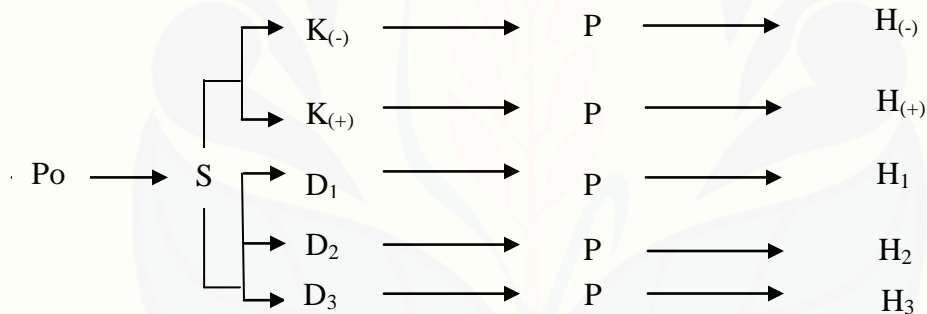
Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratories*.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai Maret 2015 di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3. Rancangan Penelitian

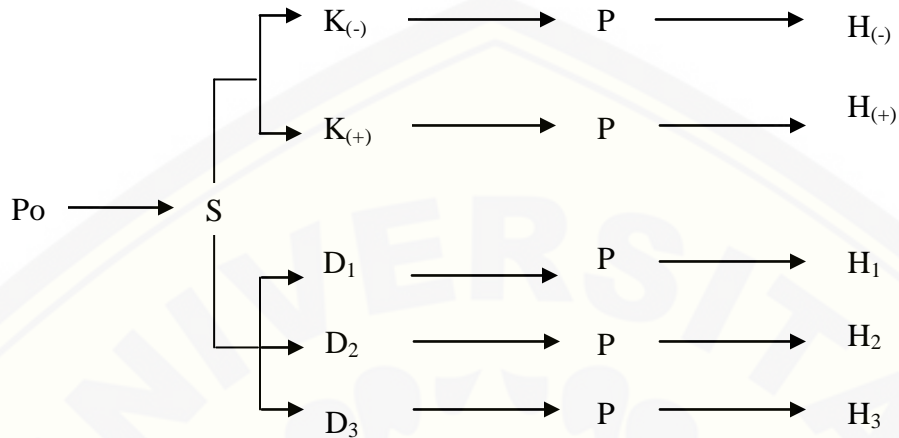
3.3.1. Uji Penentuan Inhibisi Agregasi Platelet



Gambar 3.1. Rancangan Penelitian Uji Antiplatelet

- Po : Jumlah populasi normal manusia
- S : Sampel normal *Platelet Rich Plasma* (PRP)
- K(-) : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian air suling 100 µl pada PRP
- K(+): Kelompok kontrol positif dengan pemberian sebanyak asetosal 1 mg/ml sebanyak 100 µl pada PRP
- D1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah jeruk purut konsentrasi 20 mg/ml sebanyak 100 µl pada PRP
- D2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah jeruk purut konsentrasi 10 mg/ml sebanyak 100 µl pada PRP
- D3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah jeruk purut konsentrasi 5 mg/ml sebanyak 100 µl pada PRP

3.3.2 Uji Aktivitas Trombolitik



Gambar 3.2. Rancangan Penelitian Uji Trombolitik

- Po : Jumlah populasi normal manusia
 S : Sampel darah
 K₍₋₎ : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian air suling 100 μ l pada bekuan darah
 K₍₊₎ : Kelompok kontrol positif dengan pemberian nattokinase konsentrasi 10 mg/ml sebanyak 100 μ l yang dilarutkan dalam air suling pada sampel bekuan darah
 D1 : Kelompok perlakuan dengan pemberian 20 mg/ml ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dalam air suling sebanyak 100 μ l pada sampel bekuan darah
 D2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian 10 mg/ml ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dalam air suling sebanyak 100 μ l pada sampel bekuan darah
 D3 : Kelompok perlakuan dengan pemberian 5 mg/ml ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dalam air suling sebanyak 100 μ l pada sampel bekuan darah

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit buah jeruk purut sebesar 5 mg/ml, 10 mg/ml dan 20 mg/ml.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kemampuan ekstrak sebagai antiplatelet dan trombolisis yang diperoleh dari nilai lisis dari bekuan darah dalam tabung mikrosentrifus dan penurunan serapan plasma pada PRP.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dari penelitian ini ekstraksi kulit buah jeruk purut, kriteria inklusi dan eksklusi pada sampel darah yang diambil, waktu dan tempat penelitian, serta prosedur pengujian aktivitas antiplatelet dan trombolisis *in vitro*.

3.5. Definisi Operasional

Definisi operasional pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Buah jeruk purut diambil pada bulan Maret dari desa Sumberejo kecamatan Sukodono kabupaten Lumajang
- b. Buah yang digunakan adalah jeruk purut tua berumur 3-5 bulan dan dipanen pada sore hari
- c. Bagian buah yang diambil adalah kulit buah segar bagian berwarna hijau dan putih. Kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan selanjutnya diekstraksi dengan etanol 96%.
- d. Sampel uji yang digunakan adalah ekstrak etanol kulit buah jeruk purut yang telah dipekatkan, kemudian disuspensi dengan akuades untuk uji *in vitro*.
- e. Ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dikatakan mempunyai aktivitas antiagregasi platelet apabila penurunan serapan platelet pada plasma setelah penambahan ADP lebih sedikit, juga adanya peningkatan inhibisi yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif.
- f. Ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dikatakan mempunyai aktivitas trombolitik jika terjadi penurunan berat bekuan darah dibandingkan sebelum perlakuan, juga adanya peningkatan inhibisi yang signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif.

3.6 Bahan dan Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah maserator, blender, rotary evaporator (Heidolph), vial, spuit injeksi, mikropipet, tabung mikrosentrifus, alat sentrifus (Hettich Zentrifuge EBA 20), neraca digital, spektrofotometer visibel (Labomed UVD-2950),

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah jeruk purut, etanol 96%, sampel darah normal, *platelet rich plasma* (PRP) dan *platelet poor plasma* (PPP).

3.7 Prosedur Kerja

3.7.1 Preparasi Sampel

Sebanyak 5 kg buah jeruk purut dicuci dengan air mengalir sambil disikat pelan jika terdapat kotoran yang menempel. Selanjutnya kulit buah bagian berwarna putih dan hijau dikupas secara manual menggunakan pisau, kemudian dipotong-potong menjadi bagian kecil-kecil ± 1 cm agar memudahkan pengeringan. Kulit dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka pada tempat teduh selama 7 hari kemudian dioven pada suhu 50°C selama 24 jam. Setelah kering, kulit diblender dan diayak hingga berupa serbuk halus.

3.7.2. Proses Ekstraksi

Serbuk kulit buah jeruk purut kering ditimbang sebanyak 150 g dimasukkan dalam alat maserator dan ditambah pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 kemudian diaduk. Maserator ditutup dan biarkan termaserasi selama 5 hari dengan pengadukan setiap hari hingga terbentuk maserat. Maserat disaring dari ampas dengan corong *Buchner* dan diendapkan selama 2 hari, maserat dan endapan dipisahkan dengan hati-hati, selanjutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental.

3.7.3. Sampel Darah

Bahan uji yang digunakan adalah darah vena dari relawan sehat yang sedang tidak menggunakan obat kontrasepsi dan antikoagulan. Darah yang diambil sebanyak 20 ml untuk uji antiplatelet dan pengambilan 15 ml jika digunakan untuk uji trombolitik. Pemilihan relawan dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi (Mufidah *et al.*, 2012) dengan modifikasi. Kriteria inklusi antara lain pria dan wanita sehat, berusia >19 tahun, tidak memiliki keluhan klinik, tidak memiliki penyakit (riwayat tekanan darah normal, riwayat tidak menderita diabetes, riwayat profil lipid darah normal dan riwayat penyakit kardiovaskular), memiliki pola hidup sehat (tidak merokok, tidak dalam kondisi tegang, tidak mengonsumsi kopi, teh atau coklat 24 jam sebelum pengujian, serta tidak mengonsumsi alkohol dan nikotin). Sedangkan kriteria eksklusi meliputi hamil atau mengalami menstruasi, meminum obat-obatan (yaitu kontrasepsi oral, antitrombosit, NSAID, antibiotik β -laktam, vitamin E dan suplemen antioksidan dosis tinggi).

3.7.4. Pembuatan Suspensi Ekstrak Kulit Jeruk Purut

Ekstrak etanol kental kulit buah jeruk purut yang diperoleh ditimbang terlebih dahulu sesuai yang diperlukan, kemudian ditambahkan akuades dengan 1% Tween 80 dan dilakukan pengadukan dengan *ultrasonic homogenizer* dan untuk kelompok kontrol negatif juga menggunakan akuades dengan 1% Tween 80 (Jagtab *et al.*, 2012).

3.7.5. Pembuatan Suspensi Asetosal

Ditimbang 10 mg asetosal dan dituangkan ke dalam labu ukur 10 ml ditambahkan pelarut (akuades dengan 1% Tween) \pm 5 ml kemudian dilakukan pengadukan menggunakan *ultrasonic homogenizer* (aspirin sangat susah larut dalam air) hingga semua serbuk terlarut, setelah semua serbuk terlarut ditambahkan pelarut lagi hingga tanda batas labu (10 ml), sehingga didapatkan larutan aspirin 1000 μ g/ml (1 mg/ml)

3.7.6. Pembuatan Suspensi Nattokinase

Sebanyak 10 sediaan kapsul (@50 mg nattokinase) dibuka kemudian dilakukan perhitungan keseragaman botol. Setelah diperoleh bobot rata-rata (265 mg) ditimbang sediaan sebanyak 530 mg (setara dengan 100 mg nattokinase) dan dituangkan ke dalam labu ukur 10 ml, serbuk dilarutkan menggunakan akuades dengan 1% Tween 80 hingga tanda batas labu (10 ml) suspensi dikocok hingga terdispersi merata, sehingga didapatkan suspensi nattokinase 10.000 µg/ml (10 mg/ml)

3.7.7. Pembuatan PRP (*Platelet Rich Plasma*)

Darah yang diambil dari vena relawan sehat selanjutnya dipindahkan dalam tabung sentrifuse yang telah berisi natrium sitrat 3,8% sebagai yang berfungsi sebagai antikoagulan (dibutuhkan 1 ml natrium sitrat untuk 9 ml darah). Darah disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 rpm, lapisan plasma di bagian 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.

3.7.8. Pembuatan PPP (*Platelet Poor Plasma*)

Sisa darah dalam tabung sitrat yang telah dipisahkan PRPnya, disentrifuse lagi 3500 rpm selama 15 menit. Plasma yang diperoleh adalah PPP, kemudian dimasukkan 500 µL ke dalam kuvet pemeriksaan dan digunakan sebagai blanko. Plasma untuk PPP adalah plasma dari pasien yang sama dengan PRP.

3.7.9. Uji Aktivitas Antiplatelet

Pengukuran pembentukan agregat platelet dapat dilakukan dengan menggunakan plasma manusia yang diinduksi dengan ADP *in vitro*. Agregat platelet yang terbentuk dinilai dengan membandingkan serapan plasma sebelum dan sesudah

induksi agregasi platelet oleh ADP dengan menggunakan spektrofotometer. Makin besar penurunan serapan platelet plasma, semakin besar agregat yang terbentuk.

Konsentrasi uji 20.000, 10.000, 5000 µg/ml, kontrol positif dengan konsentrasi 1000 µg/ml dan kontrol negatif dipipet sebanyak 100 µl dan ditambahkan ke dalam 450 µl *platelet preparation* (PRP) pada tabung mikrosentrifuse kemudian diinkubasi kurang lebih 5 menit. Masing-masing kelompok uji direplikasi sebanyak 3 kali (Mufidah *et al*, 2012). Diukur serapannya sebelum dan sesudah diberi ADP pada panjang gelombang 600 nm dan sampel PPP dijadikan sebagai blanko (Jagtab *et al.*, 2012). Setelah diberi ADP dilakukan inkubasi selama 20 menit pada shaker inkubator pada suhu 37°C (Vogel, 2002).

Kekeruhan plasma darah sebelum dan sesudah diberi ADP diukur dengan spektrofotometer, kemudian kekeruhan plasma antara kelompok uji dengan kelompok kontrol dihitung inhibisi agregasi plateletnya. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Moriyama *et al* (2009) agregasi platelet ditentukan dengan rumus:

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

B= absorbansi setelah penambahan ADP

A= absorbansi sebelum penambahan ADP

3.7.10 Uji aktivitas trombolitik

Setiap 500 µl darah dipindah ke tiap-tiap tabung mikrosentrifus yang telah di timbang terlebih dahulu. Tabung mikrosentrifus yang berisi darah diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit setelah terbentuk bekuan darah, secara langsung serum telah dihilangkan tanpa merusak bekuan, dan masing-masing tabung yang berisi bekuan darah ditimbang beratnya untuk menghitung berat bekuan darah (Arifuzzaman *et al.*, 2011).

Suspensi ekstrak kulit buah jeruk purut dengan volume 100 µl dengan konsentrasi masing-masing (5, 10 dan 20 mg/ml) dimasukkan ke tiap-tiap tabung mikrosentrifus yang berisi bekuan darah. Sebagai kontrol positif ditambahkan 100 µl

nattokinase dengan konsentrasi 10 mg/ml dan untuk kontrol negatif ditambahkan 100 µl akuades. Kemudian semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C pada setiap 30, 60, 90 menit diamati lisis bekuan darah (Arifuzzaman *et al.*, 2011).

Setelah proses inkubasi, darah yang lisis dibersihkan dengan cara membalikkan tabung mikrosentrifuse sehingga darah yang lisis akan turun dan hanya tersisa bekuan darah pada tabung mikrosentrifus. Tabung mikrosentrifus ditimbang kembali setelah semua darah yang lisis tidak tertinggal pada bekuan darah untuk mengamati perbedaan berat bekuan darah sebelum dan sesudah perlakuan. Perubahan berat bekuan darah tersebut dibandingkan sebelum dan sesudah perlakuan untuk mengetahui presentase lisis bekuan darah. Penurunan berat bekuan darah antara kelompok uji dengan kelompok kontrol dihitung presentase lisis bekuan darahnya, untuk mengetahui perbandingan aktivitas terhadap bekuan darah masing-masing perlakuan (Arifuzzaman *et al.*, 2011). Hasil lisis bekuan darah dapat dihitung menggunakan rumus (Yusuf, 2013):

$$\text{lisis bekuan darah} = \frac{\text{berat clot awal} - \text{berat clot yang tidak lisis}}{\text{berat clot awal}} \times 100\%$$

3.8 Analisis Data

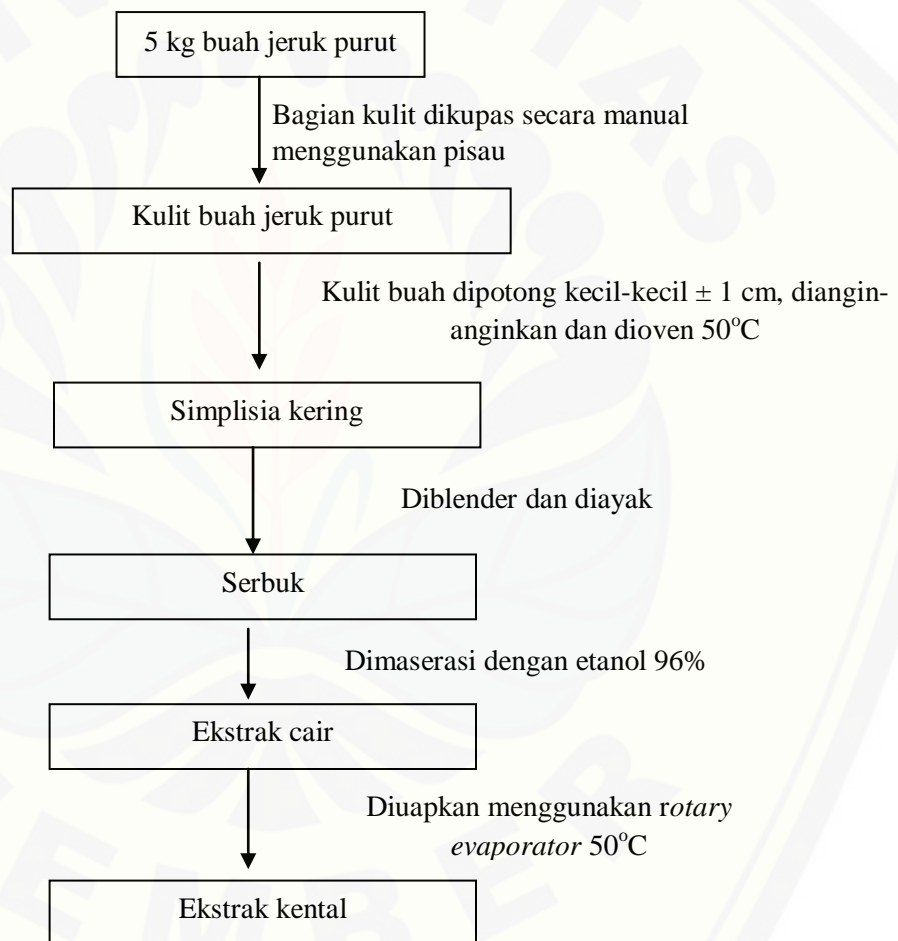
Parameter yang diamati pada uji aktivitas antiplatelet yaitu penurunan serapan platelet pada plasma. Besarnya penurunan serapan plasma menunjukkan agregasi platelet yang besar. Semakin kecil nilai agregasi platelet, maka aktivitas antiplatelet dikatakan semakin besar. Parameter yang diamati pada uji aktivitas trombolitik yaitu penurunan berat bekuan darah dibandingkan sebelum perlakuan, semakin kecil berat bekuan darah yang tersisa maka aktivitas trombolitik semakin besar.

Signifikan dari perbedaan persen inhibisi dan presentase lisis bekuan darah ekstrak etanol kulit buah jeruk purut jika normal dan homogen dapat diuji dengan analisis uji ANOVA satu arah dengan tingkat kepercayaan 95% ($p < 0,05$) kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) untuk mengetahui kelompok

mana saja yang berbeda secara signifikan, namun jika data yang dianalisis tidak normal dan tidak homogen dilakukan uji Kruskal-Wallis dan untuk mengetahui data yang berbeda signifikan dilakukan uji Mann-Whitney. Data yang dianalisis adalah nilai inhibisi platelet dan nilai lisis bekuan darah

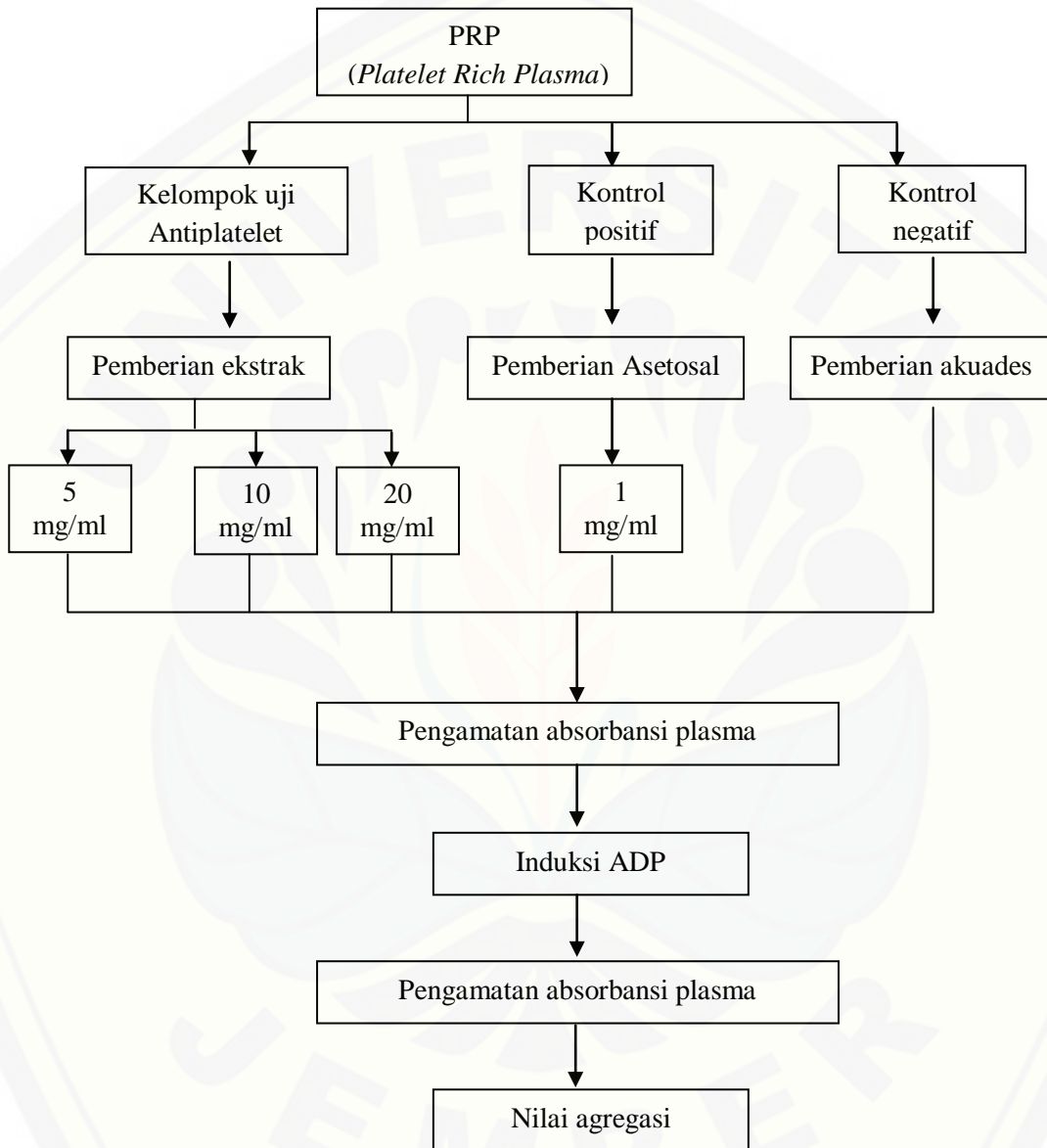
3.9 Alur Penelitian

3.9.1 Pembuatan Ekstrak Jeruk Purut



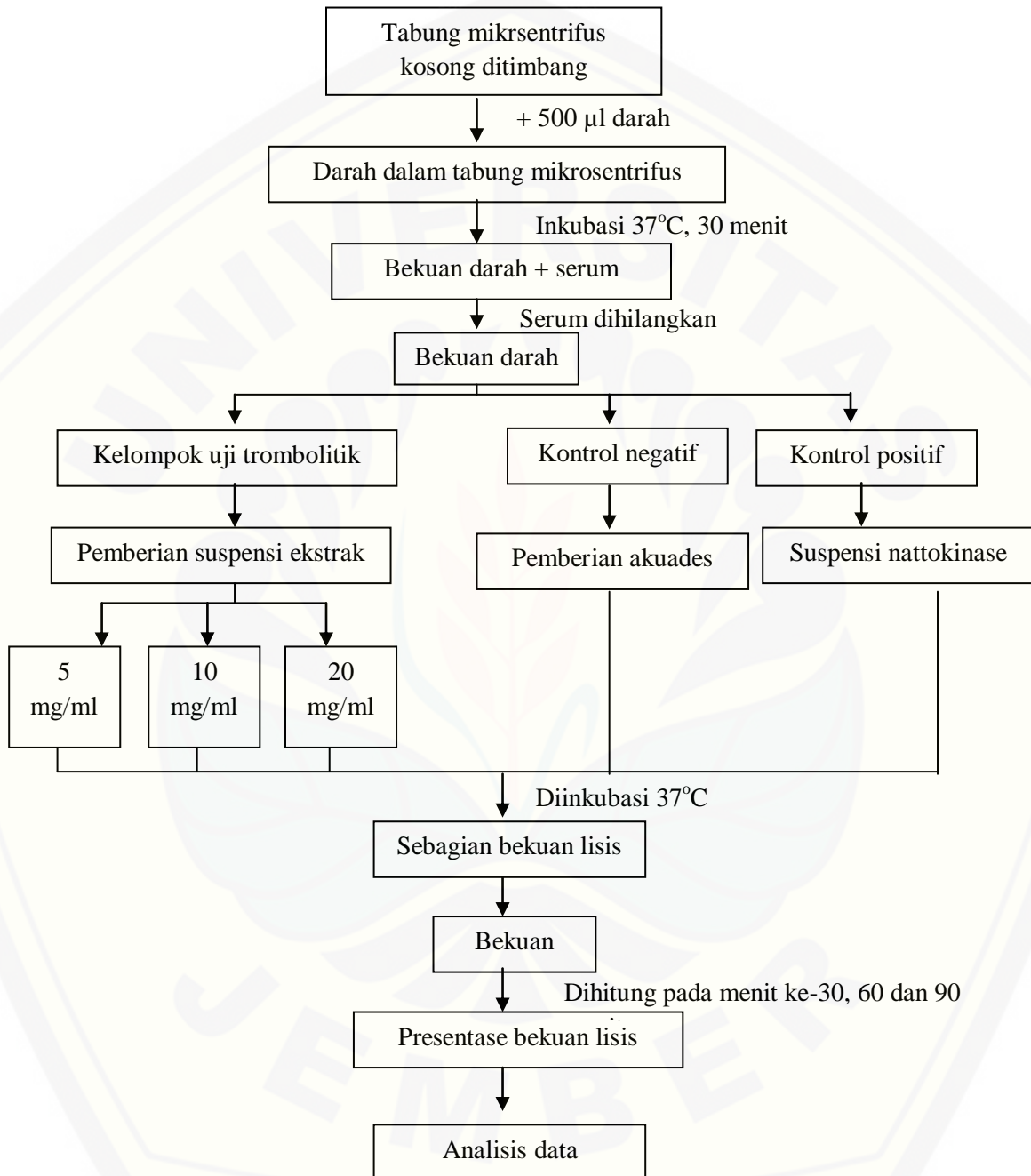
Gambar 3.3 Alur pembuatan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut

3.9.2 Pengujian Aktivitas Antiplatelet



Gambar 3.4 Alur penentuan pengujian aktivitas antiplatelet

3.9.3 Pengujian Aktivitas Trombolitik



Gambar 3.5 Alur penentuan pengujian aktivitas trombolitik

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Estraksi Kulit Buah Jeruk Purut

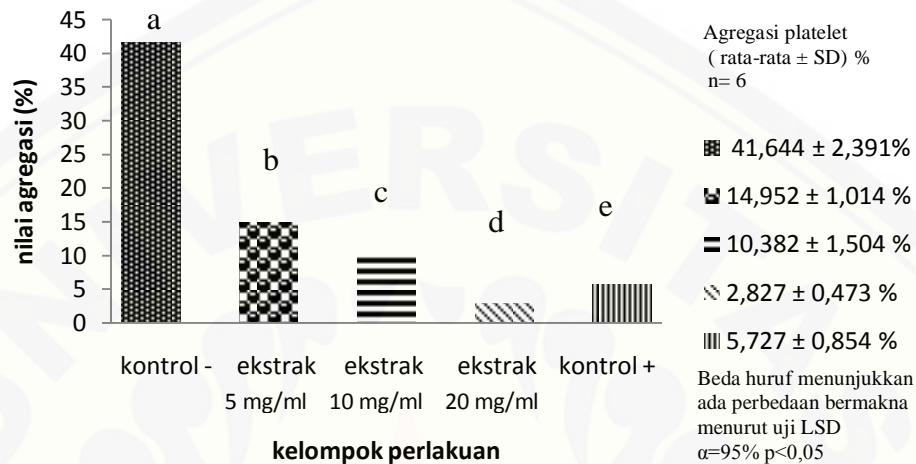
Ekstraksi kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix D.C*) dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pada proses maserasi simplisia direndam dalam etanol 96% selama 5 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari hingga senyawa yang terkandung diperkirakan terekstrak sempurna. Ekstrak cair yang dihasilkan ditampung dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* 40°C 180 rpm. Ekstrak kental 27,252 gram diperoleh dari 165 gram serbuk kering yang dimaserasi dengan etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5 b/v. Rendemen yang dihasilkan sebanyak 15,910% terhadap serbuk simplisia

4.1.2 Uji Aktivitas Antiplatelet

Uji aktivitas antiplatelet *in vitro* menggunakan sampel PRP yang diperoleh dari darah manusia sehat. Penggunaan darah manusia bertujuan untuk mengurangi terjadinya keragaman biologis sehingga mengurangi variabel yang mempengaruhi hasil percobaan. Aktivitas agregasi platelet dalam PRP dapat terlihat dari perubahan nilai absorbansi platelet pada panjang gelombang 600 nm. Nilai absorbansi awal pada PRP menunjukkan kekeruhan plasma yang mengandung platelet yang belum teragregasi. Setelah pemberian ADP, nilai absorbansi plasma akan menurun karena platelet-platelet dalam plasma mulai membentuk agregat kemudian mengendap sehingga kekeruhan plasma menurun. Pada obat yang memiliki aktivitas sebagai antiplatelet akan menghambat penurunan nilai absorbansi pada plasma (Yuliet dan Ilham, 2014).

Hasil pengujian aktivitas antiplatelet ekstrak etanol kulit buah jeruk purut menunjukkan adanya penurunan serapan plasma setelah ditambah ADP (Lampiran

A). Nilai rata-rata agregasi platelet yang dihasilkan pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Nilai agregasi platelet pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif serta hasil analisis uji LSD

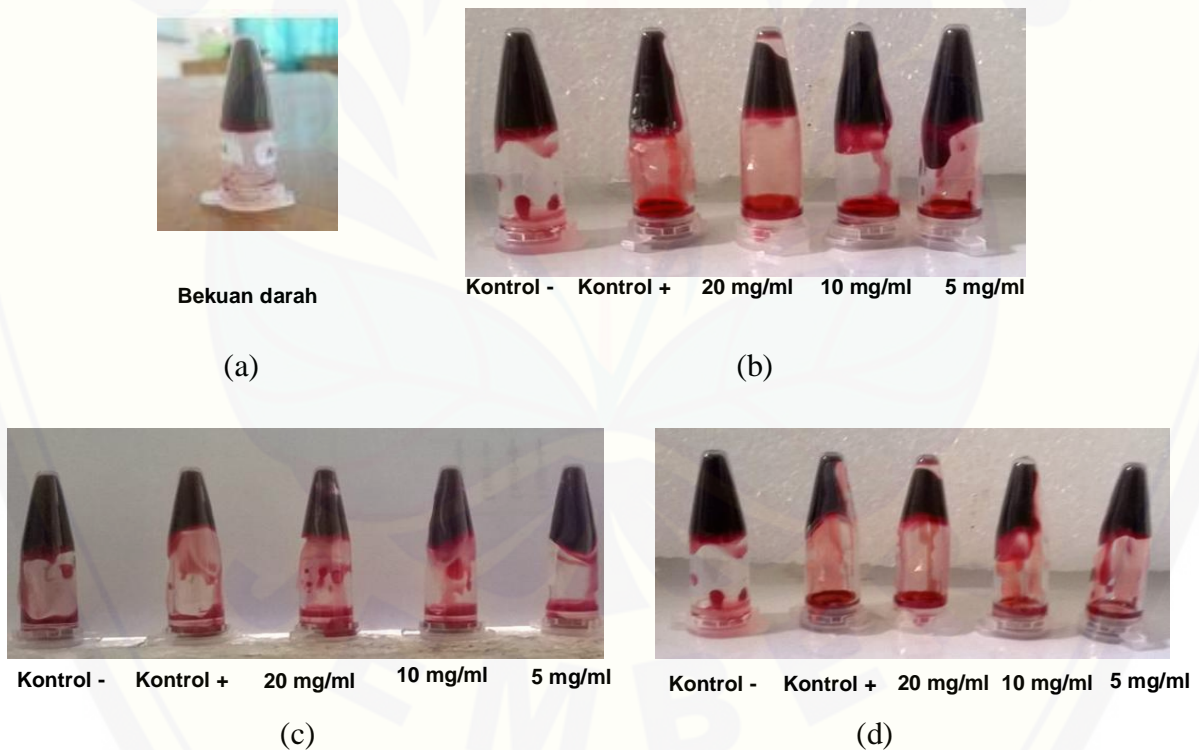
Berdasarkan Gambar 4.1 dapat diketahui terjadi penurunan nilai agregasi platelet pada kelompok perlakuan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada pemberian ekstrak 0,5 mg sudah terlihat adanya inhibisi agregasi yang lebih besar (nilai agregasi $14,952 \pm 1,014\%$) jika dibandingkan dengan kontrol negatif (nilai agregasi $41,644 \pm 2,391\%$). Aktivitas inhibisi agregasi terbesar terdapat pada pemberian ekstrak 20 mg/ml yaitu sebesar 97,173% dengan nilai agregasi yang hanya sebesar $2,827 \pm 0,473\%$, nilai tersebut terlihat lebih besar dari nilai inhibisi kontrol positifnya yaitu asetosal 1 mg/ml dengan nilai agregasi $5,727 \pm 0,854\%$ dan nilai inhibisi sebesar 94,273%

Hasil uji Anova satu arah menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p<0,05$). Uji statistik lanjutan yang dilakukan yaitu uji LSD (*Least Significantly Difference*), dari hasil tersebut terlihat perbedaan signifikan ($p<0,05$) nilai inhibisi agregasi platelet pada setiap kelompok perlakuan yaitu kontrol positif, ekstrak 5, 10 dan 20 mg/ml jika dibandingkan dengan kontrol negatif (Lampiran D.1). Presentase agregasi tertinggi

terjadi pada PRP dengan penambahan ekstrak 5 mg/ml yaitu sebesar $14,952 \pm 1,014$ dan presentase agregasi terendah terjadi pada PRP dengan penambahan ekstrak 20 mg/ml yaitu sebesar $2,827 \pm 0,473$. Inhibisi agregasi tersebut terlihat meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

4.1.3 Uji Aktivitas trombolitik

Uji aktivitas trombolitik dilakukan dengan *blood clot assay* menggunakan bekuan darah. Aktivitas trombolitik ditentukan dengan cara menghitung nilai bekuan lisis. Nilai bekuan lisis dihitung setiap 30 menit, yaitu pada menit ke 30, 60 dan 90 berdasarkan berat bekuan sebelum dan setelah perlakuan (Gambar 4.2) dan hasil uji aktivitas trombolitik pada tiap kelompok waktu dapat dilihat pada Tabel 4.1.



Gambar 4.2 Hasil lisis bekuan pada uji aktivitas trombolitik sebelum (a) dan sesudah perlakuan setelah menit ke 30 (b), 60 (c), 90 (d)

Tabel 4.1 Hasil uji aktivitas trombolitik pada tiap kelompok waktu

Kelompok perlakuan	Nilai lisis bekuan 30 menit (%) [*]	Nilai lisis bekuan 60 menit (%) ^{**}	Nilai lisis bekuan 90 menit (%) ^{**}
Kontrol negatif	0,484 ± 0,153 ^a	2,617 ± 0,388 ^a	7,836 ± 1,244 ^a
Ekstrak 5 mg/ml	19,081 ± 3,755 ^b	39,361 ± 1,327 ^b	43,971 ± 1,743 ^b
Ekstrak 10 mg/ml	32,870 ± 2,316 ^c	42,634 ± 1,687 ^c	51,375 ± 2,631 ^c
Ekstrak 20 mg/ml	40,999 ± 1,378 ^d	50,977 ± 3,095 ^d	61,967 ± 1,911 ^d
Kontrol positif	44,971 ± 1,941 ^e	54,924 ± 4,859 ^e	64,080 ± 4,074 ^e

data disajikan sebagai rerata ± SD (n=6), huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan signifikan $\alpha=95\%$ ($p<0,05$) menurut uji Mann-Whitney () dan LSD(**). Analisis statistik dilakukan pada setiap waktu inkubasi

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui ekstrak etanol kulit buah jeruk purut memiliki kemampuan untuk melisiskan bekuan darah yang ditunjukkan dengan presentase rata-rata bekuan darah pada masing-masing kelompok perlakuan, dimana terdapat perbedaan dengan nilai signifikan 0,000 ($p<0,05$) semua kelompok perlakuan yaitu kontrol positif (sediaan nattokinase), ekstrak 5 mg/ml, ekstrak 10 mg/ml dan 20 mg/ml jika dibandingkan dengan kontrol negatif (Lampiran B). Kemampuan lisis bekuan darah oleh ekstrak sudah terlihat pada menit ke-30 dan semakin meningkat dengan meningkatnya waktu inkubasi serta konsentrasi ekstrak yang diberikan. Pada pemberian ekstrak 5 mg/ml dengan waktu inkubasi 30 menit ekstrak etanol kulit buah jeruk purut sudah memberikan aktivitas melisiskan bekuan darah sebesar 19,081%, nilai lisis tersebut meningkat secara signifikan dengan peningkatan pemberian ekstrak jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan terlihat semakin meningkat dengan meningkatnya waktu inkubasi

Presentase lisis terbesar terlihat pada ekstrak dengan pemberian 20 mg/ml, dimana pada menit ke-30 sebesar $40,999 \pm 1,378\%$, pada menit ke-60 $50,977 \pm 3,095\%$ dan pada menit ke-90 sebesar $61,967 \pm 1,911\%$, nilai lisis pada masing-masing waktu inkubasi terlihat hampir mendekati nilai lisis pada kontrol positif (sediaan nattokinase 1 mg/ml) (Tabel 4.1). Pada setiap waktu inkubasi tiap-tiap

kelompok uji terlihat memiliki hasil yang berbeda signifikan dengan kelompok uji lainnya

Pada analisis data nilai lisis bekuan pada masing-masing waktu inkubasi, pada waktu 60 dan 90 menit normalitas dan homogenitas telah terpenuhi ($p > 0,05$) sehingga dapat dilakukan uji Anova satu arah dengan tingkat kepercayaan 95%. Uji anova satu arah menunjukkan hasil signifikansi 0,000 untuk kelompok waktu 60 dan 90 menit ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan nilai lisis bekuan paling tidak antara dua kelompok, selanjutnya untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan pengujian LSD, dari hasil uji tersebut terlihat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) nilai lisis bekuan pada menit ke 60 dan 90 setiap kelompok perlakuan yaitu kontrol positif, ekstrak 5, 10 dan 20 mg/ml jika dibandingkan dengan kontrol negatif (Lampiran D.2 dan D.3).

Pada kelompok waktu 30 menit menunjukkan hasil yang normal tetapi tidak homogen sehingga uji dilakukan dengan Kruskal-Wallis. Uji Kruskal Wallis menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai $p = 0,001$. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan pengujian Post Hoc dengan Mann-Whitney, dari hasil uji Mann-Whitney menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,002 ($p < 0,05$), sehingga diketahui terdapat perbedaan nilai lisis bekuan antar kelompok pada menit ke 30 di setiap kelompok perlakuan yaitu kontrol positif, ekstrak 5, 10 dan 20 mg/ml jika dibandingkan dengan kontrol negatif (Lampiran D.2.1).

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan pengujian *in vitro* aktivitas antiplatelet dan trombolitik ekstrak etanol kulit buah jeruk purut. Ekstrak etanol kulit buah jeruk purut diperoleh dengan metode maserasi. Parameter yang diamati pada kedua pengujian tersebut ada dua yaitu nilai agregasi platelet, dan nilai lisis bekuan darah. Nilai agregasi platelet diamati untuk melihat pengaruh ekstrak etanol daun kulit buah jeruk purut terhadap proses terjadinya agregasi platelet dan nilai lisis bekuan darah

diamati untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kulit buah jeruk purut terhadap proses disolusi sumbat hemostatik (trombus).

Kontrol negatif yang digunakan pada kedua pengujian adalah akuades dengan 1% Tween 80, digunakan campuran Tween karena pelarut yang digunakan pada suspensi ekstrak dan kontrol positif juga menggunakan 1% tween 80. Pada pengujian ini digunakan Tween 80 karena ekstrak kulit buah jeruk purut mengandung minyak atsiri, sehingga suspending agent yang cocok adalah Tween (Rowe *et al.*, 2006).

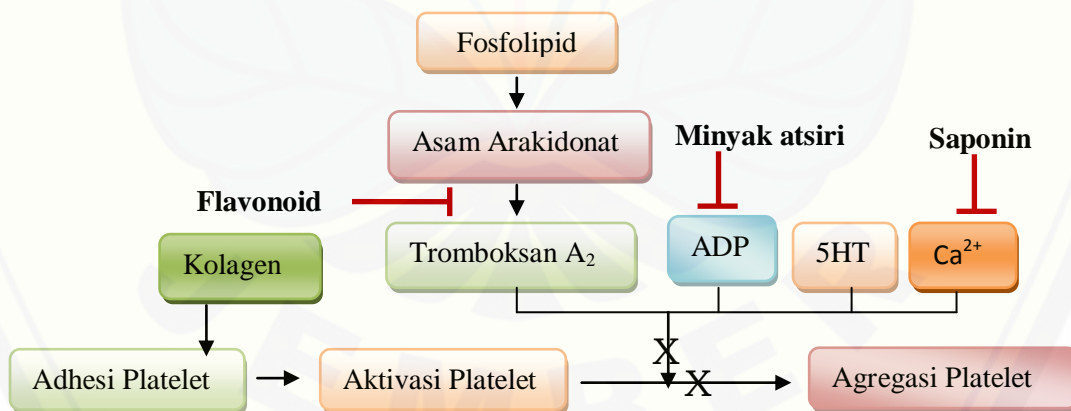
Agregasi merupakan kemampuan platelet untuk saling melekat antara satu sama lain dalam membentuk sumbat (Sulistiyowati, 2009). Pengamatan aktivitas platelet sebelum dan setelah pemberian larutan ADP dilakukan dengan melihat perbedaan nilai absorbansinya. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelial pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet melalui pengikatan pada protein reseptor yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granula yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain (Yulinah *et al.*, 2008)

Kontrol positif yang digunakan adalah asetosal 1 mg/ml. Pemilihan asetosal didasarkan pada mekanisme kerjanya yang hampir mirip dengan flavonoid sebagai kandungan utama ekstrak kulit buah jeruk purut, dalam menghambat agregasi platelet, yaitu dengan menghambat sintesis tromboksan A₂ (TXA₂) di dalam trombosit dan prostasiklin (PGI₂) di pembuluh darah dengan menghambat enzim siklooksigenase secara irreversibel, (Gunawan, 2007 ; Middleton *et al.*, 2000).

Hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi pada penambahan ekstrak 20 mg/ml dengan nilai agregasi hanya mencapai $2,827 \pm 0,473\%$ dan nilai inhibisinya mencapai $97,173\%$ dan aktivitas terendah pada penambahan ekstrak ekstrak 5 mg/ml yaitu memiliki nilai agregasi sebesar $14,952 \pm 1,014\%$ dengan nilai inhibisi $85,048\%$, aktivitas tersebut cukup signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif yang memiliki nilai agregasi $41,664 \pm 2,391\%$ dan nilai inhibisinya hanya $58,336$. Inhibisi agregasi platelet semakin meningkat

dengan meningkatnya konsentrasi pada ekstrak 5, 10 dan 20 mg/ml yang digunakan, Nilai inhibisi pada penambahan ekstrak 20 mg/ml terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/ml), yang memiliki nilai agregasi sebesar $5,727 \pm 0,854\%$ dengan nilai inhibisi mencapai 94,273%.

Inhibisi agregasi platelet oleh pengujian *in vitro* ini menunjukkan adanya aktivitas antiplatelet pada ekstrak etanol kulit buah jeruk purut, aktivitas tersebut diduga berasal dari senyawa flavonoid, minyak atsiri dan saponin. Senyawa flavonoid dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat sintesis asam arakidonat yang menyebabkan sintesis tromboksan A₂ terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat (Middleton *et al.*, 2000). Kandungan minyak atsiri pada genus *citrus* terbukti memiliki aktivitas antiplatelet, aktivitas antiplatelet karena minyak atsiri dapat menghambat induksi ADP pada proses agregasi platelet (Mencherini *et al.*, 2012). Aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005), dimana pada peristiwa agregasi platelet ion kalsium berperan sebagai promotor vasokonstriksi pada pembuluh darah (Grice *et al.*, 2010), sehingga dengan adanya peran dari tiga senyawa tersebut kemungkinan agregasi platelet dapat dihambat (Gambar 4.3).



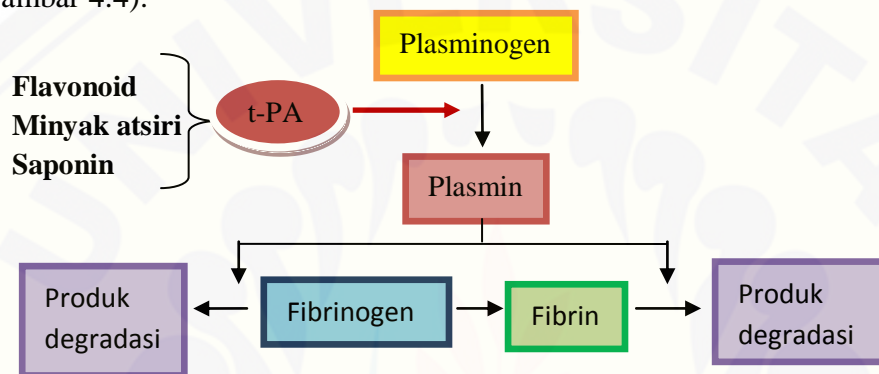
Gambar 4.3. Mekanisme hambatan agregasi platelet oleh flavonoid minyak atsiri dan saponin (Lafuente *et al.*, 2009; Mencherini, 2012; Lee *et al.*, 2015)

Pengujian aktivitas trombolitik *in vitro* dilakukan menggunakan *blood clot assay*. Kontrol positif yang digunakan adalah enzim nattokinase. Pemilihan nattokinase sebagai kontrol positif karena nattokinase memiliki kesamaan mekanisme dengan beberapa kandungan dalam ekstrak kulit buah jeruk purut yaitu flavonoid, minyak atsiri dan saponin yaitu dapat mendegradasi fibrin dan fibrinogen (Milner dan malkise, 2002), selain itu digunakan nattokinase karena agen trombolitik ini tergolong lebih murah jika dibandingkan agen trombolitik lain seperti streptokinase, urokinase dan t-PA (Gunawan, 2007).

Nilai lisis bekuan darah (Lampiran B) menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk purut memiliki kemampuan untuk melisiskan bekuan darah. Pengukuran lisis bekuan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut secara umum berbanding lurus dengan jumlah ekstrak dan waktu inkubasi. Pada pemberian ekstrak dengan pemberian terendah yaitu 5 mg/ml dengan waktu inkubasi 30 menit, ekstrak etanol kulit buah jeruk purut sudah memberikan aktivitas melisiskan darah sebesar $19,0810 \pm 3,755\%$ nilai tersebut berbeda signifikan dengan kontrol negatif yaitu hanya $0,4842 \pm 0,153\%$ pada inkubasi 30 menit, dan pada waktu inkubasi yang sama pemberian ekstrak 10 mg/ml menunjukkan efek lisis yang lebih besar dari 5 mg/ml, dan efek lisis tertinggi terdapat pada pemberian ekstrak 20 mg/ml (Lampiran B.1). Nilai lisis ekstrak yang diperoleh semakin meningkat dengan meningkatnya waktu inkubasi dan konsentrasi ekstrak yang ditambahkan, dimana aktivitas lisis bekuan darah pada masing-masing kelompok mulai terjadi setelah inkubasi 30 menit dan aktivitas tersebut masih berlanjut hingga pengamatan selama 90 menit (Lampiran B.1–B.3), peningkatan aktivitas lisis bekuan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak mungkin dikarenakan semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin banyak pula jumlah metabolit sekunder yang terkandung di dalam suspensi ekstrak etanol kulit buah jeruk purut yang berperan sebagai agen antiplatelet.

Aktivitas trombolitik ekstrak etanol kulit buah jeruk purut ini diduga karena kandungan flavonoid, minyak atsiri dan saponin. Dalam suatu penelitian telah dilakukan menunjukkan bahwa flavonoid dapat meningkatkan *tissue plasminogen*

activator (t-PA), menurunkan kandungan *plasminogen activator inhibitor-1* (Miao *et al.*, 2013). Plasmin merupakan salah satu agen antitrombotik alami, dimana plasminogen yang terikat permukaan sel dengan mudah diaktifkan untuk plasmin yang akhirnya mengarah ke fibrinolisis/trombolitik (Bhowmick *et al.*, 2014). Aktivitas trombotik dari dua senyawa lainnya yaitu minyak atsiri (Akhila, 2010) dan saponin (Bhowmick *et al.*, 2014) yaitu sebagai t-PA pada sel vaskular trombosit (Gambar 4.4).



Gambar 4.4. Mekanisme ekstrak sebagai trombolitik (Miao *et al.*, 2013; Bhowmick *et al.*, 2014; Akhila, 2010)

Berdasarkan hasil pengujian pada tiga konsentrasi uji yang sama, ekstrak etanol kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas antitrombosis yang meliputi antiplatelet dan trombolitik. Pada penelitian ini ekstrak yang digunakan adalah ekstrak total (*crude extract*), dalam ekstrak total senyawa yang memiliki aktivitas antitrombosis belum diketahui secara pasti sehingga perlu dilakukan fraksinasi dan dilakukan uji pada masing-masing fraksi untuk mengetahui fraksi mana yang paling bertanggung jawab terhadap aktivitas ekstrak sebagai antitrombosis.

Aktivitas antitrombosis yang dimiliki ekstrak etanol kulit buah jeruk purut diduga berasal dari beberapa senyawa dalam ekstrak etanol kulit buah jeruk purut. Menurut Afifah (2013) beberapa kandungan terbesar pada bagian kulit buah jeruk purut antara lain flavonoid dan saponin. Penelitian yang dilakukan Afifah (2013) menggunakan etanol 80%, sehingga masih perlu dilakukan skrining fitokimia ekstrak

kulit buah jeruk purut pada etanol 96% untuk mengetahui perbedaan kandungan ekstrak. Seluruh pengujian yang dilakukan menggunakan metode *in vitro*. Untuk mengetahui pengaruh metabolisme terhadap aktivitas antitrombosis yang dimiliki ekstrak etanol kulit buah jeruk purut, perlu adanya pengujian lebih lanjut dengan metode *in vivo* antiplatelet dan trombolitik terhadap ekstrak kulit buah jeruk purut.



BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Ekstrak kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas sebagai antiplatelet, inhibisi agregasi platelet semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak
2. Ekstrak kulit buah jeruk purut memiliki aktivitas trombolitik, pada pengujian aktivitas trombolitik terlihat bahwa nilai lisis ekstrak yang diperoleh semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak dan waktu inkubasi.
3. Aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi pada penambahan ekstrak 20 mg/ml dan terendah pada penambahan ekstrak 5 mg/ml. Pada pengujian trombolitik aktivitas tertinggi juga terjadi pada penambahan ekstrak 20 mg/ml dan terendah pada penambahan ekstrak 5 mg/ml

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

- a. Skrining fitokimia kandungan ekstrak etanol 96% kulit buah jeruk purut;
- b. Kandungan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut dengan cara fraksinasi kromatografi kolom dan dilakukan uji aktivitas pada setiap fraksi yang diperoleh;
- c. Uji aktivitas antiplatelet dan trombolitik *in vivo*;

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, N. 2013. Phytochemical Content in Seeds and Peels of Kaffir Lime (*C. hystrix*) , Calamondin (*C. microcarpa*) and Key Lime (*C. aurantifolia*) Extracts. Tidak diterbitkan. Selangor: Food Science and Technology in the Faculty of Applied Sciences Universiti Teknologi MARA
- Akhila, A. Editor. 2010. *Essential Oil-Bearing Grasses*. New York : CRC Press.
- Ali, M., Akhter, R., Narjish, S. N., Shahriar, M dan Bhuiyan, M. A. 2015. Studies of Preliminary Phytochemical Screening, Membrane Stabilizing Activity, Thrombolytic Activity and *In-Vitro* Antioxidant Activity of Leaf Extract Of *Citrus hystrix*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6 (6): 2367-2374.
- Angiolillo, D., Fernandez-Ortiz, A., Bernardo, E., Alfonso, F., Macaya, C., Bass, T dan Costa, M. 2007. Variability in Individual Responsiveness to Clopidogrel: Clinical Implications, Management, and Future Perspectives. *Journal of the American College of Cardiology*. 49 (14): 1505–1516.
- Arifuzzaman., Manan, A., Imtha, A., Abedin, J., Anwar, S., Hosein, Z dan Barua, S. 2011. Evaluation of Thrombolytic Properties of *Nigella sativa*, *Capsicum frutescens* and *Brasicca oleracea*. *International Journal Of Pharmaceutical Science*. 2 (3): 483-487.
- Bhowmick, R., Sarwa, S., Rahman, M. S., Das, A., Das, B., Uddin, M. N., Islam, S dan Islam, M. S. 2014. *In Vivo* Analgesic, Antipyretic, And Anti-Inflammatory Potential In Swiss Albino Mice and *In Vitro* Thrombolytic Activity of Hydroalcoholic Extract from *Litsea glutinosa* leaves. *Biological Research*. 76
- Bakta, I.M. 2007. *Hematologi Klinis Ringkasan*. Jakarta: EGC.
- Brunton, L. L. 2006. *The Pharmacological Basis Therapeutics*. 11th Edition. New York: Mc Graw Hill.
- Canon, B. E. 2005. *Unstable Angina and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction, Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York:McGraw-Hill.

- Cook, N. C dan Samman, S. 1996. Review Flavonoids-Chemistry, Metabolism, Cardioprotective Effect, and Dietary Sources. *Journal Nutrition Unit Biochem.* 7 (2): 66-667.
- Chueahongtong, F., Chadarat, A., Siriporn, O., Singkome T dan Songyot A. 2011. Cytotoxic Effect of Crude Kaffir Lime (*Citrus hystrix* D.C.) Leaf Fractional Extracts on Leukemic Cell Lines. *Journal of Medicinal Plant Research.* 5 (14): 3097-3105.
- Dalimartha, S. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor: TrubusAgriwidya.
- Departemen Kesehatan. 2006. *Pharmaceutical Care untuk Pasien Penyakit Jantung Koroner: Fokus Sindrom Koroner Akut*. Jakarta : Direktorat Bina Farmasi Komunitas Dan Klinik Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan.
- Deschner, E. E., Ruperto, J., Wong, G., & Newmark, H. L. 1991. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia. *Carcinogenesis.* 12: 1193–1196.
- Despopoulos, M., dan Silbernagl., Stefan, M. D. 2003. *Color Atlas of Physiology* 5th ed. New York: Thieme.
- Gunawan, S. G, editor. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gorinstein, S., Caspi, A., Libman, I., Lerner, H. T., Dejian H., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Tashma, Z., Katrich, E., Shengbao, F dan Trakhtenberg, S. 2006. Level in Patients Suffering from Coronary Atherosclerosis: Studies *in Vitro* and in Humans. *Journal Agricultural Food Chemistry.* 54 (5): 1887-1892.
- Guyton dan Hall. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan. Irawati Setiawan; Et Al. Form Text Book of Medical Physiologi 9th ed. 1996. Jakarta: EGC. Red Grapefruit Positively Influences Serum Triglyceride
- Gross, PL and Weitz, JI. 2009. New Antithrombotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics.* 86 (2).
- Grice, D., Rogers, K. L dan Griffith, L.R. 2010. Isolation of Bioactive Compounds that Relate to The Anti-Platelet Activity of *Cymbopogon ambiguus*. *eCAM Advance Access.* 10: 1-8

- Irawaty, W., Soetaredjo, F. E., Ayucitra, A., Sianto, M. E., Jonathan, K., Cynthia D., Setyabudi, C dan Stefani, T. 2014. Antioxidant and Antidiabetic Activities of Ethanolic *Citrus hystrix* Peel Extract: Optimization of Extraction Conditions. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 8 (14): 85-89.
- ITIS. 2015. Taxonomi and Nomenclature *Citrus hystrix* D.C. http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=506370&print_version=PRT&source=to_print. [16 Juli 2015].
- Jagtab, A.G., Sancheti, J.S dan Phadke., A.S. 2012. Antiplatelet and Antithrombotic Activity of Etanol Extract of *Embelia ribes*. *International Journal of Research in Phytochemistry and Pharmacology*. 2 (3): 150-156
- Jantan, L., Jumuddin, F.A., Saputri, F. C dan Rahman, K. 2011. Inhibition Effects of the Extract of *Garcinia* Species on Human Low-density Lipoprotein Peroxidation and Platelet Agregation in Reletion to Their Total Phenolic Contents. *Medical Plants*. 5 (13): 26699-2709.
- Janssen, K., Mensink, R. P., Cox, F., Harryvan, J. L., Hovenier, R., Hollman, P dan Katan, M. B. 1998. Effects of The Flavonoids Quercetin and Apigenin on Hemostasis in Healthy Volunteers: Results From an *in Vitro* and A Dietary Supplement Study. *American Journal of Clinical Nutrition*. 6 (7): 255–262.
- Katzung, B. G., dan Trevor, A J. 2015. *Basic and clinical Pharmacology 13th Edition*. United states: McGraw-Hill Education.
- Lawrence, B. M., Hogg, J. W., Tehune, S. T. and Podimuang, V. 1970. Constituent The Leaf and Peel Oils of *Citrus hystrix* DC. *Bangkok, ASRCT*.
- Lafuente, A.G., Guillamo, E., Villarens, A., Rostagno, M.A., dan Martinez, JA. 2009. Flavonoid as Anti-inflammatory Agents Implications in Cancer and Cardiovascular Disease. *Inflammation Research*. 58 (2): 537-552.
- Lee, J.H., Jeong, S.M dan Lee, B.H. 2005. Effect of Calmodulin on Ginseng Saponin-Induced Ca²⁺-Activated Cl Channel Activation in *Xenopus Laevis* Oocytes. *Archieve Pharmacy Research*. 28: 413–20.
- Lu, Cl., Sherwin, C dan Shiu N. C. 2010. Purification and Characterization of Novel Fibrinolytic Protease from *Schizophyllum commune*. *Journal of Food and Drug Administration*. 18 (2): 69-76.

- Mahmood, A., Islam, S., Parvin, S., Uddin, M.N dan Shahriar M. 2013. Phytochemical Screenings and Anti-Thrombolytic Activity of *Citrus Assamenses*. *International Science Press, (India)*. 5 (2): 98-100
- Markham, K R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB
- Mencherini, T., Campone, L., Piccinelli, A.L., Mesa, M. G., Armenteros, D. M., Aquino, P dan Rastrelli, L. 2012. HPLC-PDA-MS and NMR Characterization of a Hydroalcoholic Extract 2 of *Citrus aurantium* L. var. Amara Peel with Antiedematogenic 3 Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Menegristek. 2010. *Minyak Kulit Jeruk*. Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi: http://opensource.telkomspeedy.com/repo/abba/v12/artikel/pangan/DIPPTI/minyak_kulit_jeruk diakses tanggal 25 februari 2015
- Middleton, E., Kandaswami, C 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*. 5 (2): 673-751.
- Milner, M. dan Makise, K. 2002. Natto and Its Active Ingredient Nattokinase A Potent and Safe Thrombolytic Agent. *Alternative and Complementary Therapies*.
- 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 *Malbrancea filamentosa* IFM 41300: Inhibitory Behaviors of Adenosine in Different Solvent. *Journal of Health Science*. 55 (1): 103-108.
- Mufidah, M. A., Manggau, G. A., Bahar, M. A., Kasim, S dan Rusdi, S. 2012. Efek Antiagregasi Platelet Fraksi Klika Ongkea (*Mezzetia parviflora* Becc.). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. 16 (1): 51-54.
- Narasimhan, R., Osawa, T., Namiki, M dan Shunro, K. 1988. Chemical Studies on Novel Rice Hull Antioxidants. Isolation, Fractination, and Partial Characterization. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 37: 732-737.
- Oliver. 2008. *Atherosclerosis*. Chicago: Encyclopedia Brithania.
- Prastyono, D. S. 2012. *A-Z Daftar Tanaman Obat Ampuh di Sekitar Kita*. Jogjakarta : FlashBooks.

- Price, A. S., dan Wilson M. L. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih Bahasa: dr. Brahm U. Penerbit. Jakarta: EGC.
- Puri, A. 2007. Aspirin Resistance: Current Status. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*. 8(1): 72-77
- Putri, H., Nagadi, S., Larasati, Y. A., Wulandari, N., dan Hermawan, A. 2013. Cardioprotective and Hepatoprotective Effects of *Citrus hystrix* Peels Extract on Rats Model. *Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine*. 3 (5): 371-375
- Rahajuningsih, D. S. 2009. *Patofisiologi Trombosis*. Edisi 4. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Riaz, A., Khan, R A., Mirza, T., Mustansir, T dan Ahmed, M. 2014. In vitro/In vivo Effect of *Citrus Limon* on Blood Parameter Coagulation Factor in Rabbit. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Science*. 27 (4): 907-915
- Rowe, R.C., Sheskey, P.J dan Owen, S.C. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipient*. London: Pharmaceutical Press
- Sulistiyowati, R. 2009. Perbedaan pengaruh pemberian ketorolak dan deksketoprofen sebagai analgesia pasca bedah terhadap agregasi trombosit. Tesis. Semarang : ilmu anestesi universitas diponegoro
- Setiabudy, R. D, editor. 2009. *Hemostasis dan Trombosis*. Edisi 4. Jakarta : Balai Penerbit FKUI.
- Shehadeh, M., Afifi, F dan Abu-Hamdah, S. 2007. Platelet Aggregation Inhibitors from Aerial Parts of *Ruta Chalepensis* Grown in Jordan. *Integrative Medicine Insights*. 2: 35-39
- Tim Survei Kesehatan Nasional. 2002. *Laporan Studi Mortalitas 2001: Pola Penyakit Penyebab Kematian di Indonesia*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
- Tjitrosoepomo, H.S. 1998. *Botani Umum*. Yogyakarta: UGM Press.
- Vogel, H.G. 2002. *Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assay*. 2nd Edition. Berlin: Springer

- World Health Organization. 2015. Cardiovascular diseases (CVDs). http://www.who.int/nmh/publications/fact_sheet_cardiovascular.en. Diakses tanggal 13 Maret 2015.
- Wiryanta, W dan Bernard, T. 2005. *Sukses Jeruk Dalam Pot*. Jakarta: Agromedia
- Wungsintaweekul, J., Worapan, S., Waraporn, P., Hartwig, P., dan Adelheid, B. 2010. Antimicrobial, Antioxidant Activities and Chemical Composition of Selected Thai Spices. *Songklanakarinn Journal Science Technology*. 32 (6): 589-598.
- Yu, H.Y., Park, W. S., Chung, M., Jung, Y. 2011. Anti-platelet Effects of Yuzu Extract and Its Component. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 3018–3024
- 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*. 7 (2): 1-18
- Yuliet, Y dan Ilham R. 2014. Aktivitas Anti Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA) XVI*

LAMPIRAN

Lampiran A. Data Hasil Uji Aktivitas Antiplatelet

A.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 1% Tween 80)

Replikasi	Absorbansi		% Agregasi
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,436	0,239	45,183 %
2	0,224	0,128	42,857%
3	0,430	0,248	42,325%
4	0,263	0,162	38,403%
5	0,342	0,206	39,766%
6	0,346	0,203	41,330%
Rata-rata \pm SD			41,644% \pm 2,391

A.2 Kontrol positif (Asetosal 1 mg/ml)

Replikasi	Absorbansi		% Agregasi
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,330	0,312	5,454 %
2	0,260	0,242	6,923%
3	0,367	0,348	5,117%
4	0,264	0,252	4,545%
5	0,228	0,243	6,173%
6	0,240	0,257	6,148%
Rata-rata \pm SD			5,727% \pm 0,854

A.3 Konsentrasi 5 mg/ml

Replikasi	Absorbansi		% Agregasi
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,234	0,200	14,529%
2	0,279	0,234	16,129%
3	0,201	0,168	16,147%
4	0,278	0,238	14,388%
5	0,272	0,235	13,600%
6	0,382	0,325	14,920%
Rata-rata \pm SD			14,952% \pm 1,014

A.4 Konsentrasi 10 mg/ml

Replikasi	Absorbansi		% Agregasi
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,308	0,281	8,766%
2	0,296	0,265	10,473%
3	0,176	0,157	10,795%
4	0,386	0,308	11,910%
5	0,354	0,326	8,427%
6	0,193	0,170	11,917%
Rata-rata \pm SD			10,382% \pm 1,504

A.5 Konsentrasi 20 mg/ml

Replikasi	Absorbansi		% Agregasi
	Sebelum penambahan ADP	Setelah penambahan ADP	
1	0,246	0,240	2,439%
2	0,283	0,274	3,180%
3	0,325	0,314	3,385%
4	0,324	0,317	2,160%
5	0,226	0,219	3,097%
6	0,180	0,185	2,702%
Rata-rata \pm SD			2,827% \pm 0,473

Lampiran B. Data Hasil Uji Aktivitas Trombolitik**B.1 Inkubasi 30 menit****B.1.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 1% Tween 80)**

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5573	0,5551	0,3947%
2	0,5400	0,5371	0,5370%
3	0,5261	0,5246	0,2851%
4	0,5348	0,5320	0,5326%
5	0,5406	0,5383	0,4254%
6	0,3970	0,3941	0,7305%
Rata-rata \pm SD			0,4842% \pm 0,153

B.1.2 Kontrol positif (Nattokinase 10 mg/ml)

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5138	0,2666	48,1121%
2	0,5297	0,3017	43,0432%
3	0,5316	0,2860	46,2002%
4	0,4087	0,2693	43,9775%
5	0,5353	0,3034	43,3215%
6	0,5386	0,2953	45,1727%
Rata-rata \pm SD			44,9712% \pm 1,941

B.1.3 Ekstrak 5 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5378	0,3935	26,8135%
2	0,5390	0,4439	17,6437%
3	0,5390	0,3967	26,4962%
4	0,5315	0,3960	25,4940%
5	0,5340	0,3998	25,1311%
6	0,5322	0,4362	18,0383%
Rata-rata \pm SD			19,0810% \pm 3,755

B.1.4 Ekstrak 10 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5329	0,3602	32,4076%
2	0,5278	0,3457	34,5017%
3	0,5341	0,3495	34,5236%
4	0,5341	0,3609	32,4283%
5	0,5342	0,3639	31,8794%
6	0,5524	0,3785	31,4808%
Rata-rata ± SD			32,8702% ± 2,316

B.1.5 Ekstrak 20 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5129	0,3132	38,9354%
2	0,5297	0,3097	41,5329%
3	0,5256	0,3136	40,3348%
4	0,5317	0,3137	41,0006%
5	0,5800	0,3299	43,1206%
6	0,5597	0,3298	41,0755%
Rata-rata ± SD			40,9999% ± 1,378

B.2 Inkubasi 60 menit**B.2.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 1% Tween 80)**

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5573	0,5423	2,6915%
2	0,5400	0,5275	2,3148%
3	0,5261	0,5150	2,1100%
4	0,5348	0,5180	3,1413%
5	0,5406	0,5271	2,4975%
6	0,3970	0,3941	2,9471%
Rata-rata ± SD			2,6170% ± 0,388

B.2.2 Kontrol positif (Nattokinase 10 mg/ml)

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5138	0,2785	54,2039%
2	0,5297	0,2693	50,1790%
3	0,5316	0,2621	50,6960%
4	0,4087	0,1750	63,5947%
5	0,5353	0,2429	54,6236%
6	0,5386	0,2354	56,2941%
Rata-rata ± SD			54,9244% ± 4,859

B.2.3 Ekstrak 5 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5378	0,3200	40,4983%
2	0,5390	0,3305	38,6827%
3	0,5390	0,3393	40,5268%
4	0,5315	0,3161	40,5286%
5	0,5340	0,3288	38,4270%
6	0,5322	0,3326	37,5047%
Rata-rata ± SD			39,3613% ± 1,327

B.2.4 Ekstrak 10 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5329	0,3182	40,2890%
2	0,5278	0,2970	43,7287%
3	0,5341	0,2983	44,1490%
4	0,5340	0,2973	44,3662%
5	0,5342	0,3099	41,9880%
6	0,5524	0,2912	41,2846%
Rata-rata ± SD			42,6342% ± 1,687

B.2.5 Ekstrak 20 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5129	0,2544	50,3997%
2	0,5297	0,2693	50,1793%
3	0,5256	0,2718	48,2877%
4	0,5317	0,2789	47,5456%
5	0,5800	0,2625	54,7414%
6	0,5597	0,2535	54,7079%
Rata-rata ± SD			50,9770% ± 3,095

B.3 Inkubasi 90 menit**B.3.1 Kontrol negatif (Akuades dengan 1% Tween 80)**

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5573	0,5048	9,4204%
2	0,5400	0,4916	8,9630%
3	0,5261	0,4929	6,3106%
4	0,5348	0,4912	8,1526%
5	0,5406	0,4998	7,5472%
6	0,3970	0,3707	6,6244%
Rata-rata \pm SD			7,8363% \pm 1,244

B.3.2 Kontrol positif (Nattokinase 10 mg/ml)

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5138	0,2032	60,4515%
2	0,5297	0,1675	68,3780%
3	0,5316	0,2075	60,0967%
4	0,4087	0,1456	69,7168%
5	0,5353	0,2023	62,2081%
6	0,5386	0,1959	63,6280%
Rata-rata \pm SD			64,0799% \pm 4,074

B.3.3 Ekstrak 5 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5378	0,2946	45,2212%
2	0,5390	0,3024	43,8961%
3	0,5390	0,3070	43,1165%
4	0,5315	0,2986	43,8190%
5	0,5340	0,2860	46,4270%
6	0,5322	0,3121	41,3556%
Rata-rata \pm SD			43,9710% \pm 1,743

B.3.4 Ekstrak 10 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5329	0,2758	48,2425%
2	0,5278	0,2521	55,2356%
3	0,5341	0,2698	49,5821%
4	0,5340	0,2580	51,6944%
5	0,5342	0,2670	50,0187%
6	0,5524	0,2570	53,4757%
Rata-rata ± SD			51,3748% ± 2,631

B.3.5 Ekstrak 20 mg/ml

Replikasi	Berat sebelum perlakuan	Berat setelah perlakuan	Lisis bekuan darah
1	0,5129	0,2125	58,5690%
2	0,5297	0,1992	62,3938%
3	0,5256	0,2050	60,9969%
4	0,5317	0,1962	63,0995%
5	0,5800	0,2098	63,8276%
6	0,5597	0,2077	62,8908%
Rata-rata ± SD			61,9674% ± 1,911

Lampiran C. Data Keseluruhan Hasil Uji Aktivitas Trombolitik

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan		Menit	Setelah perakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis
		Berat tabung+ bekuan	Berat bekuan		Berat tabung + bekuan	Berat bekuan		
Kontrol negatif	1,0256	1,5829	0,5573	30	1,5807	0,5551	0,0022	0,3947%
				60	1,5679	0,5423	0,0150	2,6915%
				90	1,5304	0,5048	0,0525	9,4204%
	1,0388	1,5788	0,5400	30	1,5759	0,5371	0,0029	0,5370%
				60	1,5663	0,5275	0,0125	2,3148%
				90	1,5304	0,4916	0,0484	8,9630%
	1,0143	1,5404	0,5261	30	1,5389	0,5246	0,0015	0,2851%
				60	1,5293	0,5150	0,0111	2,1100%
				90	1,5072	0,4929	0,0332	6,3106%
	1,0332	1,5680	0,5348	30	1,5652	0,5320	0,0028	0,5326%
				60	1,5512	0,5180	0,0168	3,1413%
				90	1,5244	0,4912	0,0436	8,1526%
1,0279	1,5685	0,5406	30	1,5662	0,5383	0,0023	0,4254%	
			60	1,5550	0,5271	0,0135	2,4972%	
			60	1,5277	0,4998	0,0408	7,5472%	
1,0433	1,4403	0,3970	30	1,4374	0,3941	0,0013	0,7305%	
			60	1,4288	0,3853	0,0117	2,9471%	
			90	1,4140	0,3707	0,0263	6,6244%	
Kontrol positif nattokinase 10 mg/ml	1,0550	1,5688	0,5138	30	1,3217	0,2666	0,2472	48,1121%
				60	1,2903	0,2353	0,2785	54,2039%
				90	1,2582	0,2032	0,3115	60,4515%
10 mg/ml	1,0250	1,5547	0,5297	30	1,3267	0,3017	0,2880	43,0432%
				60	1,2889	0,2693	0,2604	50,1790%
				90	1,1925	0,1675	0,3622	68,3780%

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan			Setelah perakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis
		Berat tabung+ bekuan	Berat bekuan	Menit	Berat tabung + bekuan	Berat bekuan		
	1,0368	1,5684	0,5316	30	1,3228	0,2860	0,2456	46,2002%
				60	1,2989	0,2621	0,2695	50,6960%
				90	1,2243	0,2075	0,3241	60,0967%
	1,0646	1,5453	0,4087	30	1,5453	0,2693	0,1394	43,9775%
				60	1,3339	0,1750	0,3057	63,5947%
				90	1,3855	0,1456	0,3351	69,7168%
	1,0310	1,5633	0,5353	30	1,3344	0,3034	0,2319	43,3215%
				60	1,2739	0,2429	0,2924	54,6236%
				90	1,2333	0,2023	0,3330	62,2081%
1,0370	1,5756	0,5386	30	1,3323	0,2953	0,2433	45,1727%	
			60	1,2724	0,2354	0,3032	56,2941%	
			90	1,2329	0,1959	0,3427	63,6280%	
Ekstrak 5 mg/ml	1,0422	1,5800	0,5378	30	1,4357	0,3935	0,1383	26,8135%
				60	1,3622	0,3200	0,2178	40,4983%
				90	1,3368	0,2946	0,2432	45,2212%
	1,0113	1,5503	0,5390	30	1,4552	0,4439	0,0951	17,6437%
				60	1,3418	0,3305	0,2085	38,6827%
				90	1,3137	0,3024	0,2366	43,8961%
	1,0243	1,5640	0,5390	30	1,4210	0,3967	0,1423	26,4962%
				60	1,3636	0,3393	0,1197	40,5268%
				90	1,3313	0,3070	0,2320	43,1165%
1,0346	1,5661	0,5315	30	1,4306	0,3960	0,1355	25,4940%	
			60	1,3507	0,3161	0,2154	40,5286%	
			90	1,3332	0,2986	0,2329	43,8190%	

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan			Setelah perakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis	
		Berat tabung+ bekuan	Berat bekuan	Menit	Berat tabung + bekuan	Berat bekuan			
	1,0374	1,5714	0,5340	30	1,3772	0,3998	0,1342	25,1311%	
				60	1,3672	0,3288	0,2052	38,4270%	
				90	1,3234	0,2860	0,2480	46,4270%	
	1,0399	1,5721	0,5322	30	1,4761	0,4362	0,0960	18,0383%	
				60	1,3725	0,3326	0,1996	37,5047%	
				90	1,3520	0,3121	0,2211	41,3566%	
	Ekstrak 10 mg/ml	1,0382	1,5711	0,5329	30	1,3984	0,3602	0,1727	32,4076%
					60	1,3564	0,3182	0,2147	40,2890%
					90	1,3140	0,2758	0,2571	48,2454%
1,0370		1,5648	0,5278	30	1,3827	0,3457	0,1821	34,5017%	
				60	1,3340	0,2970	0,2308	43,7287%	
				90	1,2891	0,2521	0,2757	55,2356%	
1,0429		1,5770	0,5341	30	1,3924	0,3495	0,1846	34,5263%	
				60	1,3412	0,2983	0,2358	44,1490%	
				90	1,3127	0,2698	0,2643	49,4851%	
1,0459	1,5800	0,5341	30	1,4608	0,3609	0,1732	32,4283%		
			60	1,3442	0,2983	0,2358	44,1490%		
			90	1,3039	0,2580	0,2761	51,6944%		
1,0155	1,5497	0,5342	30	1,3794	0,3639	0,1703	31,8794%		
			60	1,3254	0,3099	0,2243	41,9880%		
			90	1,2825	0,2670	0,2672	50,0187%		
1,0157	1,5681	0,5524	30	1,3942	0,3785	0,1739	31,4808%		
			60	1,3069	0,2912	0,2612	41,2846%		
			90	1,2725	0,2570	0,2954	53,4757%		

Konsentrasi	Berat tabung mikrosentrifus	Sebelum perlakuan		Menit	Setelah perakuan		Selisih	Bekuan yang mengalami lisis
		Berat tabung+ bekuan	Berat bekuan		Berat tabung + bekuan	Berat bekuan		
Ekstrak 20 mg/ml	1,0155	1,5284	0,5129	30	1,3287	0,3132	0,1997	38,9354%
				60	1,2699	0,2544	0,2585	50,3997%
				90	1,2280	0,2125	0,3004	58,5690%
	1,0250	1,5547	0,5297	30	1,3347	0,3097	0,2200	41,5329%
				60	1,2889	0,2639	0,2658	50,1793%
				90	1,2242	0,1992	0,3305	62,3938%
	1,0287	1,5543	0,5256	30	1,3423	0,3136	0,2120	40,3348%
				60	1,3005	0,2718	0,2538	48,2877%
				90	1,2337	0,2050	0,3206	60,9969%
	1,0304	1,5621	0,5317	30	1,3441	0,3137	0,2180	41,0006%
				60	1,3129	0,2789	0,2528	47,5456%
				90	1,2266	0,1962	0,3355	63,0995%
1,0165	1,5965	0,5800	30	1,3464	0,3299	0,2501	43,1206%	
			60	1,2790	0,2625	0,3175	54,7414%	
			90	1,2263	0,2098	0,3702	63,8276%	
1,0253	1,5850	0,5597	30	1,3351	0,3298	0,2299	41,0755%	
			60	1,2788	0,2535	0,3062	54,7079%	
			90	1,2330	0,2077	0,3520	62,8908%	

Lampiran D. Hasil Analisis Data**D.1 Uji Aktivitas Antiplatelet**

1. Uji normalitas

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nilaiagregasi Kontrol negatif	.139	6	.200*	.988	6	.984
Kontrol positif	.189	6	.200*	.975	6	.925
Ekstrak 5 mg/ml	.210	6	.200*	.909	6	.427
Ekstrak 10 mg/ml	.192	6	.200*	.881	6	.272
Ekstrak 20 mg/ml	.216	6	.200*	.948	6	.726

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

1. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

nilaiagregasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.188	4	25	.030

Test of Homogeneity of Variance

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
nilaiagregasi Based on Mean	3.188	4	25	.030
Based on Median	2.863	4	25	.044
Based on Median and with adjusted df	2.863	4	12.151	.070
Based on trimmed mean	3.157	4	25	.031

2. Uji normalitas transformasi

Tests of Normality

perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
trans_agregasi1 Kontrol negatif	.136	6	.200*	.989	6	.985
Kontrol positif	.196	6	.200*	.975	6	.922
Ekstrak 5 mg/ml	.209	6	.200*	.912	6	.448
Ekstrak 10 mg/ml	.203	6	.200*	.877	6	.257
Ekstrak 20 mg/ml	.221	6	.200*	.944	6	.695

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

3. Uji homogeitas transformasi

Test of Homogeneity of Variances

trans_agregasi1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.823	4	25	.523

ANOVA

trans_agregasi1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	80.908	4	20.227	632.318	.000
Within Groups	.800	25	.032		
Total	81.708	29			

4. Analisis Post Hoc

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

trans_agregasi1

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrolnegatif	Kotrol positif	4.06357*	.10326	.000	3.8509	4.2762
	Ekstrak 5 mg/ml	2.58605*	.10326	.000	2.3734	2.7987
	Ekstrak 10 mg/ml	3.23623*	.10326	.000	3.0236	3.4489
	Ekstrak 20 mg/ml	4.77465*	.10326	.000	4.5620	4.9873
kotrolpositif	Kontrol negatif	-4.06357*	.10326	.000	-4.2762	-3.8509
	Ekstrak 5 mg/ml	-1.47752*	.10326	.000	-1.6902	-1.2649
	Ekstrak 10 mg/ml	-.82734*	.10326	.000	-1.0400	-.6147
	Ekstrak 20 mg/ml	.71108*	.10326	.000	.4984	.9237
ekstrak5mg/ml	Kontrol negatif	-2.58605*	.10326	.000	-2.7987	-2.3734
	Kotrol positif	1.47752*	.10326	.000	1.2649	1.6902
	Ekstrak 10 mg/ml	.65018*	.10326	.000	.4375	.8629
	Ekstrak 20 mg/ml	2.18860*	.10326	.000	1.9759	2.4013
ekstrak10mg/ml	Kontrol negatif	-3.23623*	.10326	.000	-3.4489	-3.0236
	Kotrol positif	.82734*	.10326	.000	.6147	1.0400
	Ekstrak 5 mg/ml	-.65018*	.10326	.000	-.8629	-.4375
	Ekstrak 20 mg/ml	1.53842*	.10326	.000	1.3257	1.7511

ekstrak20mg/ml Kontrol negatif	-4.77465*	.10326	.000	-4.9873	-4.5620
Kontrol positif	-.71108*	.10326	.000	-.9237	-.4984
Ekstrak 5 mg/ml	-2.18860*	.10326	.000	-2.4013	-1.9759
Ekstrak 10 mg/ml	-1.53842*	.10326	.000	-1.7511	-1.3257

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



D.2 Uji Aktivitas Trombolitik

D.2.1 Uji aktivitas trombolitik 30 menit

1. Uji normalitas

Tests of Normality

Perlakuan 30 menit	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nilai_lisis Kontrol negatif	.198	6	.200*	.964	6	.854
Kontrol positif	.196	6	.200*	.924	6	.535
Ekstrak 5 mg/ml	.328	6	.043	.815	6	.080
Ekstrak 10 mg/ml	.233	6	.200*	.892	6	.327
Ekstrak 20 mg/ml	.183	6	.200*	.970	6	.891

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

nilai_lisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.666	4	25	.001

3. Uji normalitas transformasi

Tests of Normality

Perlakuan 30 menit	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transformlisis Kontrol negatif	.177	6	.200*	.978	6	.939
Kontrol positif	.195	6	.200*	.926	6	.552
Ekstrak 5mg/ml	.334	6	.036	.809	6	.071
Ekstrak 10mg/ml	.233	6	.200*	.897	6	.359

Ekstrak 20mg/ml	.181	6	.200*	.970	6	.892
--------------------	------	---	-------	------	---	------

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

4. Uji homogenitas transformasi

Test of Homogeneity of Variances

transformlisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.882	4	25	.001

5. Uji kruskal-wallis Test

Kruskal-Wallis Test

Test of Homogeneity of Variances

transformlisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.882	4	25	.001

Ranks

perlakuan30me nit	N	Mean Rank
nilai_lisis Kontrol negatif	6	3.50
Kontrol positif	6	27.33
Ekstrak 5mg/ml	6	9.50
Ekstrak 10mg/ml	6	15.50
Ekstrak 20mg/ml	6	21.67
Total	30	

Test Statistics^{a,b}

	nilai_lisis
Chi-Square	27.720
Df	4
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan30menit

6. Uji Post Hoc

Mann-Whitney Test

Ranks

Perlakuan 30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol negatif	6	3.50	21.00
Ekstrak 20mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: perlakuan 30
menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol negatif	6	3.50	21.00
Ekstrak 10mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol negatif	6	3.50	21.00
Ekstrak 5mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

Perlakuan 30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol negatif	6	3.50	21.00
Kontrol positif	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

Perlakuan30m enit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol positif	6	9.50	57.00
Ekstrak 5mg/ml	6	3.50	21.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol positif	6	9.50	57.00
Ekstrak 10mg/ml	6	3.50	21.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Kontrol positif	6	9.33	56.00
Ekstrak 20mg/ml	6	3.67	
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-2.722
Asymp. Sig. (2-tailed)	.006
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.004 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Ekstrak 5mg/ml	6	3.50	21.00
Ekstrak 10mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Ekstrak 5mg/ml	6	3.50	21.00
Ekstrak 20mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

Ranks

perlakuan30menit	N	Mean Rank	Sum of Ranks
nilai_lisis Ekstrak 10mg/ml	6	3.50	21.00
Ekstrak 20mg/ml	6	9.50	57.00
Total	12		

Test Statistics^b

	nilai_lisis
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-2.882
Asymp. Sig. (2-tailed)	.004
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.002 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable:
perlakuan30menit

D.2.2 Uji aktivitas trombolitik 60 menit

1. Uji normalitas

Tests of Normality

Perlakuan 60mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Nilailisis Kontrol negatif	.136	6	.200*	.978	6	.942
Kontrol positif	.223	6	.200*	.887	6	.304
Ekstrak 5mg/ml	.304	6	.087	.825	6	.098
Ekstrak 10mg/ml	.242	6	.200*	.900	6	.375
Ekstrak 20mg/ml	.240	6	.200*	.864	6	.204

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Nilailisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.270	4	25	.027

3. Uji normalitas transformasi

Tests of Normality

perlakuan60mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transormlisis Kontrol negatif	.137	6	.200*	.980	6	.949
Kontrol positif	.215	6	.200*	.896	6	.350
Ekstrak 5mg/ml	.304	6	.088	.826	6	.100
Ekstrak 10mg/ml	.243	6	.200*	.900	6	.375
Ekstrak 20mg/ml	.236	6	.200*	.868	6	.217

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

perlakuan60mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transrormlisis Kontrol negatif	.137	6	.200*	.980	6	.949
Kontrol positif	.215	6	.200*	.896	6	.350
Ekstrak 5mg/ml	.304	6	.088	.826	6	.100
Ekstrak 10mg/ml	.243	6	.200*	.900	6	.375
Ekstrak 20mg/ml	.236	6	.200*	.868	6	.217

*. This is a lower bound of the true significance.

4. Uji normalitas transformasi

Test of Homogeneity of Variances

transrormlisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.563	4	25	.215

ANOVA

transrormlisis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	135.854	4	33.963	879.323	.000
Within Groups	.966	25	.039		
Total	136.819	29			

5. Analisis Post Hoc

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

transormlisis

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol negatif perlakuan60mnt	Kontrol positif	-5.79176*	.11347	.000	-6.0254	-5.5581
	Ekstrak 5mg/ml	-4.65915*	.11347	.000	-4.8928	-4.4255
	Ekstrak 10mg/ml	-4.91443*	.11347	.000	-5.1481	-4.6807
	ekstrak20mg/ml	-5.52282*	.11347	.000	-5.7565	-5.2891
Kontrol positif	kontrolnegatif	5.79176*	.11347	.000	5.5581	6.0254
	ekstrak5mg/ml	1.13261*	.11347	.000	.8989	1.3663
	ekstrak10mg/ml	.87733*	.11347	.000	.6436	1.1110
	ekstrak20mg/ml	.26894*	.11347	.026	.0352	.5026
Ekstrak 5mg/ml	kontrolnegatif	4.65915*	.11347	.000	4.4255	4.8928
	kontrolpositif	-1.13261*	.11347	.000	-1.3663	-.8989
	ekstrak10mg/ml	-.25528*	.11347	.034	-.4890	-.0216
	ekstrak20mg/ml	-.86367*	.11347	.000	-1.0974	-.6300
Ekstrak 10mg/ml	kontrolnegatif	4.91443*	.11347	.000	4.6807	5.1481
	kontrolpositif	-.87733*	.11347	.000	-1.1110	-.6436
	ekstrak5mg/ml	.25528*	.11347	.034	.0216	.4890
	ekstrak20mg/ml	-.60839*	.11347	.000	-.8421	-.3747
Ekstrak 20mg/ml	kontrolnegatif	5.52282*	.11347	.000	5.2891	5.7565
	kontrolpositif	-.26894*	.11347	.026	-.5026	-.0352
	ekstrak5mg/ml	.86367*	.11347	.000	.6300	1.0974
	ekstrak10mg/ml	.60839*	.11347	.000	.3747	.8421

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

D.2.3. Uji aktivitas trombolitik 90 menit

1. Uji normalitas

Tests of Normality

perlakuan90mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nilailisis Kontrol negatif	.167	6	.200*	.946	6	.712
Kontrol positif	.211	6	.200*	.878	6	.260
Ekstrak 5mg/ml	.184	6	.200*	.980	6	.951
Ekstrak 10mg/ml	.195	6	.200*	.959	6	.813
Ekstrak 20mg/ml	.256	6	.200*	.883	6	.281

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

2. Uji homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

nilailisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.367	4	25	.025

3. Uji normalitas transformasi

Tests of Normality

perlakuan90mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transformlisis Kontrol negatif	.168	6	.200*	.946	6	.706
Kontrol positif	.206	6	.200*	.880	6	.271
Ekstrak 5mg/ml	.181	6	.200*	.979	6	.948
Ekstrak 10mg/ml	.193	6	.200*	.961	6	.828
Ekstrak 20mg/ml	.258	6	.200*	.879	6	.266

a. Lilliefors Significance Correction

Tests of Normality

perlakuan90mnt	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transformlisis Kontrol negatif	.168	6	.200*	.946	6	.706
Kontrol positif	.206	6	.200*	.880	6	.271
Ekstrak 5mg/ml	.181	6	.200*	.979	6	.948
Ekstrak 10mg/ml	.193	6	.200*	.961	6	.828
Ekstrak 20mg/ml	.258	6	.200*	.879	6	.266

*. This is a lower bound of the true significance.

4. Uji normalitas transformasi

Test of Homogeneity of Variances

transformlisis

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.774	4	25	.166

ANOVA

transformlisis

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	110.090	4	27.522	766.560	.000
Within Groups	.898	25	.036		
Total	110.987	29			

5. Analisis Post Hoc

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

transformlisis

LSD

(I)	(J)	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrolnegatif perlakuan90mnt	Kontrol positif	-5.21054*	.10940	.000	-5.4358	-4.9852
	Ekstrak 5mg/ml	-3.83898*	.10940	.000	-4.0643	-3.6137
	Ekstrak 10mg/ml	-4.37346*	.10940	.000	-4.5988	-4.1482
	Ekstrak 20mg/ml	-5.07974*	.10940	.000	-5.3050	-4.8544
kontrolpositif perlakuan90mnt	Kontrol negatif	5.21054*	.10940	.000	4.9852	5.4358
	Ekstrak 5mg/ml	1.37155*	.10940	.000	1.1462	1.5969
	Ekstrak 10mg/ml	.83707*	.10940	.000	.6118	1.0624
	Ekstrak 20mg/ml	.13080	.10940	.243	-.0945	.3561
ekstrak5mg/ml perlakuan90mnt	Kontrol negatif	3.83898*	.10940	.000	3.6137	4.0643
	Kontrol positif	-1.37155*	.10940	.000	-1.5969	-1.1462
	Ekstrak 10mg/ml	-.53448*	.10940	.000	-.7598	-.3092
	Ekstrak 20mg/ml	-1.24076*	.10940	.000	-1.4661	-1.0154
ekstrak10mg/ml perlakuan90mnt	Kontrol negatif	4.37346*	.10940	.000	4.1482	4.5988
	Kontrol positif	-.83707*	.10940	.000	-1.0624	-.6118
	Ekstrak 5mg/ml	.53448*	.10940	.000	.3092	.7598
	Ekstrak 20mg/ml	-.70628*	.10940	.000	-.9316	-.4810
ekstrak20mg/ml perlakuan90mnt	Kontrol negatif	5.07974*	.10940	.000	4.8544	5.3050
	Kontrol positif	-.13080	.10940	.243	-.3561	.0945
	Ekstrak 5mg/ml	1.24076*	.10940	.000	1.0154	1.4661

Ekstrak 10mg/ml	.70628*	.10940	.000	.4810	.9316
--------------------	---------	--------	------	-------	-------

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

