

Potensi Rumput Laut Coklat Jenis *Sargassum duplicatum* yang berasal dari Perairan Menganti-Kebumen sebagai Antiagregasi Platelet

Dewanto, Siti Mutriyah, Yoppi Iskandar dan Melisa Intan Barliana

¹Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran-Bandung
²Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman-Purwokerto

ABSTRACT

A study concerning the potential of brown seaweed of *Sargassum duplicatum* from Menganti beach-Kebumen as anti-platelet aggregation was investigated. Anti-platelet aggregation test performed in vitro using human blood with a Born method, is based on changes in light transmission with Adenosine Diphosphat (ADP) 10 μ L added as an inductor. Tests performed on extracts and fractions of *Sargassum duplicatum* using positive control acetyl salicylic acid 80 mg / mL. The test results of the anti-platelet aggregation of *Sargassum duplicatum* extract concentration 125 μ g / mL, 250 μ g / mL, 500 μ g / mL, n-hexane fraction 500 μ g / mL, the ethyl acetate fraction 500 μ g / mL, and water fraction 500 μ g/mL, respectively gives a value of 4.68%, 6.77%, 11.64%, 55.51%, 52.10% and -1.55%. Whereas the positive control acetyl salicylic acid 80 μ g / mL give 48.49% inhibitory. based on these results it can be concluded that the fraction n-hexane of *Sargassum duplicatum* shows anti-platelet aggregation activity of the most optimal. Phytochemical test showed n-hexane fraction containing flavonoids, monoterpenoid, sesquiterpenoid, steroids and quinones.

Keywords: *Sargassum duplicatum*, Menganti, anti-platelet aggregation, ADP

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang memiliki sumber daya hayati sangat tinggi, dimana 75% dari seluruh wilayah Indonesia merupakan perairan pesisir dan lautan dengan luas zona ekonomi eksklusif (ZEE) 2,7 juta kilometer persegi (Mulyana dan Dermawan, 2008). Salah satu kekayaan sumber daya laut yang dimiliki Indonesia berupa rumput laut. Keragaman rumput laut di Indonesia sangat tinggi, yaitu ada sekitar 782 spesies (Anggadiredja *et al.*, 2006). Namun menurut Indriyani dan Sumarsih (2001), hanya sebagian kecil dari spesies rumput laut Indonesia yang sudah dimanfaatkan, baik sebagai obat-obatan, kosmetik maupun bahan makanan. Rumput laut dapat digunakan sebagai bahan makanan karena rumput laut mengandung karotenoid, serat, protein, asam lemak esensial, vitamin dan mineral yang merupakan nutrisi penting bagi manusia. Selain itu rumput laut juga mengandung antikoagulan (Manivannan *et al.*, 2011), antivirus (Ghosh *et al.*, 2004), anti inflamasi dan antimikroba (Boonchum *et al.*, 2011), sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan. Akhir-akhir ini rumput laut mendapat perhatian penting dalam potensinya sebagai antibakteri, antioksidan dan juga antiagregasi platelet (Vairappan *et al.*, 2011).

Rumput laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* merupakan salah satu species dari 12 species *Sargassum* yang tumbuh di Indonesia, yaitu *Sargassum duplicatum*, *S. hitrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilinum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polyceystum*, *S. microphyllum*,

S. crassifolium, *S. aquafolium*, *S. vulgare*, dan *S. Polyceratium*. *S. duplicatum* merupakan salah satu dari 3 jenis species *Sargassum* yang telah dipasarkan di daerah Jawa Barat disamping *S. polycytum* dan *S. binderi* (Kadi, 2005). Menurut Keusgen *et al.*, 1997 rumput laut jenis *Sargassum* mengandung protein, vitamin C, fenol, iodin dan memproduksi beberapa jenis senyawa sekunder seperti florotanin, steroid dan sterol. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan terhadap darah kelinci yang di induksi oleh *Adenosine Diphosphat* (ADP) menunjukkan ekstrak metanol *Sargassum Sp* menunjukkan efek antiagregasi platelet tertinggi (37,8 %) dari jenis rumput laut lainnya (*Gracilaria sp*, *Cottonii sp*, *Spinosum sp* dan *Euchema sp*) yang di ambil dari kepulauan Batam (Komari dan Lamidand, 1997).

Penyakit jantung, otak dan pembuluh darah (kardioserebrovaskular) merupakan penyebab utama kematian di dunia, sekitar 17,3 juta orang meninggal akibat penyakit kardioserebrovaskular atau 30 % dari total kematian di dunia pada tahun 2008, dimana 7,2 juta orang meninggal akibat penyakit jantung koroner dan 6,2 juta orang meninggal akibat *stroke*. Tahun 2030, sebanyak 23,3 juta orang diperkirakan akan meninggal akibat penyakit kardioserebrovaskular terutama karena penyakit jantung dan *stroke*. Peningkatan terbesar angka kematian akan terjadi di Asia Tenggara (WHO, 2012). Di Indonesia sendiri penyakit kardioserebrovaskular (PKSV) menunjukkan bahwa tahun 2007 diketahui 31,9% kematian di Indonesia disebabkan oleh PKSV termasuk *stroke*, penyakit jantung dan pembuluh darah perifer. Berbagai faktor risiko PKSV kurang disadari oleh masyarakat seperti hipertensi, merokok, dislipidemia, *diabetes mellitus*, kurang berolahraga, obesitas dan stress. (Depkes, 2007).

PKSV yang paling sering menimbulkan kematian didasari oleh proses aterosklerosis yang menimbulkan penyempitan dan penyumbatan total pembuluh darah. Penyumbatan pembuluh darah koroner mengakibatkan serangan jantung (*infark miokard*) yang bisa diikuti kematian mendadak atau gagal jantung, sedangkan penyumbatan pembuluh darah otak berakibat *stroke*, penyumbatan pembuluh darah perifer juga tak kalah pentingnya karena bisa berakhir dengan amputasi atau trombo-emboli yang fatal. Agregasi platelet merupakan salah satu faktor yang sering mengakibatkan penyumbatan pada pembuluh darah arteri sehingga terjadi trombosis yang selanjutnya dapat menyebabkan infark miokard atau *stroke* (Hellums *et al.*, 2012).

Obat antiagregasi platelet digunakan pada pengobatan dan pencegahan serangan iskemia akibat proses trombosis. Beberapa obat antiagregasi platelet yang masih banyak dipakai sampai saat ini diantaranya asam asetil salisilat yang berfungsi menghambat pembentukan prostasiklin dan tromboksan A2 (TXA2) yang berperan pada jalur pengaktifan agregasi platelet, klopidogrel yang merupakan antagonis reseptor *Adenosine DiPhosphate* (ADP) dan dipiridamol yang mempunyai efek memperkuat kerja penghambatan agregasi yang dimiliki adenosin dan prostaglandin. Efek samping dari obat-obatan tersebut terutama yang digunakan dalam jangka waktu lama berupa nyeri kepala (dipiridamol), iritasi lambung, dan resiko pendarahan (asam asetil salisilat dan clopidogrel). Oleh karena itu diperlukan adanya pengembangan senyawa baru yang penggunaannya relatif lebih aman (Nusirwan, 2007; Adiwijaya, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi dari rumput laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* untuk dikembangkan sebagai antiagregasi platelet secara *In Vitro* terhadap darah manusia.

Bahan dan Metode

Bahan

Rumput laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* yang diambil di Pantai Menganti, Kebumen, etanol 95%, aquadest, *n*-heksana, etil asetat, bahan-bahan kimia untuk uji fitokimia (asam klorida 2N, pereaksi mayer, pereaksi dragendroff, gelatin 1%, serbuk magnesium, amil alkohol, eter, vanillin 10 % dalam asam sulfat pekat, pereaksi Lieberman-Burchard, larutan Kalium Hidroksida 5% dan pereaksi besi (III) klorida), Dimetil Sulfoksida (DMSO), asam asetil salisilat, natrium sitrat, kit ADP (*Adenosine diphosphate*).

Darah Uji

Darah vena diambil dari 3 orang pendonor pria dewasa (20-35 tahun) masing-masing diambil 40 mL, yang digunakan *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan *Platelet Poor Plasma* (PPP). Dengan kriteria pendonor yaitu sehat, tidak merokok, tidak sedang mengonsumsi asetosal atau sejenisnya dalam kurun waktu 2 minggu terakhir sebelum dilakukan pemeriksaan, tidak mempunyai penyakit seperti penyakit jantung, hipertensi dan *diabetes mellitus*.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat penggiling, maserator, alat ukur gelas, timbangan analitik, cawan penguap, corong pisah, *rotary evaporator*, tabung reaksi, pipet tetes, penangas air, mikropipet, alat suntik 30 mL, sarung tangan karet, tabung plastik, tabung sentrifuse, sentrifugator, *magnetic stirrer*, Agregometer Helena PACKS-4, pipet agregometer, kuvet agregometer.

Metode

Pengumpulan, Determinasi, dan Pengolahan.

Rumput laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* dikumpulkan dari pantai Menganti Kebumen dan dilakukan pembersihan dengan pencucian menggunakan air mengalir. Selanjutnya, dideterminasi di Pusat Penelitian Oseanografi LIPI, Jakarta.

Ekstraksi dan Fraksinasi.

Rumput laut coklat yang telah diiris-diiris dan dikeringkan, dihancurkan dengan alat penggiling, diekstraksi dengan etanol 95% menggunakan metode maserasi sebanyak 3 kali, masing-masing selama 24 jam. Ekstrak disaring dan pelarutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C sehingga dihasilkan massa semi kental, kemudian diuapkan lagi di penangas air pada suhu 40°C hingga berat konstan.

Fraksinasi ekstrak etanol dilakukan dengan cara ekstraksi cair-cair. Ekstrak kental dilarutkan dalam jumlah tertentu, lalu dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-heksan sebanyak jumlah air yang ditambahkan. Corong pisah ditutup dan dikocok selama beberapa menit sampai homogen sambil sesekali tutupnya dibuka untuk mengeluarkan gas yang terbentuk selama pengocokan, dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan. Kedua lapisan yang terbentuk dipisahkan ke dalam wadah yang berbeda. Kemudian lapisan air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan ditambahkan lagi *n*-heksan dengan jumlah yang sama dan dilakukan seperti perlakuan sebelumnya hingga lapisan pelarut *n*-heksan tidak berwarna. Bagian air dimasukkan lagi ke dalam corong pisah, kemudian di fraksinasi menggunakan etil asetat dengan cara yang sama seperti fraksinasi dengan *n*-heksan. Ketiga fraksi selanjutnya di evaporasi dengan *rotary evaporator* dan penangas air sampai dihasilkan berat konstan.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan terhadap serbuk rumput laut kering, ekstrak dan fraksi-fraksi meliputi pemeriksaan golongan alkaloid, polifenolat, tanin, flavonoid, kuinon, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid, triterpenoid dan saponin.

1. Uji Alkaloid : Sampel dibasakan dengan amonia encer (10%), digerus dalam mortir, kemudian ditambahkan kloroform sambil terus digerus. Lapisan kloroform dipipet sambil disaring, kemudian ke dalamnya ditambahkan asam klorida 2 N. Campuran dikocok kuat-kuat hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan asam dipipet, kemudian dibagi menjadi 3 bagian dan diperlakukan sebagai berikut:
 - a. Filtrat 1 ditambahkan pereaksi Mayer, terjadinya kekeruhan atau endapan putih menunjukkan adanya alkaloid.
 - b. Filtrat 2 ditambahkan pereaksi Dragendorff, terjadinya endapan jingga kuning hingga coklat menunjukkan adanya alkaloid.
 - c. Filtrat 3 digunakan sebagai blanko.
2. Uji Fenolat : Ke dalam 2 mL sampel di tambahkan beberapa tetes larutan FeCl_3 1 % dan dilihat perubahan yang terjadi. Bila warna ekstrak berubah menjadi hijau, biru atau kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol.
3. Uji Tanin : ke dalam 2 mL sampel ditambahkan larutan gelatin 1 % adanya endapan putih menunjukkan adanya tannin.
4. Uji Flavanoid : ke dalam 2 mL sampel ditambahkan 0,1 Mg serbuk Mg, 1 mL HCl pekat dan 1 mL Amil Alkohol lalu dikocok kuat. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan adanya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan Amil Alkohol.
5. Uji Kuinon : ke dalam 2 mL sampel ditambahkan 3 mL KOH 5 %. Terbentuknya warna kuning hingga merah menunjukkan adanya golongan kuinon.
6. Uji monoterpenoid dan seskuiterpenoid : Sampel disari dengan eter, kemudian sari eter diuapkan hingga kering. Pada residu diteteskan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat atau vanillin-asam sulfat. Terbentuknya warna-warna menunjukkan adanya senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid.
7. Uji steroid-triterpenoid : Sampel disari dengan eter, kemudian diuapkan hingga kering. Pada residu diteteskan pereaksi Liebermann-Burchard. Terbentuknya warna ungu menunjukkan bahwa dalam simplisia terkandung senyawa kelompok triterpenoid, sedangkan bila terbentuk warna hijau-biru menunjukkan adanya senyawa kelompok steroid.
8. Uji saponin : Sampel dicampur dengan air dalam tabung reaksi dan dipanaskan beberapa saat di atas tangas air, kemudian disaring. Setelah dingin filtrat dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama kurang lebih 30 detik. Pembentukan busa setinggi sekurang-kurangnya 1 cm dan persisten selama beberapa menit serta tidak hilang pada penambahan 1 tetes asam klorida encer menunjukkan bahwa dalam simplisia terdapat saponin.

Pengujian anti agregasi platelet

Penyiapan zat uji

Bahan uji adalah ekstrak etanol konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$, 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, fraksi *n*-heksana 500 $\mu\text{g/mL}$, fraksi etil asetat 500 $\mu\text{g/mL}$, dan fraksi air 500 $\mu\text{g/mL}$ masing-masing 10 μL . *Platelet Rich Plasma* (PRP) homolog pengganti sampel digunakan sebagai kontrol negatif, dan asam asetil salisilat 80 $\mu\text{g/mL}$ digunakan sebagai kontrol positif masing-masing dilarutkan dalam DMSO 1 % dan disimpan pada suhu -20°C sebelum digunakan.

Penyiapan sampel darah

Darah vena diambil dari tiga orang pendonor sebanyak 40 mL, ditambah natrium sitrat 3,8 % dengan perbandingan 9 :1. Pendonor diharuskan puasa 8 jam sebelum dilakukan pengambilan darah.

Penyiapan *Platelet Rich Plasma* (PRP) dan *Platelet Poor Plasma* (PPP)

Darah ditambah Na.sitrat 3,8% disentrifugasi dengan kecepatan 1000-1500 rpm selama 10-15 menit pada suhu kamar, supernatan dipindahkan sebagai *Platelet Rich Plasma* (PRP), kemudian residu darah-sitrat disentrifugasi lagi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10-15 menit untuk memperoleh *Platelet Poor Plasma* (PPP).

Pengukuran agregasi platelet

Uji aktivitas anti agregasi platelet dilakukan secara *in vitro*. Analisa antiagregasi platelet dilakukan berdasarkan metode Born. Prinsip pengukuran agregasi platelet adalah berdasarkan perubahan transmisi cahaya. Sebelum penambahan agregator, transmisi cahaya yang melalui PRP terendah karena platelet tersuspensi dalam PRP. Setelah penambahan agregator (ADP), platelet akan beragregasi dan mengendap hingga plasma menjadi jernih dan transmisi cahaya akan meningkat. Alat yang digunakan untuk mengukur agregasi ini adalah agregator merk Helena PACKS-4. Prosedur pengukuran aktivitas antiagregasi platelet adalah sebagai berikut :

- 500 μ L PRP dalam kuvet silicon yang berdiameter 8 mm dan tinggi 50 mm dimasukkan ke dalam lubang penganalisis optis (*optical chamber*) untuk menetapkan 100 % agregasi (PPP 0 % agregasi).
- Dimasukkan 10 μ L sampel (ekstrak/ fraksi) dalam kuvet analisis yang lain dengan berbagai konsentrasi, kemudian ditambahkan 440 μ L PRP, masukkan pula *magnetic stirrer* ke dalam kuvet analisis, kemudian di inkubasi pada suhu 37⁰ C selama 3-5 menit. Sebagai blangko digunakan 10 μ L PRP homolog untuk pengganti sampel. Ditambahkan 50 μ L senyawa penginduksi ADP sehingga volume akhir masing-masing 500 μ L.
- Setelah 5 menit diperoleh kurva pada kertas rekaman yang mencantumkan data agregasi maksimum dan waktu yang dibutuhkan untuk mencapai agregasi maksimum.

Hasil dan Pembahasan

Pengumpulan, Determinasi dan Pengolahan Bahan

Pemastian identitas bahan penelitian dilakukan melalui determinasi tumbuhan di Pusat Oseanografi LIPI, Jakarta dan diketahui bahwa tumbuhan tersebut masuk ke dalam divisi Phaeophyta, kelas Phaeophyceae, bangsa Fucales, suku *Sargassum* dan jenis *Sargassum duplicatum* J.G. Agardh atau *Sargassum cristaefolium* C.A. Agardh.

Rumput laut yang diambil merupakan rumput laut segar dari seluruh bagian tanaman yang diperoleh dari Pantai Menganti, Kebumen, Jawa Tengah. Pembersihan dilakukan dengan air tawar mengalir agar saat proses ekstraksi pengotor seperti epifit, garam, pasir dan lumpur tidak terbawa. Pengeringan dilakukan dengan cara di angin-anginkan terlindung dari sinar matahari langsung bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan bioaktif karena panas. Proses selanjutnya adalah rumput laut yang telah kering dihaluskan dengan alat penggiling dengan tujuan membantu meningkatkan luas permukaan yang bersentuhan dengan cairan penyari, sehingga diperoleh hasil ekstraksi yang maksimal.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode yang digunakan untuk melakukan ekstraksi *Sargassum duplicatum* adalah maserasi. Metode ini dipilih karena menggunakan peralatan yang sederhana, mudah

dilakukan dan dapat mengekstraksi senyawa-senyawa yang sifatnya termolabil. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam. Sebanyak 1,9 kg rumput laut *Sargassum duplicatum* kering yang telah dihaluskan sebelumnya diekstraksi dengan cara dingin yaitu maserasi dengan menggunakan etanol 95 % sebanyak 1500 mL sebagai larutan penyari. Etanol merupakan pelarut yang baik untuk ekstraksi bersifat polar dan dapat melarutkan banyak senyawa, tidak beracun atau relatif aman, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit serta dapat mencegah pertumbuhan kapang dan bakteri.

Pemekatan Ekstrak dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50⁰ C dan putaran 40 rpm. Proses pemutaran dilakukan agar penguapan berlangsung lebih cepat sehingga luas permukaan penguapan semakin besar. Penguapan dilanjutkan diatas penangas air sehingga diperoleh ekstrak kental dengan berat konstan dan dihitung rendemen nya. Hasil ekstraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*

Berat serbuk kering	Berat ekstrak etanol kental	Rendaemen
1,9 kg	58,5 g	3,07 %

Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair menurut tingkat kepolaran nya yaitu *n*-heksan, etil asetat dan air. Berat ekstrak yang di fraksinasi adalah 40 g. masing-masing fraksi di uapkan dengan *rotary evaporator* dan dikeringkan dengan penangas air sampai diperoleh bobot tetap. Hasil rendemen fraksinasi dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Rendemen Fraksi Rumput Laut *Sargassum duplicatum*

Fraksi	Berat Fraksi kental	Rendemen
<i>n</i> - heksan	8,75 g	21,875 %
Etil asetat	3,35 g	8,375 %
Air	26, 26 g	65,65 %

Uji Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap serbuk simplisia, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air *Sargassum duplicatum*. Meliputi pemeriksaan terhadap golongan alkaloid, flavonoid, polifenolat, tanin, monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid, triterpenoid, kuinon dan saponin. Hasil penapisan fitokimia dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan	Serbuk kering	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Alkaloid					
• Pereaksi mayer	-	-	-	-	-
• Pereaksi dragendrof	-	-	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+	+
Polifenol	-	-	-	-	-
Tanin	-	-	-	-	-

Monoterpenoid dan seskuiterpenoid	+	+	+	+	-
Steroid	+	+	+	+	-
Triterpenoid	-	-	-	-	-
Kuinon	+	+	+	-	-
Saponin	-	-	-	-	-

Keterangan :

(+) : terdeteksi (-) : tidak terdeteksi

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen bioaktif yang terkandung didalamnya sehingga menjadi gambaran umum mengenai senyawa yang dikandungnya dan dijadikan acuan untuk langkah selanjutnya. Dari hasil uji fitokimia diketahui bahwa simplisia, ekstrak dan fraksi *n*-heksan *Sargassum duplicatum* mengandung senyawa flavonoid, Monoterpenoid, seskuiterpenoid, steroid dan kuinon. Fraksi etil asetat mengandung flavonoid, monoterpenoid dan seskuiterpenoid, sementara fraksi air hanya terdeteksi flavonoid.

Pengujian Antiagregasi Platelet Ekstrak dan Fraksi

Aktivitas antiagregasi platelet merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menghambat terjadinya agregasi platelet, hasil pengujian aktivitas dinyatakan dalam agregasi maksimum. Agregasi maksimum ekstrak dan fraksi rumput laut *Sargassum duplicatum* diperoleh dengan mengukur *Platelet Rich Plasma* (PRP) yang ditambahkan 10 μ L *Adenosine DiPhosphat* (ADP) sebagai penginduksi. Peningkatan aktivitas antiagregasi platelet ditunjukkan dengan semakin kecil persentase agregasi maksimum.

Pengujian aktivitas antiagregasi platelet ekstrak dan fraksi rumput laut *Sargassum duplicatum* dilakukan dengan metode Born, yaitu berdasarkan perubahan transmisi cahaya. *Platelet Rich Plasma* (PRP) diinkubasi pada suhu 37⁰C dan diaduk dengan *magnetic stirrer* kemudian ditambah penginduksi, maka platelet akan beragregasi sehingga transmisi cahaya yang melalui PRP meningkat. *Platelet Poor Plasma* (PPP) digunakan untuk menetapkan 100 % agregasi dan blangko. Pengujian dilakukan di Laboratorium Hematologi, Patologi Klinik RS Hasan Sadikin-Bandung.

Kurva agregasi yang mencantumkan waktu dan % agregasi maksimum didapat setelah penambahan penginduksi. Alat yang digunakan dalam pengukuran ini adalah agregometer HELENA PACKS 4.

Tabel 4. Data Hasil Pemeriksaan Agregasi Trombosit *Sargassum duplicatum*

Perlakuan	Kontrol	Kontrol	Ekstrak	Ekstrak	Ekstrak	Fraksi	Fraksi	Fraksi
	-	+	1	2	3	1	2	3
Pasien 1	81.8	34.6	69.7	69.7	77.6	40.2	50.2	84.1
	71.1	37.8	79.2	79.7	53.9	33.9	44.8	77.9
	83.8	40.8	79.7	81.8	79.5	39.4	42.5	79.7
rata-rata	78.90	37.73	76.20	77.07	70.33	37.83	45.83	80.57
Pasien 2	93.9	58.2	88.7	87.9	90.1	48.9	31.8	93.5
	97.8	53.8	88.9	89.1	87.5	44.5	32.5	92.6
	96.4	58.9	87.4	82.0	86.0	43.1	30.2	91.0
rata-rata	96.03	56.97	88.33	86.33	87.87	45.50	31.50	92.37

Pasien 3	87.2	44.6	87.2	85.3	80.4	35.4	49.7	96.6
	93.0	35.4	89.0	81.4	66.8	31.3	49.1	92.3
	86.9	43.8	85.0	81.4	77.9	35.6	48.5	96.5
rata-rata	89.03	41.27	87.07	82.70	75.03	34.10	49.10	95.13
rata-rata total	87.99	45.32	83.87	82.03	77.74	39.14	42.14	89.36

Keterangan :

Kontrol (-) : *Platelet Poor Plasma*

Kontrol (+) : Asam asetil salisilat 80 µg/mL

Ekstrak 1 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 125 µg/mL

Ekstrak 1 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL

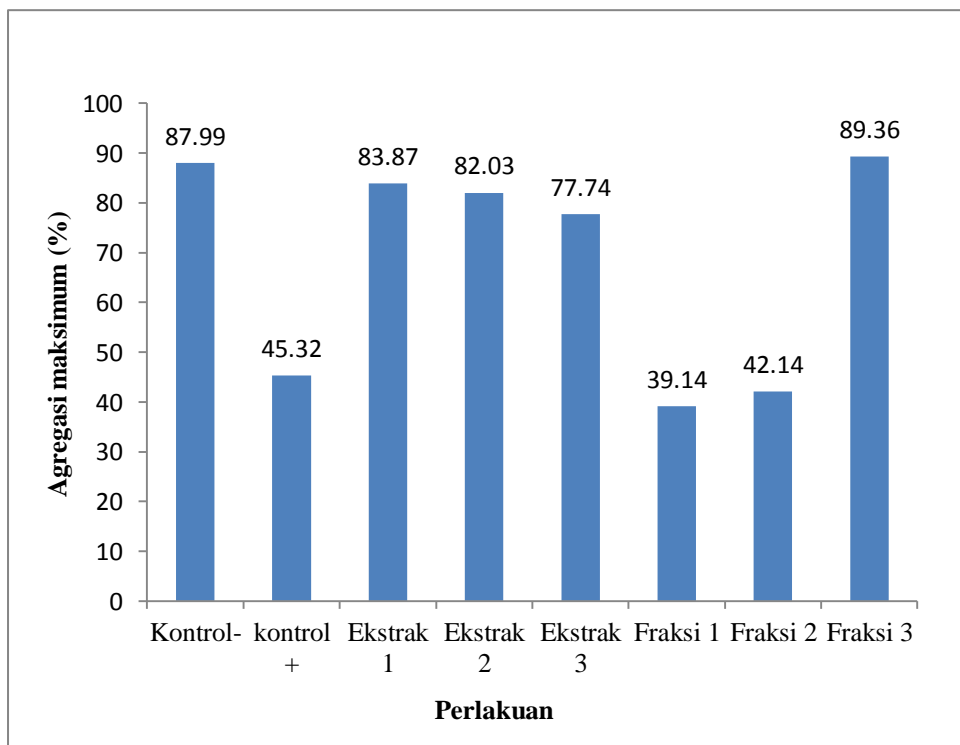
Ekstrak 1 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL

Fraksi 1 : Fraksi *n*-heksan *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Fraksi 2 : Fraksi etil asetat *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Fraksi 3 : Fraksi air *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Metode Analisis yang digunakan adalah Analisis Varians (ANOVA), untuk melihat perbedaan agregasi maksimum ke-8 perlakuan digunakan desain acak sempurna dengan model subsampling. Gambar 1 memperlihatkan pengaruh ke-8 perlakuan ekstrak dan fraksi rumput laut *Sargassum duplicatum* berupa nilai rata-rata agregasi maksimum (%) setiap perlakuan.



Gambar 1. Diagram batang rata-rata agregasi maksimum (%)

Keterangan :

- Kontrol (-) : *Platelet Poor Plasma*
 Kontrol (+) : Asam asetil salisilat 80 µg/mL
 Ekstrak 1 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 125 µg/mL
 Ekstrak 2 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL
 Ekstrak 3 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL
 Fraksi 1 : Fraksi *n*-heksan *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL
 Fraksi 2 : Fraksi etil asetat *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL
 Fraksi 3 : Fraksi air *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Agregasi maksimum kontrol negatif mempunyai nilai yang paling besar dibandingkan dengan perlakuan lain karena kontrol negatif hanya diberi perlakuan dengan menambahkan 10 µL *Platelet Poor Plasma* (PPP). Nilai agregasi maksimum kontrol negatif pada penginduksi *Adenosine diphosphat* (ADP) 10 µM memberikan nilai rata-rata agregasi maksimum sebesar 87,99 %.

Agregasi maksimum kontrol positif diberi perlakuan asam asetil salisilat 80 µg/mL. Dosis ini dikonversi dari dosis asam salisilat yang digunakan sebagai antiagregasi platelet pada penyakit yang disebabkan penyumbatan pembuluh darah yaitu 80 mg. Nilai agregasi maksimum kontrol positif pada penginduksi ADP 10 µM, memberikan nilai rata-rata agregasi maksimum sebesar 45,32 %.

Asam asetil salisilat dosis kecil diketahui dapat menghambat agregasi platelet dengan menghambat enzim siklooksigenase tipe satu yang berperan dalam pembentukan tromboksan A₂. Sedangkan pada dosis besar tidak efektif karena dapat menghambat produksi vasodilator seperti prostasiklin (Goodman A, *et al.*, 2001).

Hasil agregasi maksimum ekstrak *S. duplicatum* 125 µg/mL, ekstrak *S. duplicatum* 250 µg/mL, ekstrak *S. duplicatum* 500 µg/mL, fraksi *n*-heksan *S. duplicatum* 500 µg/mL, fraksi etil asetat *S. duplicatum* 500 µg/mL dan fraksi air *S. duplicatum* 500 µg/mL dengan penginduksi ADP 10 µM berturut turut sebesar 83,87 %, 82,03 %, 77,74 %, 39,14 %, 42,14 % dan 89, 36 %.

Nilai agregasi maksimum dari setiap perlakuan kemudian dihitung secara statistik dengan analisis varians untuk melihat perbedaan agregasi maksimum setiap perlakuan. Hasil analisis varians dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Daftar Analisis Varians

Sumber Variasi	dk	JK	KT	F-hitung	F-tabel
Rata-rata	1	337348.98	337348.98		
Perlakuan	7	30717.62667	4388.232381	68.422	2.1564
Kekeliruan eksperimen	48	4104.613	64.135		
Jumlah	72	3327,640			

Dari hasil perhitungan analisis varians didapatkan $F_{hitung} > F_{tabel}$, hal ini berarti terdapat perbedaan agregasi maksimum yang signifikan dengan taraf signifikan 5 % pada ke-8 jenis perlakuan. Ini menunjukkan bahwa hipotesis nol ditolak, sehingga dapat disimpulkan bahwa ke-8 perlakuan tersebut telah memberikan pengaruh yang berbeda terhadap agregasi maksimum.

Untuk mengetahui perlakuan yang memberikan hasil terbaik dan perbedaan antar perlakuan maka dilakukan uji lanjut yaitu uji rentang Newman-Keuls pada setiap dosis

ekstrak, fraksi-fraksi *Sargassum duplicatum* dan kontrol positif terhadap kontrol negatif. Tabel 6. Memerlihatkan hasil uji Rentang Newman-Keuls.

Tabel 6. Hasil uji Rentang Newman-Keuls Ekstrak, Fraksi dan Kontrol positif terhadap Kontrol Negatif.

Perlakuan	Beda Dua Rata-Rata	RST	Kesimpulan
kontrol negatif & kontrol positif	42.7	10.624	beda
kontrol negatif & ekstrak 1	4.1	7.555	sama
kontrol negatif & ekstrak 2	6.0	9.076	sama
kontrol negatif & ekstrak 3	10.2	9.984	beda
kontrol negatif & fraksi 1	48.8	11.505	beda
kontrol negatif & fraksi 2	45.8	11.105	beda
kontrol negatif & fraksi 3	1.4	7.555	sama

Dari tabel 6 dapat dilihat bahwa beda rata-rata kontrol negatif terhadap kontrol positif, kontrol negatif terhadap ekstrak 1, kontrol negatif terhadap fraksi 1 dan kontrol negatif terhadap fraksi 2 lebih besar (>) daripada nilai Rentang Signifikan Terkecil (RST) sedangkan beda rata-rata kontrol negatif terhadap ekstrak 1, kontrol negatif terhadap ekstrak 2 dan kontrol negatif terhadap fraksi 3 lebih kecil (<) daripada nilai RST, dengan taraf signifikansi 5% maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan kontrol negatif memberikan efek yang berbeda secara statistik dengan perlakuan kontrol positif, ekstrak 3, fraksi 1 dan fraksi 2 terhadap hasil % agregasi maksimum dan memberikan efek yang sama terhadap jenis perlakuan lainnya.

Hasil uji rentang Newman-Keuls pada setiap dosis ekstrak dan fraksi-fraksi *Sargassum duplicatum* terhadap kontrol positif dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dibandingkan dengan kontrol positif, dapat dilihat pada tabel 7.

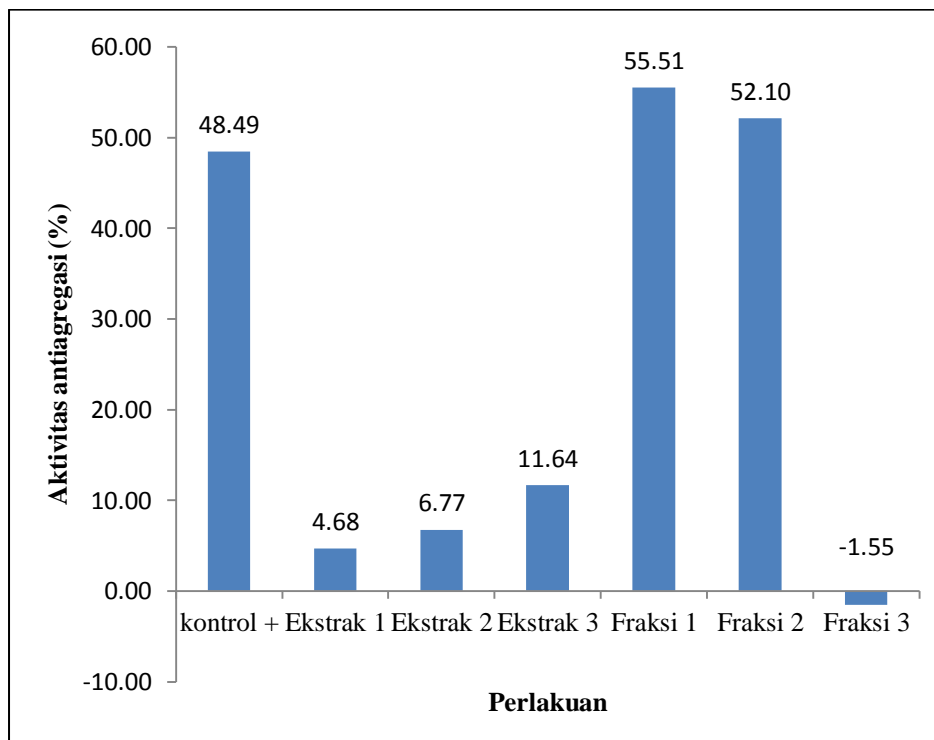
Tabel 7 Hasil uji Rentang Newman-Keuls Ekstrak dan Fraksi-Fraksi *Sargassum duplicatum* terhadap Kontrol Positif

Perlakuan	Beda Dua Rata-Rata	RST	Kesimpulan
kontrol positif & ekstrak 1	38.5	9.984	beda
kontrol positif & ekstrak 2	36.7	9.076	beda
kontrol positif & ekstrak 3	32.4	7.555	beda
kontrol positif & fraksi 1	6.2	9.076	sama
kontrol positif & fraksi 2	3.2	7.555	sama
kontrol positif & fraksi 3	44.0	11.105	beda

Dari tabel 7 dapat dilihat bahwa beda rata-rata kontrol positif terhadap fraksi 1 dan kontrol positif terhadap fraksi 2 lebih kecil (<) daripada nilai RST sedangkan beda rata-

rata kontrol positif terhadap ekstrak 1, kontrol positif terhadap ekstrak 2, kontrol positif terhadap ekstrak 3 dan kontrol positif terhadap fraksi 3 lebih kecil (>) daripada nilai RST, dengan taraf signifikansi 5% maka dapat disimpulkan bahwa perlakuan kontrol positif memberikan efek yang sama secara statistik dengan perlakuan fraksi 1 dan fraksi 2 terhadap hasil % agregasi maksimum dan memberikan efek yang berbeda terhadap jenis perlakuan lainnya.

Berdasarkan data-data tersebut dapat dihitung nilai persentase antiagregasi platelet tiap-tiap perlakuan dengan cara menghitung selisih nilai agregasi maksimum tiap perlakuan dengan kontrol negatif dibagi nilai agregasi maksimum kontrol negatif dikali 100 %. Gambar 2 memperlihatkan nilai persentase antiagregasi platelet masing-masing perlakuan.



Gambar 2 Diagram batang persentase aktivitas antiagregasi platelet dibandingkan dengan kontrol negatif (%)

Keterangan :

Kontrol (-) : *Platelet Poor Plasma*

Kontrol (+) : Asam asetil salisilat 80 µg/mL

Ekstrak 1 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 125 µg/mL

Ekstrak 2 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL

Ekstrak 3 : Ekstrak *Sargassum duplicatum* 250 µg/mL

Fraksi 1 : Fraksi *n*-heksan *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Fraksi 2 : Fraksi etil asetat *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Fraksi 3 : Fraksi air *Sargassum duplicatum* 500 µg/mL

Berdasarkan gambar 2 ekstrak *Sargassum duplicatum* memberikan nilai persentase antiagregasi platelet yang semakin meningkat seiring bertambahnya dosis walaupun relatif

kecil. Nilai aktivitas antiagregasi ekstrak konsentrasi 125 µg/mL, 250 µg/mL dan 500 µg/mL berturut-turut sebesar 4,68 %, 6,77 %, 11,64 %.

Nilai antiagregasi trombosit fraksi-fraksi *Sargassum duplicatum* yang paling optimal ditunjukkan pada fraksi 1, yaitu fraksi *n*-heksan dosis 500 µg/mL sebesar 55,51 % dan fraksi 2 yaitu fraksi etil asetat 500 µg/mL sebesar 52,10 %, lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif asam asetil salisilat 80 µg/mL yaitu 48,49 %, yang dapat disimpulkan bahwa kedua fraksi tersebut memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai obat antiagregasi platelet. Sementara fraksi 3 yaitu fraksi air cenderung meningkatkan agregasi trombosit yang ditunjukkan dengan nilai penghambatan sebesar -1,55 %.

Aktivitas antiagregasi platelet *Sargassum duplicatum* diduga karena adanya kandungan senyawa golongan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang dapat mencegah berbagai macam tingkatan pembentukan arteriosklerosis, kerusakan endotel, aktivasi leukosit, adhesi, agregasi dan sekresi platelet (Koshi *et al.*, 2000). Flavonoid juga mempunyai aktivitas antitrombotik (Ganapati *et al.*, 2007). Senyawa flavonoid mencegah terjadinya agregasi platelet dengan cara menghambat aktivitas enzim siklooksigenase sehingga sintesis tromboksan A₂ akan berkurang, menghambat enzim fosfodiesterase yang mempengaruhi cAMP dan cGMP (*Cyclic Adenosine Monophosphate*) dan *Cyclic Guanosine Monophosphat*) dan menghambat imobilisasi intracelluler Ca²⁺. (Garcia *et al.*, 1997; Bucki *et al.*, 2003). Penelitian yang dilakukan

Kesimpulan

Rumpul laut coklat jenis *Sargassum duplicatum* mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai obat anti agregasi platelet, dengan fraksi *n*-heksan yang mempunyai aktivitas tertinggi.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada LPDP (lembaga pengelola dana pendidikan) Kementerian Keuangan yang telah membantu dalam pembiayaan penelitian ini. Selain itu, penulis juga menyampaikan terimakasih kepada seluruh staf laboratorium Hematologi, Patologi Klinik Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung yang telah membantu dalam proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiwijawa JA, 2011. Efek dan Resistansi Clopidogrel pada Sindrom Koroner Akut. *Medika Jurnal Kedokteran Indonesia*. Edisi No 05 Vol XXXVII – 2011.
- Anggadiredja, T., Zatznika, A., Purwoto, H., dan Istini, S, 2006. *Rumput Laut*. Jakarta: Penebar Swadaya : 26-38.
- Bucki R, Pastore JJ, Giraud F, Sulpice JC, Janmey PA., 2003. Flavonoid Inhibition of Platelet Procoagulant Activity and Phosphoinositide Synthesis. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*: (1): 8.
- Boonchum, W., Peerapornpisal Y, Kanjanapothi D., Pekkoh J., Amornlerdpison D., Pumas C, Sangpaiboon P. and Vacharapiyasophon P., 2011. Antimicrobial and anti-inflammatory properties of various seaweeds from the gulf of Thailand. *Int. J. Agric. Biol.* (13): 100–104.
- Departemen Kesehatan republik Indonesia. 2007. Laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007.
- Ganapaty S., Chandrashekhar V.M., Chitme H.R., Narsu M.L. 2007. Free Radical Scavenging Activity of Gossypin and Nevadensin: An in-vitro Evaluation. *Indian Journal of Pharmacology*,(6): 39
- Garcia OB, Castillo J, Marin FR, Ortuno A, Del Rio JA., 1997. Uses and Properties of Citrus Flavonoid (Review). *J. Agric and Food Chem* 45
- Ghosh, P., Adhikari U., Ghosal P.K., Pujol C.A., Carlucci M.J., Damonte E.B. and Ray B., 2004. *In vitro* anti-herpetic activity of sulfated polysaccharide fractions from *Caulerpa racemosa*. *J. of Phytochemistry* : 65.
- Goodman L.S *et al.*, 2001. *Pharmacological Basic of Therapeutics 10th Edition*. New York : McGraw-Hill. 1521.
- Hellums DJ, Schaffer Al, Kroll MH, Moake J. 2012. Arhterial Thrombosis. Melalui <<http://www.biorice.edu/>> Agustus 2012.
- Indriyani, H dan Sumiarsih E. 2001. *Budidaya, Pengolahan, dan Pemasaran Rumput Laut*. Jakarta : Penebar Swadaya. 99.

- Kadi, 2005. Beberapa catatan kehadiran marga *Sargassum* di perairan Indonesia. *J.Oseana*, Volume XXX, Nomor (4): 19 - 29
- Keusgen M, K W Glombitza; S Hauperich, 1997. Phlorotannins from the brown algae *Cystophora torulosa* and *Sargassum spinuligerum*. *J.Natural toxin*.
- Komari, A. Lamidand Muhilal. 1997. Bioactive Compounds from Macroalgae for Inhibitor of Platelet Aggregation. *Indon.Biotech.Conf* : 17- 19.
- Koshy, Asha Sarah., L. Anila, N.R. Vijayalakshmi. 2000. Flavonoids from *Garcinia Cambogia* lower lipid level in hypercholesterolemic rats. *Food Chemistry*, (72): 289-94
- Manivannan K, Karthikai devi G, Anantharaman P, Balasubramanian T. 2011. Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. *India Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* : 114-120.
- Nusirwan Acang. 2006. *Pemakaian dan Pemantauan Obat-obatan Antitrombosis*. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jilid 2. Edisi 4. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam FK-UI : 795.
- WHO, 2012. *Cardiovascular disease (CVDs)* melalui <<http://www.who.int/>>. Diakses 3 September 2012.