

SKRIPSI

UJI AKTIVITAS ANTIAGREGASI PLATELET ISOLAT SENYAWA DARI ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SECARA IN VITRO

IN VITRO ANTI-PLATELET AGGREGATION ASSAY FROM BROWN ALGAE (*Sargassum polycystum*) ISOLATED COMPOUNDS

Disusun dan diajukan oleh

AMELIA HORAS

N011 17 1303



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIAGREGASI PLATELET ISOLAT SENYAWA DARI
ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SECARA IN VITRO**

**IN VITRO ANTI-PLATELET AGGREGATION ASSAY FROM BROWN
ALGAE (*Sargassum polycystum*) ISOLATED COMPOUNDS**

SKRIPSI

untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana

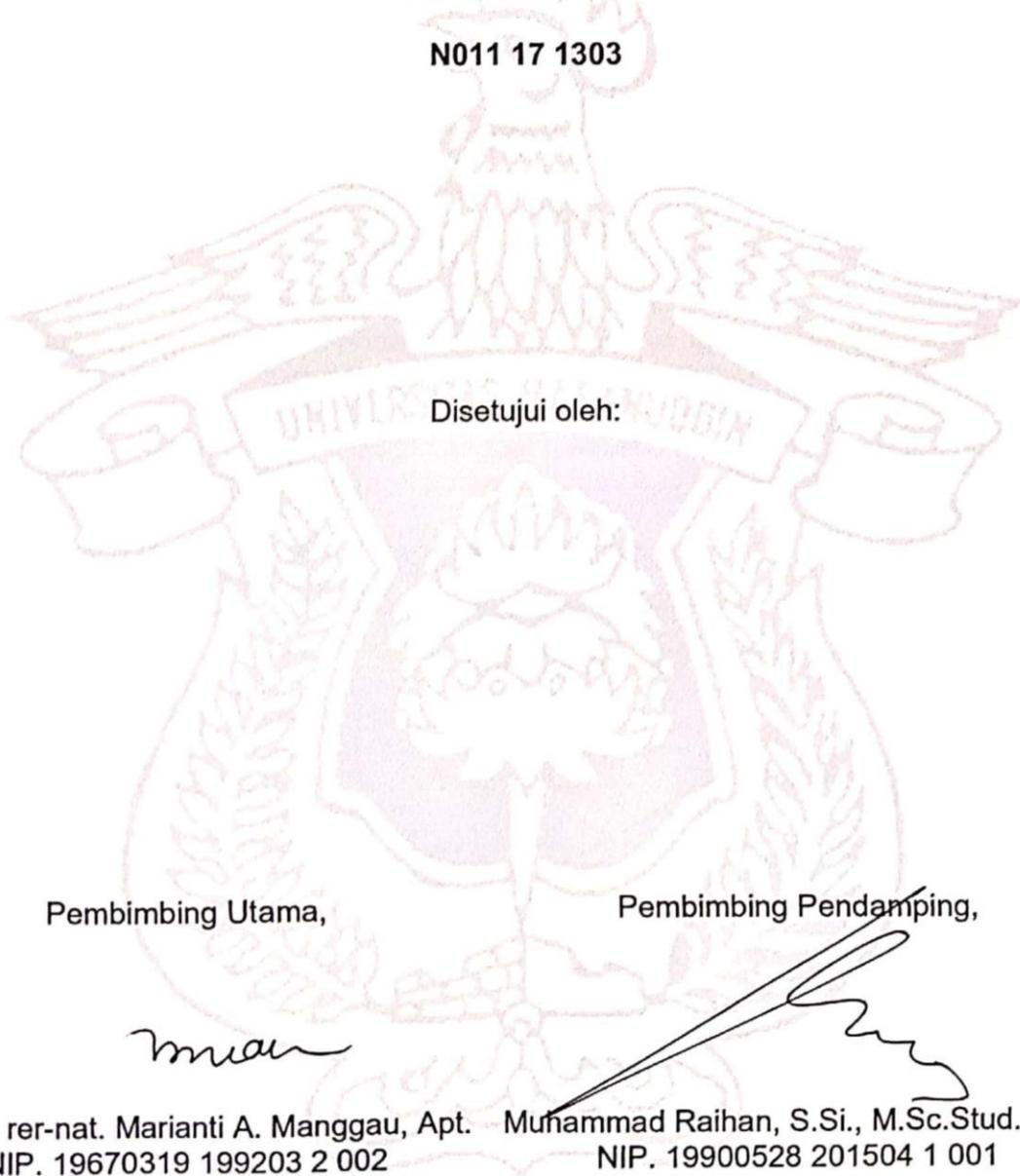
**AMELIA HORAS
N011 17 1303**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

**UJI AKTIVITAS ANTIAGREGASI PLATELET ISOLAT SENYAWA DARI
ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SECARA IN VITRO**

AMELIA HORAS

N011 17 1303



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

mua

[Handwritten signature]

Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001

Pada tanggal 20 Mei 2021

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIAGREGASI PLATELET ISOLAT SENYAWA DARI
ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SECARA IN VITRO**

**IN VITRO ANTI-PLATELET AGGREGATION ASSAY FROM BROWN
ALGAE (*Sargassum polycystum*) ISOLATED COMPOUNDS**

Disusun dan diajukan oleh

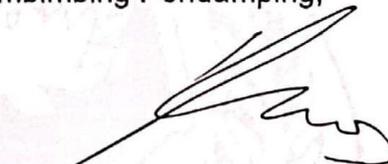
**AMELIA HORAS
N011 17 1303**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Farmasi Fakultas
Farmasi Universitas Hasanuddin
pada tanggal 4 Mei 2021,
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt.
NIP. 19900528 201504 1 001



Ketua Program Studi,

Prof. Dr. rer-nat. Marianti A. Manggau, Apt.
NIP. 19670319 199203 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Amelia Horas
NIM : N011171303
Program Studi : Farmasi
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul Uji Aktivitas Antiagregasi Platelet Isolat Senyawa Dari Alga Coklat (*Sargassum polycystum*) Secara In Vitro adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila di kemudian hari Skripsi karya saya ini terbukti bahwa sebagian atau keseluruhannya adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 20 Mei 2021
Yang menyatakan



(Amelia Horas)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas berkat rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.

Penulisan skripsi ini memiliki banyak kendala dan hambatan selama proses penyelesaiannya, tetapi berkat dukungan serta bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Tak lupa juga penulis mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada

1. Ibu Prof. Dr. rer.nat. Marianti A. Manggau, Apt. sebagai pembimbing utama dan Bapak Muhammad Raihan, S.Si., M.Sc.Stud., Apt. sebagai pembimbing pendamping yang telah sabar dan banyak meluangkan waktu serta membantu peneliti hingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Dekan, Wakil Dekan serta Staf Dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan dan ilmu yang telah diberikan hingga dapat menyelesaikan program studi sarjana.
3. Bapak Muhammad Akbar Bahar, S.Si., M.Pharm.Sc., Apt. dan Ibu Suhartina Hamzah, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan arahan dalam kelancaran proses penelitian ini.
4. Seluruh Laboran Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang membantu dalam proses pengerjaan penelitian.

5. Tante Meny Kabo dan kakak Dr. dr. Nella Suhuyanly, Sp. PD-KGEH sekeluarga yang telah banyak membantu dan memberi semangat kepada peneliti mulai dari awal hingga selesainya program studi sarjana.
6. Tim antiagregasi selaku mitra penelitian yang banyak membantu dalam memberi dukungan dan arahan hingga selesainya penelitian ini.
7. Sahabat SMA Zion, Clostridium yang memberikan dukungan, semangat dan motivasi berjuang dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis juga mengucapkan rasa syukur dan terima kasih kepada kedua orang tua penulis yang saya cintai dan hormati Ayahanda James Horas dan Ibunda Ratna Widono yang telah banyak memberikan dukungan baik moral dan moril, doa, nasihat, motivasi dan semangat dalam menyelesaikan program studi sarjana.

Demikian ungkapan terima kasih penulis untuk semua pihak yang telah berperan dalam proses pembuatan skripsi ini. Penulis berharap melalui skripsi ini dapat membantu menambah ilmu dan pengetahuan bagi pembaca dan orang di sekitarnya.

Makassar, Mei 2021

Amelia Horas

ABSTRAK

AMELIA HORAS. *UJI AKTIVITAS ANTIAGREGASI PLATELET ISOLAT SENYAWA DARI ALGA COKLAT (*Sargassum polycystum*) SECARA IN VITRO.* (Dibimbing oleh Marianti A. Manggau dan Muhammad Raihan)

Agregasi platelet menjadi salah satu permasalahan dalam dunia farmakologi dan umumnya pengobatan dilakukan dengan menggunakan obat sintetik aspirin namun efek samping yang ditimbulkan dapat berupa gangguan gastrointestinal hingga perdarahan. Komponen metabolit flavonoid yang terdapat *Sargassum* sp. diyakini memiliki aktivitas antiagregasi platelet melalui penghambatannya pada tromboksan A₂. Tujuan dari penelitian ini untuk menguji aktivitas isolat senyawa alga coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai antiagregasi platelet. Metode penelitian yang digunakan adalah mengisolasi senyawa target pada *Sargassum polycystum* kemudian senyawa isolat diujikan pada berbagai rentang konsentrasi secara in vitro menggunakan darah probandus (PRP) dan induktor ADP pada instrumen spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen isolat dari fraksi metanol *Sargassum polycystum* diduga mengandung komponen senyawa flavonoid. Isolat ini pada konsentrasi 10 ppm, 25 ppm, 62,5 ppm menunjukkan persen agregasi platelet sebesar $15.778 \pm 0.424\%$, $16.829 \pm 0.788\%$, $16.021 \pm 0.588\%$ dan dibandingkan dengan aspirin sebagai kontrol positif sebesar $8.662 \pm 1.413\%$ dan kontrol negatif sebesar $54.657 \pm 12.330\%$. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolat senyawa alga coklat (*Sargassum polycystum*) memiliki aktivitas sebagai antiagregasi platelet sebanding dengan aspirin.

Kata kunci : Antiagregasi platelet, In vitro, Isolat fraksi metanol, *Sargassum polycystum*.

ABSTRACT

AMELIA HORAS. *IN VITRO ANTI-PLATELET AGGREGATION ASSAY FROM BROWN ALGAE (*Sargassum polycystum*) ISOLATED COMPOUNDS.* (Supervised by Marianti A. Manggau and Muhammad Raihan)

Platelet aggregation is one of the problems in pharmacology. Generally, the treatment is carried out using synthetic aspirin, but the side effects can range from gastrointestinal disturbances to bleeding. The components of the flavonoid metabolites found in *Sargassum* sp. are believed to have a platelet antiaggregation activity through the inhibition of thromboxane A_2 . This research aimed to examine the activity of brown algae (*Sargassum polycystum*) compound isolates as platelet antiaggregation. The flavonoid metabolites were isolated from *Sargassum polycystum* and then were tested in vitro at various concentration ranges using human blood (PRP) and ADP. Antiplatelet aggregation activity of the isolates were measured using a UV-Vis spectrophotometer instrument. The result showed that the isolate components from the methanol fraction of *Sargassum polycystum* were thought to contain flavonoid compounds. These isolates at concentrations of 10 ppm, 25 ppm, 62,5 ppm showed percent platelet aggregation of $15.778 \pm 0.424\%$, $16.829 \pm 0.788\%$, and $16.021 \pm 0.588\%$ compared to aspirin as a positive control of $8.662 \pm 1.413\%$ and a negative control of $54.657 \pm 12.330\%$. From this research, it can be concluded that the compound of brown algae (*Sargassum polycystum*) has an activity as platelet antiaggregation comparable, which is not significantly different to aspirin.

Keywords : Antiaggregation platelet, In vitro, Methanol fraction isolate, *Sargassum polycystum*.

DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Alga Coklat (<i>Sargassum</i> sp.)	4
II.1.1 Uraian Umum Alga Coklat.....	4
II.1.2 Uraian Umum <i>Sargassum polycystum</i>	5
II.1.3 Kandungan Alga Coklat	6
II.1.4 Kegunaan Alga Coklat	6
II.2 Isolasi dan Identifikasi Flavonoid	7

II.2.1 Definisi Umum	7
II.2.2 Klasifikasi Flavonoid	8
II.2.3 Kegunaan Flavonoid	12
II.2.4 Isolasi Flavonoid	15
II.2.5 Identifikasi Flavonoid	16
II.3 Agregasi Platelet.....	18
II.4 Antiagregasi Platelet.....	20
II.4.1 Obat yang Menginduksi Antiagregasi Platelet	20
II.4.2 Metode Pengukuran Antiagregasi Platelet	25
BAB III METODE PENELITIAN.....	27
III.1 Alat dan Bahan	27
III.2 Cara Kerja	27
III.2.1 Penyiapan Sampel.....	27
III.2.2 Metode Ekstraksi	28
III.2.3 Uji Skrining Fitokimia dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	28
III.2.4 Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum	29
III.2.5 Uji Identifikasi Golongan Senyawa.....	29
III.2.6 Permunian Isolat	30
III.2.7 Identifikasi Isolat	30
III.2.8 Uji Antiagregasi Platelet Secara In Vitro.....	31
III.2.9 Uji Analisis Statistika	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	34
IV.1 Hasil Ekstraksi.....	34

IV.2 Hasil Uji Skrining Fitokimia	35
IV.3 Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Fraksinasi dan Isolat	37
IV.4 Hasil Uji Aktivitas Antiagregasi Platelet Secara In Vitro	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	50
V.1 Kesimpulan	50
V.2 Saran	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Identifikasi Flavonoid dengan Sinar Tampak dan Ultraviolet	17
2. Farmakologi Obat	23
3. Metode Penilaian Efek Antiplatelet	25
4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak, Fraksi dan Isolat Dugaan Flavonoid	36
5. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Fraksinasi dan Isolat	37
6. Hasil Rerata Agregasi Platelet Menggunakan Kontrol Positif, Kontrol Negatif, Isolat Konsentrasi 62,5 ppm, Isolat Konsentrasi 25 ppm, Isolat Konsentrasi 10 ppm	46
7. Data Absorbansi Agregasi Platelet	63
8. Uji Normalitas Shapiro-Wilk	66
9. Uji Deskriptif One Way Anova	66
10. Uji One Way Anova	66
11. Uji Signifikansi Post-Hoc Tukey	67
12. Uji Signifikansi Tukey secara Keseluruhan	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. <i>Sargassum polycystum</i>	5
2. Struktur Dasar Flavonoid	7
3. Struktur Flavon	8
4. Struktur Flavonol	9
5. Struktur Flavanon	10
6. Struktur Flavanol	10
7. Struktur Antosianidin	11
8. Struktur Kalkon	11
9. Struktur Isoflavon	12
10. Mekanisme kerja obat antiplatelet golongan AINS dan abciximab	24
11. Mekanisme kerja obat antiplatelet klopidoogrel dan dipiridamol	24
12. Pengukuran nilai Rf ekstrak awal dan fraksinasi pada UV 254 nm (kiri) dan 366 nm (kanan)	35
13. Pengukuran nilai Rf isolat dugaan flavonoid pada UV 254 nm (kiri) Dan 366 nm (kanan)	35
14. Uji penyemprotan senyawa fraksinasi menggunakan beberapa reagen	37
15. Uji penyemprotan isolat menggunakan beberapa reagen	37
16. Reaksi flavonoid dan reagen sitroborat	40
17. Reaksi steroid dan reagen Lieberman-Burchard	41

18. Reaksi tanin dan reagen FeCl ₃	41
19. Reaksi alkaloid dan reagen Dragendorff	42
20. Hasil persen agregasi platelet dengan perlakuan yang diberikan pada darah probandus menggunakan kontrol positif, kontrol negatif, isolat konsentrasi 62,5 ppm, isolat konsentrasi 25 ppm, dan isolat konsentrasi 10 ppm	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	59
2. Skema Kerja Uji Aktivitas Antiagregasi Platelet	60
3. Prosedur Pembuatan Reagen	61
4. Perhitungan	62
5. Data Antiagregasi Platelet	63
6. Data Statistik	66
7. Dokumentasi Penelitian	68
8. Identifikasi Sampel	71
9. Rekomendasi Pembelian Darah dari PMI	72

DAFTAR SINGKATAN

ADP	: Adenosin Difosfat
AINS	: Anti-Inflamasi Non Steroid
COX	: Siklooksigenase
GF ₂₅₄	: Lempeng terbuat dari gipsum dan berfluorosensi pada panjang gelombang 254 nm
KLT	: Kromatografi Lapis Tipis
NaCl	: Natrium klorida
PGH ₂	: Prostaglandin H ₂
PGI ₂	: Prostrasiklin
PRP	: <i>Platelet Rich Plasma</i>
Rf	: <i>Retardation Factor</i>
Rpm	: Rotasi per menit
SD	: Standar Deviasi
TxA ₂	: Tromboksan A ₂
UV	: Ultraviolet
UV-Vis	: Ultraviolet-Visibel

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman hayati yang melimpah dan wilayah laut yang sangat luas (Kusmana dan Hikmat, 2015). Indonesia merupakan negara kepulauan yang memiliki yang luas terhadap budidaya alga (11.109 km²) (Heti dan Geldermann, 2017). Berdasarkan nutrisi, pigmen dan komponen kimianya, alga diklasifikasikan menjadi *Rhodophyta* (alga merah), *Phaeophyta* (alga coklat), dan *Chlorophyta* (alga hijau).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa marine memiliki komponen metabolit sekunder yang berperan dalam dunia farmasi, khususnya pada bidang farmakologi (Kathiravan *et al.*, 2015). Alga coklat (*Sargassum* sp.) yang kaya akan senyawa metabolit sekunder, seperti steroid, flavonoid, glikosida, alkaloid yang memiliki efek farmakologis terhadap penyakit tertentu (Pati *et al.*, 2016). Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas antiagregasi platelet yaitu flavonoid. Senyawa ini telah diteliti bahwa kandungan flavonoid yang terkandung dalam fraksi etil asetat alga coklat (*Sargassum* sp.) kebanyakan berupa isoflavon glikosida, seperti katekin dan kuersetin (Gazali *et al.*, 2018; Namvar *et al.*, 2013). Selain itu, senyawa yang terkandung pada fraksi metanol *Sargassum polycystum*, yaitu steroid, alkaloid, grup fenolik, glikosida jantung, flavonoid, saponin dan sterol (Johnson *et al.*, 2015).

Senyawa flavonoid dalam *Sargassum polycystum* diyakini dapat menghambat adhesi, agregasi dan aktivasi platelet. Flavonoid mampu berperan sebagai antiagregasi platelet karena flavonoid menghambat jalur pembentukan asam arakidonat melalui penghambatan sintesis tromboksan A₂ (Vallance *et al.*, 2019). Flavonoid juga berperan dalam menghambat aterosklerosis dan kerusakan endotelial. Hal ini dapat dibuktikan karena sudah terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa maserat alga coklat mampu bertindak dalam antiagregasi platelet (Kartiningsih *et al.*, 2018). Selain itu, penggunaan metode liofilisasi pada alga coklat juga berefek sebagai antiagregasi dan antikoagulan serta tidak menunjukkan efek samping gastritis (Manggau *et al.*, 2019).

Pembentukan agregasi platelet dipicu oleh adanya tromboksan A₂ yang dikatalisis oleh siklooksigenase (COX-1). Dalam penelitian ini, digunakan induktor agregasi platelet adenosin difosfat (ADP) yang memiliki mekanisme dalam menghidrolisis asam arakidonat dari fosfolipid yang kemudian mengalami konversi menjadi tromboksan A₂ melalui proses oksigenase (Ikawati, 2018; Jin Jian Guo *et al.*, 2002).

Selama ini, penggunaan obat sintetik yang sering digunakan sebagai pilihan utama antiagregasi platelet adalah aspirin. Mekanisme kerja dari obat aspirin yaitu mencegah menggumpalnya (*clotting*) darah dengan menghambat menghambat enzim siklooksigenase 1 (COX-1) yang memproduksi tromboksan A₂ tetapi memiliki efek samping yaitu gangguan pada saluran gastrointestinal dan juga menyebabkan pendarahan (Warner *et al.*, 2011).

Untuk meminimalisir efek samping dari obat sintetik, maka dilakukan pencarian senyawa baru yang berasal dari bahan alam khususnya alga coklat (*Sargassum polycystum*). Hingga saat ini belum diketahui jenis senyawa yang terdapat pada alga tersebut yang dapat menghambat agregasi platelet. Oleh sebab itu, telah dilakukan isolasi senyawa yang terkandung pada alga coklat (*Sargassum polycystum*) dan uji antiagregasi plateletnya secara in vitro menggunakan ADP sebagai induktor agregasi platelet.

I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka didapatkan rumusan masalah dari penelitian ini yaitu apakah isolat senyawa dari alga coklat (*Sargassum polycystum*) dapat berefek antiagregasi platelet?

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini, yaitu untuk menguji aktivitas isolat senyawa alga coklat (*Sargassum polycystum*) sebagai antiagregasi platelet.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Alga Coklat (*Sargassum* sp.)

II.1.1 Uraian Umum Alga Coklat

Alga yang berukuran paling besar dan kompleks adalah Phaeophyta atau alga cokelat. Phaeophyta berasal dari Bahasa Yunani yaitu *phaios* yang berarti kehitaman atau coklat. Alga coklat merupakan organisme yang berfotosintesis secara fototropik. Alga coklat terdapat di sepanjang perairan pantai beriklim sedang yang memiliki air sejuk. Warna pada alga coklat dipengaruhi dari kandungan fukosantin. Dinding sel mengandung selulosa dan polisakarida berupa asam alginat (Russel *et al.*, 2020).

Alga coklat (*Sargassum* sp.) merupakan jenis tanaman annual. Tanaman ini menempel pada bebatuan dan terumbu karang dengan kedalaman sekitar 2 meter. Tanaman ini memiliki batang dengan panjang yang kurang dari 1 cm dengan diameter 2 – 4 mm yang tidak bercabang. Panjang cabang utama tanaman alga coklat yang tumbuh di air dangkal berkisar 10 – 20 cm dan lebih pendek dari tanaman alga coklat yang tumbuh di air tanah dalam yang berkisar 20 – 40 cm. Dalam beberapa kasus, panjang cabang utama yang ditemukan pada tanaman yang terpapar udara selama pasang surut berkisar 5 – 10 cm (Soe-Htun dan Yoshida, 1986). Tanaman ini memiliki talus yang berwarna kecoklatan gelap dengan lebar 7 cm (Pansing *et al.*, 2017).

II.1.2 Uraian Umum *Sargassum polycystum*

Sargassum polycystum memiliki morfologi berupa tinggi talus berukuran 24 cm berwarna coklat kemerahan saat kering, memiliki pangkal daun yang melebar, agak meruncing dan terdapat gerigi pada bagian daun tetapi tidak dalam, dan agak sedikit mendatar, memiliki titik kecil hitam pada bagian daun, agak kasar dan memiliki garis-garis putus, vesikel berbentuk bulat agak besar (tidak mikro), berwarna coklat. Ketika dibentuk menjadi herbarium akan berbentuk pipih (Pansing *et al.*, 2017).



Gambar 1. *Sargassum polycystum*

Klasifikasi dari alga coklat, yaitu (Satyarsa, 2019):

- Divisi : Thallophyta
- Sub-divisi : Algae
- Kelas : Phaeophyceae
- Sub-Kelas : Cyclosporae
- Ordo : Fucales
- Famili : Sargassaceae
- Genus : Sargassum
- Spesies : *Sargassum polycystum*

II.1.3 Kandungan Alga Coklat

Alga coklat memproduksi metabolit sekunder terbesar, seperti terpenoid, polisakarida, polifenol, asam sarquinoic, sargachromenol, plastoquinones, steroid, gliserida, dan lain-lain yang memberikan efek terapeutik (Yende *et al.*, 2014). Selain itu, *Sargassum* sp. juga dominan mengandung fukosantin, florotanin, fukoidan, fukoserol alginat serta komponen senyawa minor, seperti flavonoid, feofitin A dan asam fenolat (Rohim *et al.*, 2019).

Alga coklat mengandung komponen serat, protein, mineral, vitamin, antioksidan, asam lemak tak jenuh yang rendah kalori. Alga coklat juga banyak mengandung vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B3, B12, C, D dan E. Komponen asam amino essensial yang terkandung dalam alga coklat juga berguna bagi kesehatan (Yende *et al.*, 2014).

II.1.4 Kegunaan Alga Coklat

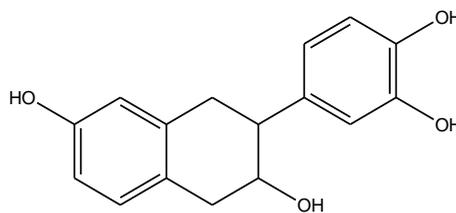
Sargassum spp. bermanfaat sebagai bahan makanan manusia karena memiliki kandungan protein, vitamin C, dan iodin. Selain itu, *Sargassum* spp. berperan sebagai obat gondok, anti bakteri, anti tumor serta sumber alginat, tanin dan fenol. (Syad *et al.*, 2013). Kandungan algin dalam alga coklat kebanyakan digunakan dalam industri kosmetika untuk membuat krim, sabun, lotion, shampoo. Dalam industri farmasi juga diperlukan dalam membentuk *emulsifier*, *stabilizer*, tablet, salep, kapsul dan filter. Selain itu, pada industri lain digunakan sebagai bahan tambahan dalam industri tekstil, keramik, fotografi dan pestisida (Kadi, 2014; Sedjati *et al.*, 2017).

Sargassum sp. juga memiliki aktivitas biologis yang diperoleh dari hasil isolasi dengan efek antioksidan, antivirus, anti-alergi, anti-inflamasi, antikanker, antikoagulan, dan sebagainya (Yende *et al.*, 2014).

II.2 Isolasi dan Identifikasi Flavonoid

II.2.1 Definisi Umum

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang tergolong dalam turunan 2-fenil-benzil- γ -piron yang disintesis pada jalur fenilpropanoid. Flavonoid berperan dalam memberikan warna, rasa pada biji, bunga dan buah serta aroma. Flavonoid juga dapat melindungi tumbuhan dari pengaruh lingkungan, seperti antimikroba dan perlindungan pada paparan sinar ultraviolet (Mierziak *et al.*, 2014). Struktur dasar flavonoid terdiri dari dua gugus aromatik yang digabungkan oleh jembatan karbon ($C_6-C_3-C_6$) (Arifin dan Ibrahim, 2018).



Gambar 2. Struktur Dasar Flavonoid (Arifin dan Ibrahim, 2018)

Flavonoid tergolong dalam senyawa polifenol yang bersifat polar sehingga kelarutan flavonoid akan lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida, dan lain-lain. Karena flavonoid terikat dalam bentuk glikosida maka campuran pelarut tersebut atau menggunakan air merupakan pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida. Sedangkan dalam bentuk aglikon, seperti flavon, flavonol dan

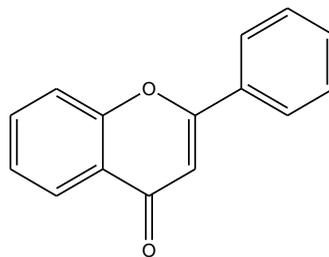
flavanon mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter (Arifin dan Ibrahim, 2018).

II.2.2 Klasifikasi Flavonoid

Jenis-jenis flavonoid dan strukturnya dibedakan menjadi:

1. Flavon

Flavon merupakan jenis flavonoid yang sering ditemukan pada daun, buah, dan bunga dalam bentuk glikosida. Beberapa bentuk contoh senyawa flavon adalah apigenin, luteolin, luteolin-7-glukosida, akaketin, dan baicalin. Struktur flavon terdiri dari ikatan rangkap antara posisi 2' dan 3', serta memiliki keton pada posisi 4. Sebagian besar flavon memiliki gugus hidroksil pada posisi 5. Tanaman yang banyak mengandung flavon adalah seledri, kamomil, daun mint, dan ginkgo biloba (Panche *et al.*, 2016).

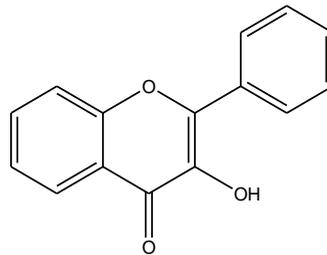


Gambar 3. Struktur Flavon (Wang Tian-yang *et al.*, 2018)

2. Flavonol

Flavonol merupakan flavonoid dengan gugus keton. Senyawa flavonol diantaranya adalah kuersetin, mirisetin, fisetin, galangin, morin, rutin, dan robinetin (Brodowska, 2017). Perbedaan antara flavonol dengan flavon terdapat pada gugus di posisi 3 pada cincin C yang memungkinkan terjadinya glikosilasi. Aktivitas farmakologi yang terdapat pada flavonol adalah

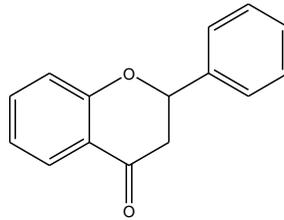
antioksidan. Mekanisme antioksidan pada senyawa flavonol terdapat pada gugus aromatik cincin B yang memiliki ikatan rangkap konjugasi pada nomor 2' dan 3' untuk melakukan perpindahan elektron dari cincin B menuju radikal bebas dan memecah radikal bebas. Tanaman yang banyak mengandung flavonol adalah tomat, apel, anggur, bawang dan beri (Panche *et al.*, 2016).



Gambar 4. Struktur Flavonol (Wang Tian-yang *et al.*, 2018)

3. Flavanon

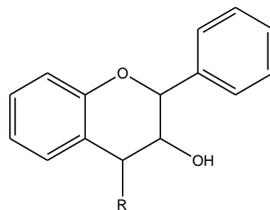
Flavanon merupakan flavonoid yang paling umum ditemukan pada famili *Compositae*, *Leguminosae*, dan *Rutaceae*. Senyawa itu terdapat di akar, batang, buah, biji dan rhizome. Senyawa flavanol diantaranya adalah naringin, naringenin, ponkirentin, pinocembrin, dan *lonchocarpol A* (Brodowska, 2017). Ciri dari flavanon yaitu cincin C yang saturasi, memiliki ikatan rangkap antara 2 dan 3 sehingga membedakan dengan senyawa flavon. Tanaman ini banyak terdapat pada jeruk, anggur, dan lemon (Panche *et al.*, 2016). Aktivitas farmakologi flavanon yaitu antioksidan dan anti-inflamasi. Mekanisme antioksidan pada flavanon ketika terjadi pemecahan radikal bebas oleh gugus OH sedangkan mekanisme anti-inflamasi dengan menghambat pembentukan sitokin pro-inflamasi pada makrofaga, mengurangi produksi nitrat dan nitrit (Kumar dan Pandey, 2013).



Gambar 5. Struktur Flavanon (Wang Tian-yang *et al.*, 2018)

4. Flavanol

Flavanol merupakan derivat flavanon dengan penambahan gugus hidroksi dan biasa disebut sebagai katekin. Perbedaannya terhadap derivat flavonoid lainnya adalah tidak adanya ikatan rangkap pada posisi 2 dan 3 serta gugus hidroksi yang selalu menempel di posisi 3 pada cincin C (Panche *et al.*, 2016). Flavanol banyak ditemukan pada teh, kiwi, apel, kokoa dan anggur merah. Aktivitas farmakologisnya untuk meningkatkan dilatasi pembuluh darah dengan menstimulasi kadar nitrit oksida. Senyawa flavanol diantaranya yaitu katekin, epikatekin dan galokatekin (Brodowska, 2017).

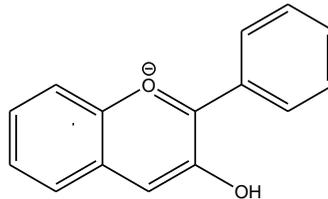


Gambar 6. Struktur Flavanol (Wang Tian-yang *et al.*, 2018)

5. Antosianidin

Antosianidin merupakan pigmen yang bertanggung jawab pada warna tumbuhan. Senyawa ini terdapat pada kokoa, sereal, kacang-kacangan, madu, teh dan beri. Antosianidin yang umum ditemukan adalah aglikon dengan struktur dasar *flavylium* (Brodowska, 2017; Panche *et al.*, 2016). Senyawa ini berupa sianidin, pelargonidin, delphinidin, malvidin, petunidin,

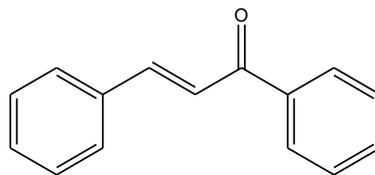
dan peonidin. Antosianidin memiliki aktivitas farmakologis pada penyakit kardiovaskular dengan mekanisme menekan ekspresi pada *vascular endothelial growth factor* (VEGF), mengaktifasi protein kinasi p38 mitogen dan kinase pada c-Jun N-terminal (JNK) (Brodowska, 2017).



Gambar 7. Struktur Antosianidin (Wang Tian-yang et al., 2018)

6. Kalkon

Kalkon merupakan flavonoid yang unik karena dibedakan dengan tidak adanya cincin aromatik C yang menjadi basis rangka dari flavonoid itu sendiri. Senyawa kalkon diantaranya adalah *phlorizidin*, *arbutin*, *phloretin*, dan *chlarconaringenin*. Umumnya kalkon ditemukan pada tumbuhan seperti tomat, stroberi, pir, beri dan gandum (Panche et al., 2016).

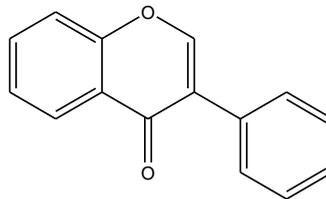


Gambar 8. Struktur Kalkon (Wang Tian-yang et al., 2018)

7. Isoflavon

Isoflavon merupakan derivat flavonoid yang sangat khas pada kedelai dan tanaman polongan yang memiliki peranan penting sebagai prekursor perkembangan phytoalexin. Salah satu contoh senyawa isoflavon, yaitu daidzein yang memberikan warna biru muda dengan sinar UV bila diuapi

amoniam tapi genistein tampak seperti bercak lembayung pudar yang dengan amonia berubah menjadi coklat pudar (Arifin dan Ibrahim, 2018).



Gambar 9. Struktur Isoflavon (Wang Tian-yang *et al.*, 2018)

II.2.3 Kegunaan Flavonoid

Flavonoid memiliki aktivitas farmakologis yang meliputi:

1. Anti-inflamasi

Inflamasi adalah peradangan yang timbul akibat mekanisme perlindungan diri terhadap zat asing yang masuk ke dalam tubuh. Saat zat asing masuk ke dalam tubuh, tubuh akan memberikan reaksi dengan melepaskan senyawa prostaglandin, leukotrien, interleukin, nitrit oksida dan proinflamatori sitokin (Wang Tian-yang *et al.*, 2018). Inflamasi terjadi akibat integrasi enzim COX-1 dan COX-2 dengan prostaglandin, enzim COX-2 yang dihasilkan maka akan menstimulasi rasa sakit (D'Mello *et al.*, 2011).

2. Antioksidan

Flavonoid memiliki kemampuan untuk memecah radikal bebas melalui mekanisme memperlambat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS), memecah ROS dan meregulasi atau proteksi dengan antioksidan. Flavonoid berperan dalam menghambat pembentukan luka. Flavonoid yang memiliki tingkat kereaktifan yang tinggi akibat gugus hidroksil akan bereaksi dan

teroksidasi oleh radikal yang menyebabkan bentuk radikal bebas lebih stabil dan kurang reaktif (Panche *et al.*, 2016).

3. Anti-diabetes

Menurut hasil penelitian menunjukkan buah *bayberry* memiliki efek farmakologis yang berperan penting pada sel HepG2 berkaitan dengan metabolisme glukosa di hati (Zhang Xianan *et al.*, 2015). Dalam sel HepG2 terdapat *Sodium-Glucose Cotransporter* (SGLT) yang mengatur kadar glukosa darah. Flavonoid memiliki gugus C-aryl glukosida yang menghambat SGLT dengan memutus ikatan glikosida pada SGLT (Hummel *et al.*, 2012).

4. Antibakteri

Flavonoid disintesis pada tanaman untuk melindungi diri dari infeksi bakteri. Salah satu contoh flavonoid yang memiliki aktivitas ini, seperti naringenin, eriodyctiol memiliki potensi sebagai antimikroba terhadap metilin resisten bakteri *Staphylococcus aureus* (MRSA). Selain itu, kursorin dan analognya penta-O-etilkuersetin berpotensi sebagai inhibitor *New Delhi Metallo- β -lactamase* (NDM-1) (Panche *et al.*, 2016). Mekanisme ini berasal dari gugus hidroksil yang berada pada senyawa flavonoid dapat menurunkan hidrofobitas sehingga memudahkan flavonoid untuk berpartisipasi ke dalam membran biologik (Wu Ting *et al.*, 2013).

5. Antivirus

Flavonoid dapat berperan sebagai antivirus yang baik, terutama pada flavonoid glikosida, seperti puerarin, rutin dan hesperidin, daidzein, kuersetin. (Nguyen-thi-thanh-hanh *et al.*, 2013)

6. Aktivitas neuropatik

Flavonoid juga dapat menghambat degenerasi saraf dengan kaitannya terhadap asetilkolinesterase (AChE) atau butilkolinesterase (BChE), reseptor GABA, disfungsi mitokondrial. Hal ini dibuktikan pada ekstrak flavonoid pada spesies *Salvia* yang memiliki efek terhadap penyakit Alzheimer (Eghorn *et al.*, 2014; Gopinath dan Sudhandiran, 2012; Orhan *et al.*, 2013).

7. Aktivitas kardioprotektif

Flavonoid juga berperan sebagai kardioprotektif terutama pada kulit apel, cranberry, bawang dan herbal dapat mencegah terjadinya penyakit kardiovaskular (Li Guilun *et al.*, 2013). Senyawa yang berperan sebagai kardioprotektif meliputi kuersetin, epikatekin, katekin, kuersetin, rutin, dan luteolin (Atrahimovich *et al.*, 2013).

8. Antikanker

Mekanisme flavonoid dalam pengobatan kanker, meliputi induksi apoptosis, inhibisi proteasome. Bahkan flavonoid dapat menghambat terjadinya sitotoksitas pada sel kanker (Zhang Jiukai *et al.*, 2014). Senyawa flavonoid yang berperan sebagai antikanker, yaitu kuersetin (Amrutha *et al.*, 2014).

9. Inhibitor xantin oksidase

Flavonoid juga berperan dalam penurunan pada kadar lemak. Hal ini dibuktikan pada pengujian secara *in vitro* pada tikus menggunakan ekstrak etanol 95% *Gnaphalium affine* yang mengandung senyawa apigenin, luteolin, dan aglikon hesperitin. Hesperitin memiliki aktivitas inhibitor xantin oksidase yang paling kuat dibandingkan flavonoid glikosida.

10. Antiagregasi platelet

Flavonoid melakukan penghambatan terbentuknya agregasi platelet melalui inhibisi jalur asam arakidonat. Selain itu, pada konsentrasi yang tinggi dapat memblokir protein G berikatan pada reseptor ADP atau trombin (Faggio *et al.*, 2017).

II.2.4 Isolasi Flavonoid

Metode isolasi flavonoid dapat dilakukan dengan cara mengekstraksi yang umumnya menggunakan pelarut etanol dan metanol. Metode ekstraksi yang biasanya dilakukan adalah perkolasi, refluks, refluks berkelanjutan. Konsentrasi alkohol 90 – 95% dapat mengekstraksi semua jenis flavonoid, konsentrasi alkohol sekitar 60% dapat mengekstraksi flavonoid glikosida. Ekstraksi menggunakan air panas juga dapat mengekstraksi flavonoid glikosida dengan keuntungan lebih murah, aman dan teknik yang sederhana tetapi kekurangannya terdapat pada pengotor yang larut dalam air, berupa protein dan sakarida yang tercampur dalam senyawa. Kebanyakan flavonoid bersifat asam karena komponen grup hidroksil atau karboksil sehingga dapat diekstraksi dengan *alkaline water* atau *alkaline dilute alcohol* (Weisheng Feng *et al.*, 2017).

Metode isolasi yang umumnya digunakan bergantung pada polaritas, keasaman, perbedaan bobot molekular dan struktur tertentu. Kromatografi menjadi pilihan pertama dalam mengisolasi flavonoid. Jenis-jenis metode yang dapat digunakan untuk mengisolasi flavonoid, yaitu (Weisheng Feng *et al.*, 2017):

1. Kromatografi silika gel, yang digunakan untuk mengisolasi komponen kepolaran rendah atau sedang. Flavonoid glikosida diisolasi dengan silika gel *reversed phase C₁₈*.
2. Kromatografi poliamida yang memiliki komponen poliamida sebagai adsorben yang baik sehingga mampu mengikat poliamida dan flavonoid yang bergantung juga pada jumlah dan posisi grup hidroksil pada molekul flavonoid.
3. Kromatografi polidekstran gel yang digunakan berupa sephadex LH-20 dengan mekanisme adsorpsi yang bergantung pada kelompok hidroksil fenolik.

Teknik isolasi menggunakan teknologi alat juga dapat berupa *high performance liquid chromatography* (HPLC) dengan fase diam berupa kolom C₁₈, C₈, C₂, amino atau fenil dan fase gerak berupa asam trifluoroasetat biasanya terdeteksi pada panjang gelombang 254 – 280 nm atau 340 – 360 nm untuk flavon, flavonol dan glikosida, 520 – 540 nm untuk antosianidin dan komponen glikosida. Selain itu, dapat juga menggunakan *high-speed counter current chromatography* (HSCCC), *molecular imprinting technology* (MIT) (Weisheng Feng *et al.*, 2017).

II.2.5 Identifikasi Flavonoid

Cara umum untuk membedakan senyawa flavonoid dengan senyawa lainnya dapat dilakukan dengan mengekstraksi menggunakan etanol 70% dan bila perlu dikocok menggunakan eter minyak bumi. Flavonoid merupakan senyawa fenol sehingga warnanya akan mengalami perubahan bila

ditambahkan basa atau amonia sehingga akan mudah terdeteksi dalam kromatogram atau larutan (Harborne, 1987).

Tabel 1. Identifikasi Flavonoid dengan Sinar Tampak dan Ultraviolet

Warna	Warna dengan sinar UV		Petunjuk
	Sendiri	Dengan amonia	
Jingga Merah Merah senduduk	Jingga redup, merah atau merah senduduk	Biru	Antosianidin 3-glikosida
	Fluorosensi merah kuning atau merah jambu	Biru	Kebanyakan antosianidin 3,5-diglikosida
Kuning murup	Coklat tua atau hitam	Coklat tua atau hitam	6-hidroksi flavonol dan flavon; beberapa kalkon glikosida
		Merah tua atau jingga murup	Kebanyakan kalkon
Kuning murup	Kuning murup atau hijau kuning	Jingga murup atau merah	Auron
	Coklat tua	Kuning murup atau coklat kuning	Kebanyakan flavonol glikosida
Kuning pucat		Kuning kunyit-hijau coklat tua	Kebanyakan flavon glikosida, biflavonil, dan flavon yang tersulih tidak biasa
	Merah senduduk tua	Coklat lemah	Kebanyakan isoflavon dan flavonol
Nihil	Biru lemah	Biru kuat	5-desoksiisoflavon dan 7,8-dihidroksi flavonon
	Merah senduduk tua	Kuning pucat atau hijau kuning	Flavanon dan flavanolol 7-glikosida

Sumber: Harborne. *Metode Fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Edisi

2. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung 1987

Penyemprot kromatografi umum yang digunakan untuk mendeteksi flavonoid:

1. AlCl_3 5% dalam etanol dengan hasil positif berfluorosensi kuning dengan sinar UV (Harborne, 1987).
2. $\text{FeCl}_3\text{-K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1:1) dengan hasil positif berwarna biru pada latar belakang kuning (Harborne, 1987).
3. Pereaksi Folin yang ditambahkan amonia akan memberikan hasil positif biru pada latar belakang putih (Harborne, 1987).
4. Pereaksi lainnya, seperti uap amonia, sitroborat dan NaOH akan memberikan hasil positif berwarna kuning (Mabry *et al.*, 1970)

II.3 Agregasi Platelet

Platelet merupakan sel darah yang memiliki peran dalam proses homeostasis. Platelet beragregasi membentuk sumbat homeostasis ketika terjadi luka pada pembuluh darah. Sumbat homeostasis dapat berupa bekuan darah yang terbentuk dari agregat-agregat platelet, yang disebut trombus. Pada keadaan normal, pembentukan trombus digunakan untuk mencegah terjadinya perdarahan namun pada pembentukan trombus patologis, trombus akan tetap terbentuk meskipun tidak terdapat luka di pembuluh darah. Ketidaknormalan pada trombus dapat menyebabkan penyakit kelainan vaskuler seperti infark miokard dan stroke (Saraf *et al.*, 2009).

Agregasi platelet akan terbentuk melalui tiga tahap reaksi, yaitu (Armstrong dan Golan, 2014):

1. Platelet adhesi

Platelet akan timbul bersamaan dengan kolagen subendotelial ketika terjadi luka di pembuluh darah. Adhesi ini dimediasi oleh von Willebrand factor (vWF) yang merupakan protein yang disekresi bersamaan ketika teraktivasi platelet dan luka di endotelium. vWF akan berikatan dengan reseptor glikoprotein Ib (GPIb) di membran platelet dan akan memediasi adhesi platelet dengan kolagen. Pada tahap inilah terjadi inisiasi hemostasis primer.

2. Reaksi pelepasan granul

Adhesi platelet memediasi terjadinya pelepasan granul. Stimulasi ini dipengaruhi oleh ADP, epinefrin, dan kolagen sehingga menyebabkan teraktivasi platelet membran fosfolipase A₂ (PLA₂). PLA₂ yang memotong membran fosfolipid dan membebaskan asam arakidonat yang dikonversi menjadi endoperoksida siklik oleh platelet siklooksigenase. Endoprosida siklik akan dikonversi lagi menjadi tromboksan A₂ (TxA₂) yang akan menstimulasi pelepasan granul di daerah luka dan menyebabkan vasokonstriksi.

3. Agregasi dan konsolidasi

Tromboksan A₂ akan menstimulasi G protein yang berikatan dengan reseptor TxA₂ di membran platelet. Pengikatan ini menyebabkan fosfolipase C teraktivasi dan menghidrolisis phosphatidylinositol 4,5-bifosfat (PI[4,5]P₂) membentuk inositol 1,4,5-trifosfat (IP₃) dan diasilgliserol (DAG). IP₃

meningkatkan konsentrasi Ca^{2+} dan DAG mengaktifasi protein kinase C (PKC) yang akan mempromosikan PLA_2 . Selanjutnya, PLA_2 akan menginduksi kerja GPIIb-IIIa yang memediasi agregasi platelet melalui pengikatannya pada fibrinogen sehingga akan terbentuk plak. Selain itu, reseptor ADP yang juga berikatan dengan G protein akan memicu terbentuknya agregasi platelet. Reseptor ADP terbagi atas reseptor P_2Y_1 dan reseptor $\text{P}_2\text{Y}(\text{ADP})$ dimana P_2Y_1 yang berperan dalam pelepasan kalsium sehingga mengaktifasi fosfolipase C, sedangkan $\text{P}_2\text{Y}(\text{ADP})$ yang akan menghambat adenilil siklase.

II.4 Antiagregasi Platelet

II.4.1 Obat yang Menginduksi Antiagregasi Platelet

Obat antiplatelet bekerja pada satu arah untuk menghambat jalur aktivasi platelet (Neal, 2006). Beberapa obat tersebut memiliki mekanisme tersendiri, yaitu:

1. Penghambatan siklooksigenase

Aspirin bekerja dengan cara menurunkan infark miokard dengan angina tidak stabil dan meningkatkan ketahanan hidup pada pasien yang mengalami infark miokard akut. Efek menguntungkan dari aspirin diperoleh dari penghambatannya pada TxA_2 yang merupakan penginduksi kuat agregasi platelet. Sel endotel dinding pembuluh darah menghasilkan prostaglandin, PGI_2 (protasiklin) yang kemungkinan merupakan antagonis fisiologis dari TxA_2 . PGI_2 menstimulasi reseptor yang berbeda pada platelet dan mengaktifasi adenilat siklase yang akan meningkatkan cAMP sehingga terjadi penurunan kalsium intraselular dan inhibisi agregasi platelet (Neal, 2006).

Aspirin kebanyakan berfungsi sebagai antiplatelet dan pencegahan thrombosis agar tidak berujung pada stroke, gangguan iskemik dan infark miokard. Aspirin memiliki mekanisme sebagai antiplatelet pada dosis rendah seperti 81 mg sedangkan dosis tinggi 650 mg dalam frekuensi pemakaian 3-4 kali berfungsi sebagai anti-inflamasi yang menghambat produksi prostasiklin tanpa meningkatkan efektivitasnya sebagai antiplatelet. Bila dibandingkan golongan anti inflamasi non steroid (AINS) lainnya, aspirin menghambat jalur siklooksigenase secara permanen. Aspirin juga menghambat COX-1 dan COX-2 sehingga efektif sebagai antiplatelet. Bila dibandingkan terhadap obat selektif COX-2, obat tersebut tidak dapat sebagai agen antiplatelet karena efek penghambatannya pada COX-1 sangat lemah dan meningkatkan risiko kardiovaskular karena menghambat pembentukan prostasiklin tanpa menghambat tromboksan (Armstrong dan Golan, 2014).

2. Penghambatan fosfodiesterase

Dalam fisiologis penghambatan platelet melalui mekanisme peningkatan cAMP intraselular yang akan menurunkan agregabilitas platelet. Jumlah cAMP dimediasi oleh TxA_2 dan PGI_2 . cAMP diaktivasi oleh protein kinase A tetapi belum diketahui mekanismenya dengan jelas karena dapat menurunkan jumlah kalsium yang berperan dalam agregasi platelet. Penghambatan fosfodiesterase dapat menghambat degradasi cAMP dimana aktivasi cAMP dapat mengaktivasi adenilil siklase. Obat yang berperan adalah dipiridamol memiliki efek antiplatelet lemah dan perlu dikombinasikan dengan warfarin atau aspirin. Penggunaannya bersama warfarin dapat mencegah terjadinya

trombosis pada katup jantung buatan dan kombinasi terhadap aspirin dapat juga mengurangi kasus trombosis (Armstrong dan Golan, 2014; Neal, 2006).

3. Penghambatan jalur reseptor ADP

Klopidogrel mengurangi agregasi dengan menghambat efek ADP pada platelet secara ireversibel. Obat tersebut memiliki efek sinergis bila diberikan bersama aspirin. Klopidogrel diberikan pada pasien yang memiliki kontraindikasi terhadap aspirin (Neal, 2006). Mekanisme klopidogrel yaitu berikatan kovalen dengan reseptor $P_2Y(ADP)$ untuk menghambat adenilil siklase. Klopidogrel tergolong dalam prodrug yang membutuhkan oksidasi hepatic agar dapat membentuk metabolit aktif tetapi memerlukan *loading dose* (dosis muat) untuk memberikan efek yang lebih cepat. Selain itu, obat tiklodipin juga termasuk dalam prodrug yang dikonversi menjadi metabolit tiol dalam hati agar dapat berefek dengan mekanisme yang sama dengan klopidogrel. Efek samping keduanya juga hampir sama dengan aspirin, yaitu gangguan gastrointestinal (Armstrong dan Golan, 2014).

4. Antagonis GPIIb-IIIa

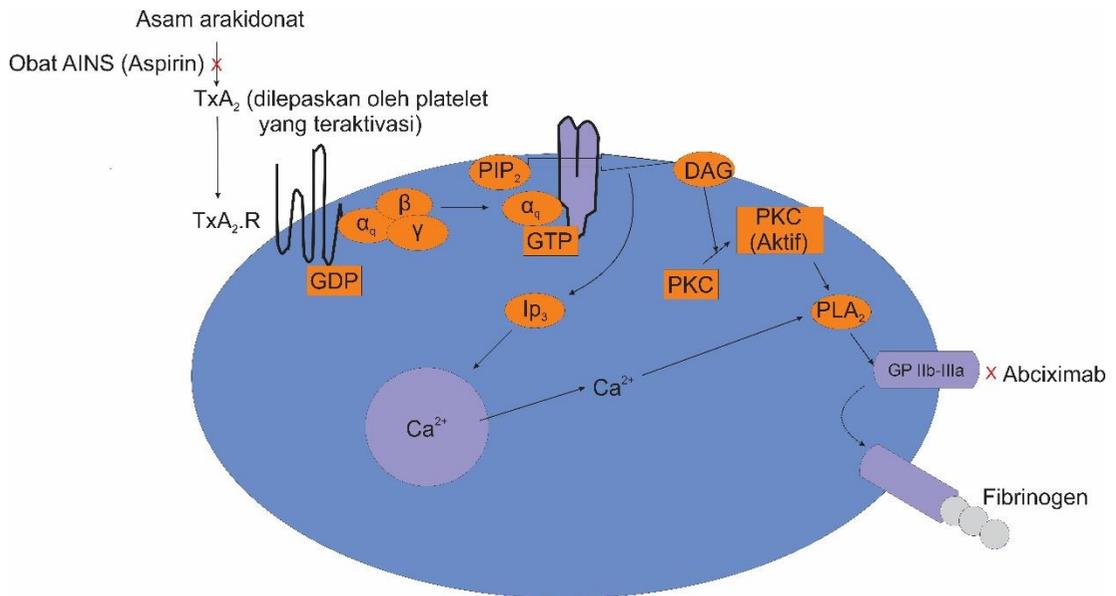
Obat yang termasuk dalam golongan ini, seperti eptifibatid, tirofiban, dan abciximab (suatu antibodi monoklonal) yang dapat menghambat agregasi platelet dengan berikatan pada reseptor glikoprotein IIb/IIIa. Obat-obat ini diberikan secara suntikan intravena bersama aspirin dan heparin untuk mencegah terjadinya infark miokard pada pasien yang memiliki angina (Neal, 2006). Mekanisme kerja obat ini melibatkan penghambatannya agar reseptor GPIIb-IIIa tidak berikatan dengan fibrinogen. Pengikatannya pada reseptor ini

distimuli oleh TxA₂, ADP, epinefrin, kolagen dan trombin. Efek samping dari obat ini dapat mengakibatkan terjadinya perdarahan, seperti hematoma (Armstrong dan Golan, 2014).

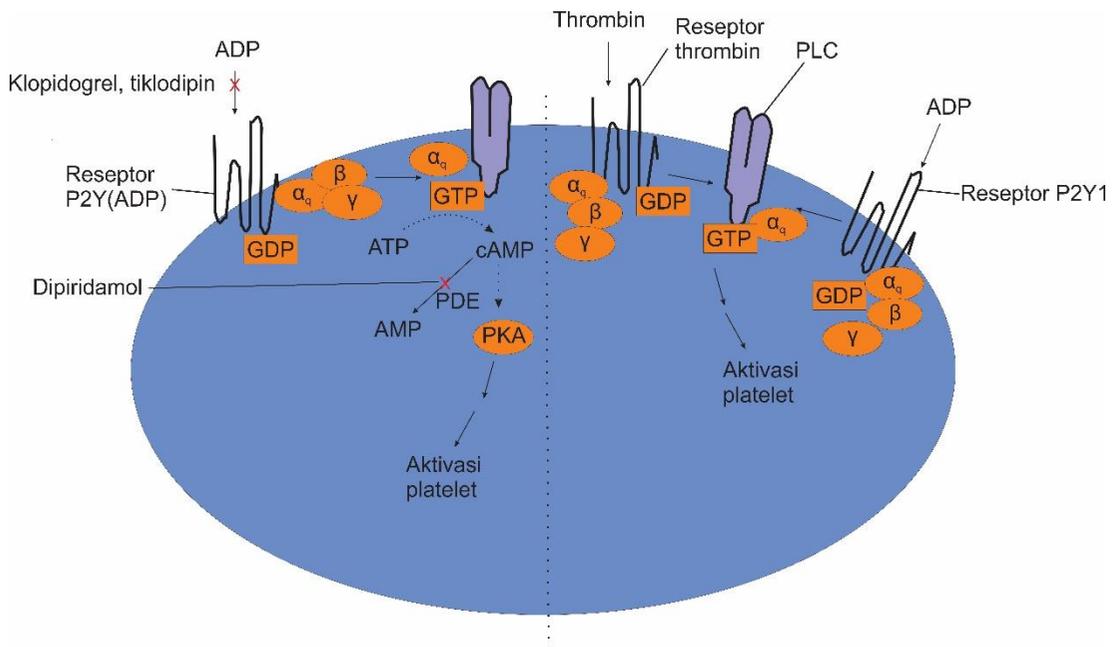
Tabel 2. Farmakologi Obat

Obat	Indikasi	Efek Samping	Kontraindikasi
Aspirin	Profilaksis yang disertai gangguan iskemik dan infark miokard	Perdarahan gastrointestinal, gangguan ginjal, trombositopenia, hepatitis, asma	Hemofilia, hipersensitivitas, gangguan von Willebrand dan trombositopenia
Dipiridamol	Profilaksis disertai gangguan tromboemboli	Eksaserbasi disertai angina (rute IV), infark miokard	Hipersensitivitas
Tiklodipin	Alternatif pada stroke trombotik	Anemia aplastik, neutropenia, trombositopenia purpura	Gangguan pembekuan darah, gangguan hati
Klopidogrel	Alternatif aterosklerosis yang memiliki infark miokard, stroke, gangguan vaskular	Gagal jantung, perdarahan gastrointestinal (bersama aspirin)	Gangguan pembekuan darah
Eptifibatide	Sindrom koroner akut dan koroner perkutan	Perdarahan, trombositopenia, hipotensi	Memiliki riwayat perdarahan, stroke, hipertensi
Abciximab	Koroner perkutan dan menghindari iskemik kardiak akut	Perdarahan, trombositopenia, hipotensi	Memiliki riwayat perdarahan, stroke, hipertensi
Tirofiban	Sindrom koroner akut	Perdarahan, trombositopenia, hipotensi	Memiliki riwayat perdarahan, stroke, hipertensi

Sumber: Armstrong dan Golan. *Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy*. Wolters Kluwer. Philadelphia. 2014



Gambar 10. Mekanisme kerja obat antiplatelet golongan AINS dan abciximab (Armstrong dan Golan, 2014)



Gambar 11. Mekanisme kerja obat antiplatelet klopidogrel dan dipyridamol (Armstrong dan Golan, 2014)

II.4.2 Metode Pengukuran Antiagregasi Platelet

Metode pengukuran antiagregasi platelet dapat menggunakan beberapa alat seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Metode Penilaian Efek Antiplatelet

Pengujian	Kelebihan	Kekurangan	Poin kunci pemantauan
Agregometri, turbidimetrik, biasanya menggunakan <i>aggregometer transmission</i> atau LTA	Tergolong sebagai pengujian <i>gold standard</i>	Volume darah yang banyak, mahal, reproduibilitas rendah, memakan banyak waktu, teknik yang kompleks	Keseluruhan darah, dapat digunakan untuk beberapa obat dengan berbagai reagen
Fosforilasi VASP (vasodilator yang distimulasi fosfoprotein)	Pengujian menggunakan darah, dibutuhkan volume darah dalam jumlah sedikit	Teknik yang kompleks, mahal, membutuhkan aliran cytometer	Spesifik untuk thienopridin, menghentikan tidak responsifnya antiplatelet, indeks reaktivitas platelet (PRI) > 50%
<i>VerifyNow</i>	Pengujian <i>point of care</i> , studi pasien dalam jumlah besar, pengujian menggunakan darah, sederhana dan cepat	Biaya kartrid, rentang terbatas untuk hematokrit dan jumlah platelet	Dapat menilai beberapa obat antiplatelet, menghentikan tidak responsifnya antiplatelet, unit reaksi platelet (PRU) > 235 – 240
Tromboelastografi	Pengujian menggunakan darah, pengujian <i>point of care</i>	Studi klinis terbatas, menggunakan reagen yang substansial	Dapat menilai beberapa obat antiplatelet

Sumber: Zeind dan Carvalho. *Applied Therapeutics: The Clinical Use of Drugs*. Wolters Kluwer. Philadelphia. 2018

Selain itu, pengujian agregasi platelet juga dapat menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang dapat diukur pada panjang gelombang 570 – 660 nm (umumnya pada rentang 615 nm) (Tsujino *et al.*, 2019). Pengujian agregasi platelet juga dapat diukur berdasarkan jumlah platelet dengan instrumen *laser-light scattering* menggunakan rumus (Moriyama *et al.*, 2009):

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

Keterangan:

A merupakan transmittansi adanya agonis atau penginduksi platelet, seperti ADP dan B merupakan transmittansi adanya ekstrak atau fraksi yang telah dilarutkan dan ADP.