

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL RUMPUT LAUT MERAH (*Gracilaria verrucosa*) TERHADAP WAKTU PENDARAHAN (BLEEDING TIME) PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

Keni Idacahyati, Dimas Rahman Fauzi, Tresna Lestari*
Prodi S1 Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya
*keniida@stikes-bth.ac.id

ABSTRAK

Antiplatelet merupakan obat yang digunakan untuk mencegah pembentukan platelet pada penyakit. Penggunaan antiplatelet dapat menyebabkan resistensi dan efek samping sampai dengan kematian. Rumput laut merah (*Gracilaria verrucosa*) memiliki kandungan flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas menghambat agregasi platelet karena adanya kemampuan dalam menghambat pelepasan mediator asam arakidonat dari membran sel sehingga jalur metabolisme siklooksigenase menjadi terhambat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol rumput laut merah terhadap waktu pendarahan. Penelitian ini bersifat eksperimental dilakukan pada 5 kelompok tikus yang terdiri masing-masing 5 tikus, yaitu kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak rumput laut merah dosis (300, 600, 1200) mg/Kg BB Tikus dengan parameter waktu pendarahan. Hasil penelitian menunjukkan pemberian dosis 600 mg/Kg BB Tikus dapat memperpanjang waktu pendarahan sebanding dengan kontrol positif.

Kata Kunci : Antiplatelet, Rumput Laut Merah, Waktu Pendarahan, Ekstrak etanol, Tikus Putih

ABSTRACT

*Antiplatelet is a drug used to prevent excessive formation of b platelets in cardiovascular disease. The use of antiplatelet can cause resistance and side effects and cause death. Red seaweed (*Gracilaria verrucosa*) contains flavonoids which are polyphenol compounds which have activity can inhibit platelet aggregation because of their ability to inhibit arachidonic acid released from membrane phospholipids through rapid coordinated activation of phospholipases from cell membranes so that the metabolic pathway of cyclooxygenase becomes inhibited. This study aims to determine the effect of ethanol extract of red seaweed on bleeding time. This method using is the experimental study of 5 groups, each group consisted of 5 rats there were group of positif control, negative control, seaweed extract doses (300,600,1200) mg/BW with a bleeding time parameter. The results showed that the administration of 600 mg / kg BW Rats could extend the bleeding time in proportion to positive control.*

Keywords: *Antiplatelet, red seaweed, bleeding time, etanol extract, rat*

PENDAHULUAN

Antiplatelet merupakan obat yang digunakan untuk mencegah

pembentukan trombosit darah yang saling menempel. Antiplatelet digunakan untuk aterosklerosis yang

terbentuk disepanjang dinding bagian dalam pembuluh darah, yang dapat menyebabkan terbentuk plak yang menghambat aliran darah¹. Beberapa contoh obat antiplatelet antara lain klopidoogrel, cilostazol, dan aspirin^{2,3}

Penggunaan beberapa antiplatelet dapat menyebabkan resistensi dan efek samping sampai dengan kematian⁴. Untuk mengatasi hal tersebut salah satu alternatif terapi adalah bahan alam. Rumput laut merupakan organisme perairan yang keberadaannya sangat melimpah dan salah satu sumberdaya alam hayati laut yang bernilai ekonomis⁵.

Flavonoid adalah termasuk senyawa polifenol yang memiliki manfaat sebagai antivirus, antimikroba, antialergik, antiplatelet, antiinflamasi, antitumor, dan antioksidan sebagai sistem pertahanan tubuh⁶. Flavonoid mampu menghambat agregasi platelet karena adanya kemampuan dalam menghambat pelepasan mediator asam arakidonat dari membran sel sehingga jalur metabolisme siklooksigenase menjadi terhambat. Adanya penghambatan siklooksigenase menyebabkan tromboksan A₂ tidak terbentuk atau

berkurang, penurunan aktivasi platelet dan penggumpalan platelet pada pembentukan trombus terhambat. Ketika pembentukan trombus terhambat maka waktu pendarahan akan semakin meningkat⁷.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan antara lain tabung reaksi, maserator, cawan uap, waterbath, gunting bedah, rotary evaporator, timbangan analitik, sonde.

Bahan

Ekstrak etanol rumput laut merah, tikus putih jantan galur wistar, alumunium foil, aquadest, CH₃COOH glasial, H₂SO₄ pekat, pereaksi Meyer, serbuk Mg, HCL Pekat, FeCl₃, NaCMC 1%, aspirin, kertas saring, dan etanol 70%

Determinasi Tumbuhan

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut yang diambil di Pantai Karapyak Kecamatan Kalipucang - Pangandaran. Rumput laut terlebih dahulu di determinasi di Labolatorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UNPAD.

Ekstraksi Rumput Laut Merah

Sebanyak 1900 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Pelarut diganti setiap 1 x 24 jam, maserasi dilakukan hingga 6 hari, biasanya dapat dilakukan 4-10 hari atau hasil maserat yang diperoleh mendekati warna bening. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring. Penguapan pelarut dilakukan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak rumput laut dan dikentalkan di atas penangas air. Diperoleh ekstrak kental rumput laut kemudian dilakukan uji susut pengeringan, kadar sari yang larut etanol, serta uji skrining fitokimia⁸.

Skrining Fitokimia

Simplisia dan ekstrak kental rumput laut merah dilakukan skrining fitokimia meliputi skrining alkaloid, flavonoid, tanin, gelatin, steroid, triterpenoid, kuinon, monoterpen dan seskuiterpen,.

Pemberian Perlakuan

Pemberian perlakuan pada tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi 5, yaitu : kelompok I (kontrol negatif) diberikan NaCMC 1%, kelompok II (kontrol positif) diberikan Aspirin 12,6 mg/200g BB Tikus, kelompok III diberikan ekstrak

etanol rumput laut merah 60 mg/200g BB Tikus, kelompok IV diberikan ekstrak etanol rumput laut merah 120 mg/200g BB Tikus, kelompok V diberikan ekstrak etanol rumput laut merah 240 mg/200g BB Tikus. Semua kelompok perlakuan diberi bahan uji secara oral selama 6 hari

Uji Waktu Pendarahan

Penentuan waktu pendarahan dilakukan pada tikus putih jantan kelompok uji pada hari ke-0 dan hari ke-7, dengan cara melukai ekor tikus terlebih dahulu dibersihkan dengan etanol. Ekor tikus dilukai dengan pemotongan ekor menggunakan gunting bedah, pemotongan tidak terlalu panjang⁹. Darah diserap pada kertas saring¹⁰. Waktu mulai keluar tetesan darah sampai tidak terdapat tetesan darah lagi pada kertas saring digunakan sebagai waktu pendarahan. Pendarahan ditandai dengan mulai keluarnya darah pada saat ekor tikus dilukai.

Analisis Data

Hasil uji waktu pendarahan dianalisis normalitas dan uji varian menggunakan aplikasi SPSS 21.0. Jika sebaran data normal dan data homogen ($p > 0,05$), analisis yang digunakan adalah *One Way Anova*.

Selanjutnya digunakan *least significantly difference* (LSD) sebagai uji lanjutan Perbedaan tiap kelompok dinilai bermakna atau signifikan apabila nilai $p < 0,05$ ¹¹.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Rumput Laut Merah

Determinasi dilakukan di Herbarium Jatinangor Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung diperoleh hasil bahwa sampel yang digunakan merupakan rumput laut atau alga merah dari famili Gracilaria dan merupakan jenis *Gracilaria verrucosa*.

Determinasi Hewan

Hasil determinasi hewan menyatakan bahwa hewan percobaan yang digunakan adalah Tikus Jantan Galur Wistar yang telah dipastikan identitasnya dan dinyatakan sehat, dan bebas dari penyakit menular oleh Dokter Hewan Dinas Pangan dan Pertanian Kota Bandung.

Ekstraksi Rumput Laut Merah

Ekstraksi dilakukan dengan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi. Ekstraksi dilakukan untuk menarik metabolit sekunder flavonoid dari tumbuhan rumput laut

merah. Proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Berdasarkan hasil ekstraksi dari 1,9 kg rumput laut merah diperoleh ekstrak kental sebanyak 77,141 gram dengan persen rendemen 3,543%.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia yang dilakukan pada simplisia dan ekstrak rumput laut merah menunjukkan adanya metabolit sekunder yang terkandung yaitu flavonoid, saponin, kuinon, triterpenoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan bahwa ekstrak rumput laut merah mengandung flavonoid, saponin, dan triterpenoid¹².

Uji Waktu Pendarahan

Pengujian waktu pendarahan dilakukan terhadap 25 ekor tikus yang terbagi menjadi 5 kelompok perlakuan yang terdiri dari Kontrol positif (aspirin 12,6 mg/200g BB Tikus), kontrol negatif (NaCMC 1%), dosis 1 (ekstrak rumput laut merah 60mg/200g BB Tikus), dosis 2 (ekstrak rumput laut merah 120mg/200g BB Tikus), dan dosis 3 (ekstrak rumput laut merah 240mg/200g BB Tikus). Kelompok

uji diberikan perlakuan selama 7 hari dan dilakukan pengujian waktu pendarahan dengan cara pemotongan ekor tikus.

Tabel I. Rata-rata waktu pendarahan sebelum dan sesudah perlakuan

No	Kelompok	H0 (detik)	H7 (detik)
1	Kontrol Positif	85,92	198,36
2	Kontrol Negatif	57,12	56,88
3	Dosis I	68,28	142,56
4	Dosis II	81	196,24
5	Dosis III	83,76	236,8

Tabel 1 menunjukkan rata-rata waktu pendarahan sebelum (H0) dan sesudah (H7), dapat dilihat dari semua kelompok uji yang tidak mengalami kenaikan waktu rata-rata pendarahan adalah pada kelompok kontrol negatif (NaCMC 1%) dengan waktu pendarahan pada hari ke-0 (H0) selama 57,12 detik. Kemudian setelah dilakukan perlakuan pada hari ke-7 (H7) mengalami penurunan menjadi 56,88 detik dengan selisih waktu penurunan 0,24 detik.

Sedangkan pada kelompok lain mengalami peningkatan rata-rata waktu pendarahan, diantaranya pada kontrol positif (aspirin 12,6 mg/200g BB Tikus) H0 selama 85,92 detik. Kemudian mengalami kenaikan

sebesar 112,44 detik sehingga hari ke-7 menjadi 198,36 detik. Pemberian aspirin pada kelompok kontrol positif menyebabkan peningkatan waktu pendarahan, karena aspirin dapat mengganggu sintesis tromboksan A2 sehingga agregasi platelet berkurang¹³. Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan aspirin dapat memperpanjang waktu pendarahan dengan cara penghambatan sintesis siklooksigenase sehingga sintesis tromboksan A2 menjadi terganggu⁹.

Pada dosis 1 (ekstrak rumput laut merah 60 mg/200g BB Tikus) sebelum dilakukan perlakuan (H0) menunjukkan waktu rata-rata pendarahan selama 68,28 detik, kemudian mengalami kenaikan sebesar 74,28 detik sehingga pada hari ke-7 menjadi 142,56 detik. Pada dosis 2 (ekstrak rumput laut merah 120 mg/200g BB Tikus) sebelum dilakukan perlakuan (H0) menunjukkan waktu rata-rata pendarahan selama 81 detik, kemudian mengalami kenaikan sebesar 115,24 detik sehingga pada hari ke-7 menjadi 196,24 detik. Pada dosis 3 (ekstrak rumput laut merah 240 mg/200g BB Tikus) sebelum

dilakukan perlakuan (H0) menunjukkan waktu rata-rata pendarahan selama 83,76 detik, kemudian mengalami kenaikan sebesar 153,04 detik sehingga pada hari ke-7 menjadi 236,8 detik.

Sebelum dilakukannya perlakuan waktu pendarahan berkisar selama 57,12-85,92 detik, hasil tersebut tidak berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan waktu pendarahan normal pada tikus galur wistar jantan berkisar selama 60-110 detik¹⁴. Pada penelitian ini juga diperoleh bahwa rata-rata waktu pendarahan yang telah diberi perlakuan lebih besar sehingga pembekuan darah akan terjadi lebih lama.

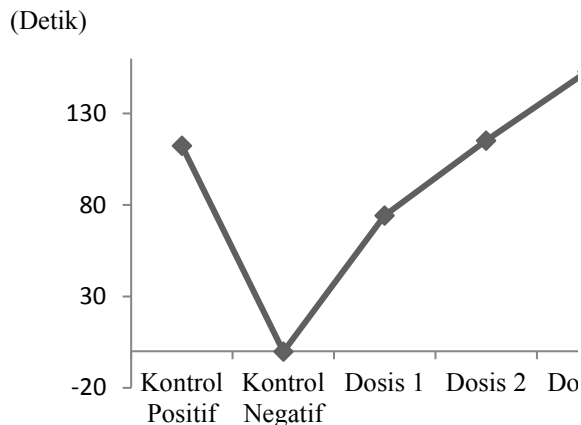
Analisis Waktu Pendarahan

Pada penelitian ini dilakukan analisis statistik menggunakan aplikasi SPSS 21. Analisis data statistik pertama dilakukan uji normalitas yang dilakukan untuk melihat distribusi data, uji normalitas pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk* Test. Data hasil analisis statistik uji normalitas diperoleh nilai rata-rata signifikansi $p > 0,05$ yaitu kontrol positif = 0,486, kontrol negatif = 0,663, dosis 1 = 0,566, dosis

2 = 0,090 dan dosis 3 = 0,091. Maka H_0 dapat diterima, dan H_a ditolak berarti bahwa variabel data hasil pengujian waktu pendarahan terdistribusi dengan normal. Dilakukan uji homogenitas untuk melihat variansi data, uji homogenitas yang digunakan adalah uji homogenitas *levine's*. Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi $p > 0,05$ yaitu 0,56 sehingga semua varian data pada pengujian waktu pendarahan ini bersifat homogen.

Analisis selanjutnya adalah uji komparabilitas untuk membandingkan rerata waktu pendarahan antar kelompok perlakuan¹⁵. Berdasarkan hasil uji *One-Way* Anova diperoleh signifikansi $p < 0,05$ yaitu $p = 0,00$. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Selanjutnya uji *Post Hoc* *LSD* dilakukan untuk menganalisis perbedaan waktu pendarahan tiap kelompok dan diperoleh hasil tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol positif yang dibandingkan dengan dosis 2 dengan nilai signifikansi $p = 0,232$ atau $p >$

0,05. Sedangkan kelompok kontrol positif dengan dosis 1 dan 3 terdapat perbedaan yang signifikan dengan signifikansi masing masing $p = 0,016$ dan $0,012$ ($p < 0,05$).



Gambar I. Waktu Pendarahan sesudah perlakuan

Terjadinya peningkatan rata-rata waktu pendarahan disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya, adanya gangguan fungsi hati yang menyebabkan konsentrasi fibrinogen turun, genetik, kekurangan faktor pembekuan darah, stress terhadap pemotongan ekor tikus dan kedalaman luka yang tidak bisa diukur¹⁶. Sedangkan terjadinya penurunan waktu pendarahan tersebut karena tidak diberikan zat yang memiliki aktivitas memperpanjang waktu pendarahan⁷.

Faktor utama terjadinya peningkatan rata-rata waktu

pendarahan pada ekstrak rumput laut merah diketahui karena adanya senyawa flavonoid antioksidan dan kuersetin. Flavonoid menyebabkan penghambatan sumbatan hemostasis. Flavonoid mampu meningkatkan waktu pendarahan, karena terjadi penghambatan sumbatan hemostasis melalui inhibisi P13K (*Phosphonositide-3 Kinase*) diikuti dengan peningkatan cAMP (*Cyclic Adenosine Monophosphate*) dan stimulasi VASP (*Vasodilator Stimulated Phosphoprotein*). Hal tersebut menyebabkan penghambatan mediator asam arakidonat dari membran sel sehingga jalur metabolisme siklooksigenase dan prostaglandin yang berperan terhadap agregrasi platelet menjadi terhambat. Siklooksigenase dan prostaglandin membentuk suatu enzim yang menyebabkan perubahan fibrinogen sirkulasi menjadi fibrin, fibrin tumbuh menutup permukaan sumbatan platelet. Dihambatnya penumpukan platelet, maka waktu pendarahan semakin meningkat^{11,17,7}.

Adanya flavonoid yang terkandung dalam rumput laut merah ini dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat

tromboksan A2 untuk memperpanjang waktu pendarahan¹⁰. Penelitian lain yang mendukung bahwa golongan metabolit sekunder flavonoid kuercetin dapat memperpanjang waktu pendarahan adalah penelitian dari perasan bawang merah terhadap pemanjangan waktu pendarahan¹⁸.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol rumput laut merah mempunyai pengaruh terhadap waktu pendarahan dan Pemberian ekstrak etanol rumput laut merah 120 mg/200 g BB tikus dapat memperpanjang waktu pendarahan pada tikus putih jantan Galur Wistar.

DAFTAR PUSTAKA

1. AHA. **2017**. Let's Talk About Anticoagulants And Antiplatelet Agents. https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/%40wcm/%40mwa/documents/downloadable/ucm_453276.pdf. [diakses tanggal 5 november 2018]
2. Michael, Zelika M. R. **2017**. Obat Penginduksi Pendarahan. *Farmaka* Volume 15 No. 4
3. AHA/ASA. **2013**. Guidelines For Early Management Of Patients With Acute Ischemic Stroke. https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/%40wcm/%40mwa/documents/downloadable/ucm_453276.pdf. [diakses tanggal 30 oktober 2018].
4. Wardana, Arief Eka. **2015**. Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanolik Buah Kemukus (Piper cubeba L.f) Pada Platelet Terinduksi ADP [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
5. Darmawati, Niartiningsih A, Syamsuddin R, Jompa J. **2016**. Analisis Kandungan Karotenoid Rumput Laut Caulerpa sp. Yang Dibudidayakan Di Berbagai Jarak Dan Kedalaman. Seminar Nasional Inovasi Iptek Perguruan Tinggi Untuk Meningkatkan Kesejahteraan Masyarakat. 29-30 Agustus 2016. Hal 196-201.
6. Harismah, K., & Chusniatun. **2016**. "Pemanfaatan daun salam (*Eugenia polyantha*) sebagai obat herbal dan rempah penyedap makanan". *Jurnal Warta LPM*, 19(2), 111-118.
7. Suadli, Ajad Ade. **2018**. Uji Potensi Antiplatelet Ekstrak Teh Hijau (*Camelia sinensis* (L) O. Kuntze) Dibandingkan Dengan Aspirin Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) [Skripsi]. Makassar : Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Uin Alaudin
8. Astuti, S. M. **2011**. Determination Of Saponin Compound From Anredera Cordifolia (Ten) Steenis Plant (Binahong) To Potential Treatment For Several Diseases, 3(4), 224–232.

<https://doi.org/10.5539/jas.v3n4p224>

9. Santoso, Johan Andreas. **2007**. Antaraksi Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Dan Asetosal Ditinjau Dari Efek Antitrombotik Pada Tikus Putih Betina. [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma
10. Dewi, R. S., Made, N. I., Sandhiutami, D. W. I., & Raharjo, S. **2017**. Efek Anti-Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) Pada Mencit (Anti – Platelet Aggregation Effect From Ethanol Extract Of Salam Leaves (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) On Mice), *15*(1).
11. Putri, R. R. R. F, Evi U. U, Rini R. **2014**. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan* Vol. 2 No. 1
12. Amalia, Tsaniah Putri. **2012**. Uji Efek Penurunan Glukosa Darah Ekstrak Etanol Ganggang Merah *Gracilaria verucosa* dan *Kappaphycus alvarezii* Dengan Metode Toleransi Glukosa Oral Dan Metode Induksi Aloksan Terhadap Tikus Putih Jantan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan. Jakarta : Universitas Islam Negeri Syarifhidayatulloh
13. Nugroho, Agung Endro. **2018**. Farmakologi Obat-Obatan Penting Dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi Dan Dunia Kesehatan. Yogyakarta : Pustaka Pelajar
14. Kainde Abedneju R, Damajanty H C Pangemanan, Benart S P Htuagalung. **2016**. Uji Efektivitas Ekstrak Daun Sendok (*Plantago major* L.) Terhadap Waktu Pendarahan Pada Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal e-gigi (eG)* volume 4 Nomor 2
15. Firmansyah Alies, Zelly Dia Rofinda, Erkadius. **2017**. Pengaruh Vitamin C Terhadap Waktu Pendarahan Mencit Yang Dipapar Asap Rokok. *Jurnal Kesehatan Andalas* Vol. 6 no. 3
16. Saputra, Iramida Oka. **2017**. Uji Efektifitas Getah Batang Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) Terhadap Waktu Pendarahan Luar Pada Mencit (*Mus musculus*) Jantan Galur Swiss Webster [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
17. Retnaningsih Ch, Andi Setiawan, Sumardi. **2011**. Potensi Antiplatelet Kacang Koro (*Mucuna pruriens* L.) dari fraksi heksan dibandingkan dengan aspirin pada tikus hiperkolesterolemia. *Seri Kajian Ilmiah*. Vol. 14 no. 1
18. Lijaya, Lili Saputri, Winny Adriatmoko, Zainul Cholid. **2014**. Perpanjangan Waktu Pendarahan Pada Pemberiang Bawang Merah (*Alium ascalonicum*). *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, volume 2 no. 3