

TESIS

**PERAN SENYAWA FUCOIDAN YANG DIEKSTRAKSI DARI
ALGA COKELAT *Sargassum Binderi* SEBAGAI *HEMOSTATIC*
AGENT PADA HEWAN COBA MENCIT**

Andi Maghfira Andriany Idhil

J012221002



PROGRAM MAGISTER KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

THESIS

**THE ROLE OF FUCOIDAN COMPOUNDS EXTRACTED FROM THE
BROWN ALGAE *Sargassum Binderi* AS HEMOSTATIC AGENT IN MICE
ANIMALS**

Andi Maghfira Andriany Idhil

J012221002



Master of Dental Science

Faculty of Dentistry

Hasanuddin University

Makassar

2024

TESIS

**PERAN SENYAWA FUCOIDAN YANG DIEKSTRAKSI DARI ALGA COKELAT
Sargassum Binderi SEBAGAI HEMOSTATIC AGENT PADA HEWAN COBA MENCIT**

Disusun dan diajukan oleh

ANDI MAGHFIRA ANDRIANY IDHIL

J012221002

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian Studi
Program Magister Kedokteran Gigi

Universitas Hasanuddin

Pada tanggal 24 January 2024

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.kes., Ph.D.,
Sp.B.M.M., Subs .Ortognat-D (K)

Prof. Dr. M. Hendra Chandha, drg., M.S.

NIP. 197307022001121001

NIP. 195906221988031003

Ketua Program Studi Magister Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin

Dekan
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin



Fuad Husain Akbar, drg., MARS., Ph.D

NIP. 198508262015041001



Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed. Ph.D

NIP. 198102152008011009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Andi Maghfira Andriany Idhil

NIM : J012221002

Program Studi : Magister Ilmu Kedokteran Gigi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan tesis yang saya kutip dari hasil karya orang lain telah dituliskan dengan sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah, dan etika pedoman penulisan tesis. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, January 2024

A handwritten signature in black ink is written over a yellow 10,000 Rupiah stamp. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text 'REPUBLIK INDONESIA', '10000', and 'METERAI TEMPEL'. A serial number '094AKX794400846' is visible at the bottom of the stamp.

Andi Maghfira Andriany Idhil

PRAKATA

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala kasih dan penyertaannya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini yang berjudul **“PERAN SENYAWA FUCOIDAN YANG DIEKSTRAKSI DARI ALGA COKELAT *Sargassum Binderi* SEBAGAI HEMOSTATIC AGENT PADA HEWAN COBA MENCIT”**.

Penulisan tesis ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial di Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis (PPDGS) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar. Penulis menyadari banyak hambatan dalam penyusunan tesis ini, namun berkat bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak sehingga penulisan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc** sebagai Rektor Universitas Hasanuddin
2. **Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subs .Ortognat-D (K)** sebagai Wakil Rektor I Bidang Akademik sekaligus sebagai pembimbing yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
3. **Prof. Dr. M. Hendra Chandha, drg., M.S.** selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
4. **Irfan Sugianto, drg., M.Med.Ed. Ph.D** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

5. **Fuad Husain Akbar, drg., MARS., Ph.D** sebagai Ketua Program Studi Magister Kedokteran Gigi yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bimbingan, dukungan serta arahan selama penulis menempuh Pendidikan di S2 Magister Kedokteran Gigi
6. **Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes** sebagai penguji I yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
7. **Muh. Irfan Rasul, drg., Ph.D., Sp.BM.M.Subsp C.O.M (K)** sebagai penguji II yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
8. **Dr. Ayub Irmadani Anwar, drg., M.Med. Ed., FISDPH. FISPD** sebagai penguji II yang telah meluangkan waktunya memberikan bimbingan, ilmu, dukungan, arahan dan masukan kepada penulis dari awal hingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini
9. Kedua orang tua tercinta, **DR.Ir.H.A.MUH.Idhil Maming,, ST, MT dan DR. Hj. Sri Undai Nurbayani SE, M.Si** atas segala doa, bimbingan dan dukungan selama proses pendidikan
10. Saudaraku tercinta **Kakak eky dan Indri** atas segala supportnya
11. Sahabat- sahabatku yang telah membantu memberi support selama menempu sekolah magister, **Ichlasul, Hikmah, Tata, Wina, Kak Sarah, Asalun Medika Tim**
12. **TIM Kadaireka Sargass Hemobond** yang telah membantu dan saling support selama penelitian
13. Lab Biofarmaka PKP UNHAS, Lab Biofarmasi UNHAS

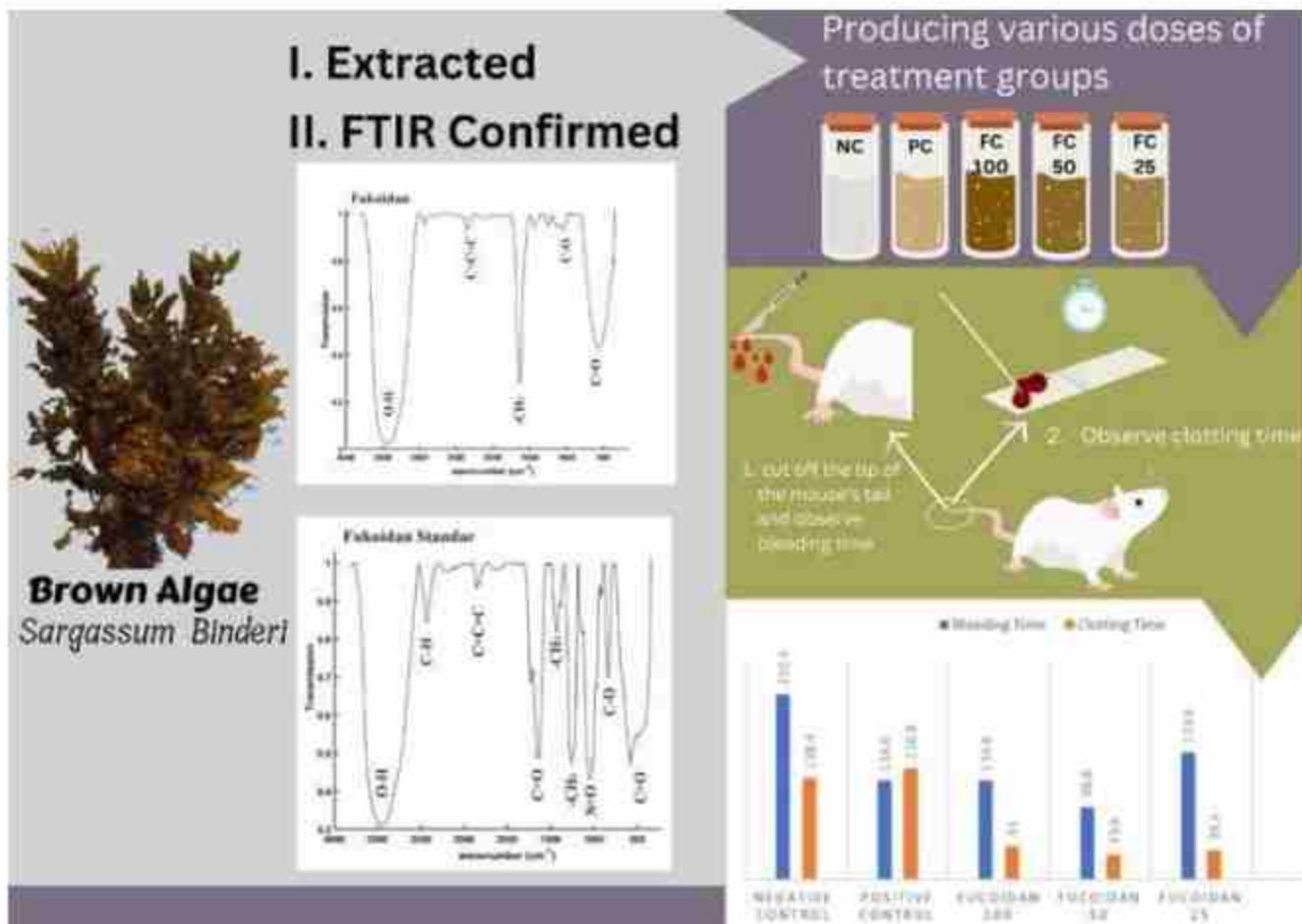
Akhir kata, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan serta jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan tulisan ini. Semoga penulisan tesis ini bermanfaat bagi pembaca dan masyarakat luas serta berguna untuk perkembangan ilmu kedokteran gigi

Makassar, January 2024

Andi Maghira Andriany Idhil

PERAN SENYAWA FUCOIDAN YANG DIEKSTRAKSI DARI ALGA COKLAT SEBAGAI
 AGEN KOAGULASI: STUDI IN VIVO PADA MENCIT

GRAPHICAL ABSTRACT



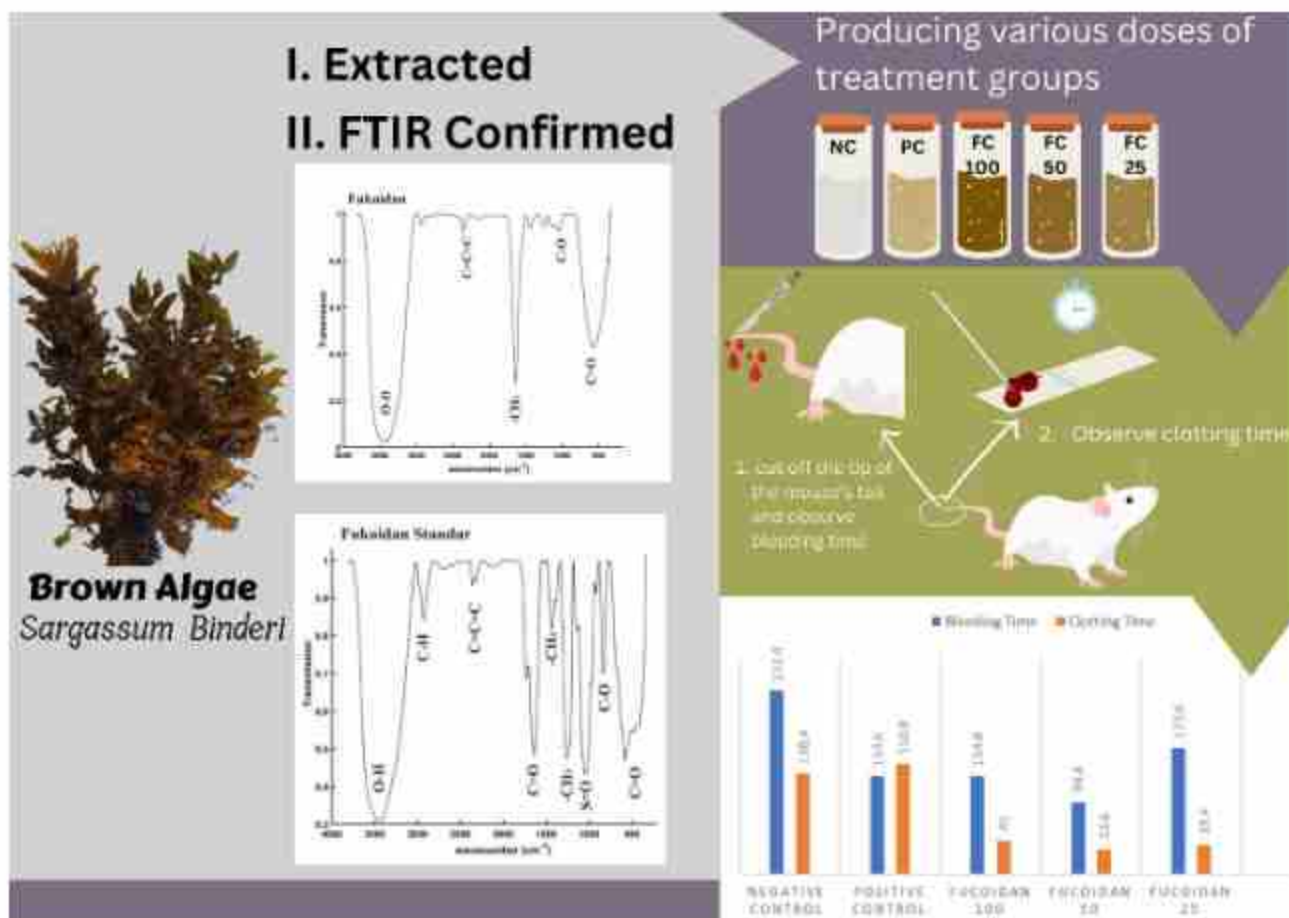
ABSTRAK

Alga cokelat merupakan salah satu tanaman herbal yang banyak tersedia di perairan Indonesia dan memiliki senyawa aktif secara farmakologis yang telah banyak dipelajari beberapa tahun terakhir ini. Salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam alga cokelat mengandung antipendarahan adalah fucoidan. Pada penelitian ini alga cokelat yang digunakan adalah sargassum binderi yang diekstraksi dengan metode maserasi sehingga diperoleh senyawa aktif fucoidan yang telah diuji menggunakan FTIR untuk melihat gugus fungsi. Hasil ekstraksi dibagi dalam tiga dosis (fucoidan dosis 100 mg/kgBb, 50 mg/kgBb, 25 mg/kgBb) dan dua kelompok control (control negative dan control positive). Percobaan dilakukan dengan mengamati bleeding time dan clotting time dengan cara memotong ekor mencit 2 mm dari ujung ekor. Berdasarkan hasil penelitian fucoidan sebagai agen coagulan efektif terhadap dosis 50 mg/kgBb. Hal ini menandakan alga cokelat sargassum binderi atau fucoidan berpotensi sebagai agen coagulan.

Kata Kunci: Bleeding, coagulating agent, brown algae, fucoidan

THE ROLE OF FUCOIDAN COMPOUNDS EXTRACTED FROM BROWN ALGAE AS COAGULATION AGENT: IN VIVO STUDY ON MICE

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Brown seaweed is one of the widely available herbal plants in Indonesian waters and has pharmacologically active compounds that have been widely studied in recent years. One of the active compounds in brown algae that contains anti-bleeding agents is fucoidan. In this research, the brown seaweed used was *Sargassum binderi* which was extracted by maceration method to obtain the active compound fucoidan which was tested by FTIR to see the functional groups. The extraction results were divided into three doses (fucoidan dose 100 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, 25 mg/kgBW) and two control groups (negative and positive). The experiment was conducted by observing bleeding time and clotting time by cutting the tail of mice 2 mm from the tip of the tail. Based on the results of fucoidan research as a coagulant agent effective against doses of 50 mg / kgBW. This indicates that brown algae *Sargassum binderi* or fucoidan have potential as coagulant agents

Keywords: Bleeding, coagulating agent, brown algae, fucoidan

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
ABSTRAK.....	iii
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Jangka Panjang.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu	3
1.4.2 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Koagulasi.....	5
2.2 Alga Cokelat.....	5
2.2.1 Ciri-Ciri Alga Cokelat.....	7
2.2.2 Komposisi Alga Cokelat.....	8
2.3 Sargassum Bideri	9
2.4 Molekul Bioaktif dari Sargassum Bideri	12
2.4.1 Florotani	12
2.4.2 Fucoxanthin.....	13
2.4.3 Alginic Acid dan Fucoidan	13
2.4.4 Laminarin/ Laminarans.....	15
2.5 Fukoidan Sebagai <i>hemostatic agent</i>	16

2.6 Vitamin K.....	16
2.7 Perdarahan.....	17
2.8 Hemostatis.....	18
2.8.1 Proses Hemostatis.....	19
2.8.2 Vasokonstriksi Vaskuler	21
2.8.3 Proses Adhesi Trombosit	21
2.8.4 Hemostatis Sekunder (koagulasi).....	24
2.8.5 Mekanisme Kontrol Pembekuan Darah	28
2.8.6 Fibrinolisis	29
2.9 Pemeriksaan Faal Hemostatis	30
2.9.1 Bleeding Time	30
2.9.2 Cloting Time	31
2.10 Efek Obat-Obatan Hemostatik	32
2.11 Mencit.....	33
2.11.1 Klasifikasi Mencit.....	35
2.11.2 Anastesi.....	37
2.12 Ekstraksi.....	38
2.13 FTIR	41
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Teori	43
3.2 Kerangka Konsep.....	43
3.3 Hipotesis Penelitian	44
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	45
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	45
4.2.1 Waktu Penelitian	45
4.2.2 Tempat Penelitian	45
4.3 Variabel dan Defenisi Operasional Penelitian	46
4.3.1 Variabel Peneltian	46
4.3.2 Definisi Operasional Penelitian	46

4.4 Teknik dan Besar Sampel Penelitian	47
4.5 Kriteria Sampel	49
4.5.1 Kriteria Inklusi	49
4.5.2 Kriteria Eksklusi	49
4.6 Alat dan Bahan	49
4.6.1 Alat.....	49
4.6.2 Bahan.....	51
4.7 Prosedur Penelitian	51
4.7.1 Persiapan Hewan Coba	52
4.7.2 Pengolahan Ekstrak Sargassum Bideri.....	52
4.7.3 Uji Analisis Teknik FTIR Pada Fucoidan.....	53
4.7.4 Pembuatan Laurantan Koloidal CMC0,5%	54
4.7.5 Pembuatan Larutan Vit K.....	54
4.7.6 Pembuatan berbagai macam dosis fucoidan dengan dosis konversi ke mencit.....	55
4.7.7 Uji Waktu Perdarahan dan Pembekuan Perdarahan	57
4.7.8 Prosedur Penelitian Waktu Perdarahan	58
4.7.9 Prosedur Penelitian Pembekuan Perdarahan.....	59
4.7.10 Analisis Data	60
4.8 Masalah Etika.....	59
4.9 Alur Penelitian.....	60
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Hasil.....	43
5.1.1 Identifikasi Sampel Alga Cokelat Sargassum Bideri.....	61
5.1.2 Hasil FTIR.....	62
5.1.3 Analisis Data	64
5.1.4 Uji BT dan CT	64
5.2 Pembahasan	66
BAB VI KESIMPULAN dan SARAN	
6.1 Kesimpulan	73
6.2 Saran.....	73

DAFTAR PUSTAKA.....	74
LAMPIRAN.....	95

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Kandungan dan Manfaat Rumput Laut Genus Sargassum.....10
Tabel 2.2	Faktor- Faktor Pembekuan Darah29
Tabel 2.3	Representatif Perbedaan Utama Antara Mencit dan Manusia.....34

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Karakteristik Alga Cokelat6
Gambar 2.2	Tahapan Hemostatis20
Gambar 2.3	Kaskade Koagulasi27
Gambar 2.4	Proses Fibrinolisis30
Gambar 3.1	Kerangka Teori Penelitian43
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian43
Gambar 5.1	Sargassum Bindi62
Gambar 5.2	Hasil FTIR63
Gambar 5.4	Jalur tyrosine kinase dependent signaling pathway in platelet70
Gambar 5.5	Jalur pembekuan darah72

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Koagulasi atau proses pembekuan darah merupakan mekanisme alami tubuh untuk menghentikan perdarahan saat terjadi luka atau cedera. Proses koagulasi darah terdiri dari rangkaian enzimatik yang melibatkan banyak protein plasma yang disebut sebagai faktor koagulasi darah. Proses pembekuan darah berperan penting dalam memperbaiki pembuluh darah yang rusak, sehingga perdarahan bisa berhenti (Umar *et al.*, 2020). Gangguan Perdarahan dapat bersifat genetik maupun didapat. Penyakit perdarahan yang bersifat genetik adalah von Willebrand Jurgens syndrome dan hemophilia. Asam traneksamat merupakan obat yang sering digunakan untuk menghentikan perdarahan pada pasien yang menjalani pencabutan gigi terutama pada hemophilia (Shannon *et al.*, 2020).

Asam traneksamat memiliki beberapa efek samping yang sering dilaporkan antara lain mual, diare, muntah, dan hipotensi ortostatik. Selain itu ada gangguan buta warna, syok anafilaksis, reaksi kulit, dan nekrosis cortex renal akut. Secara teori risiko dapat meningkat pada pemberian dengan dosis tinggi dan durasi yang lebih lama (Prata *et al.*, 2022). Perdarahan dapat diminimalisir dengan suatu zat untuk menyebabkan terjadinya hemostatis (George, 2020). Bahan alam yang dapat digunakan dalam proses penghentian perdarahan salah satunya adalah senyawa aktif fucoidan yang berasal dari alga coklat. Alga coklat mengandung senyawa bioaktif, seperti alginat, fucoidan,

fukosantin dan asam lemak tak jenuh (PUFA/Poly- Unsaturated Fatty acid) (Dewi *et al*, 2018). Fucoidan memiliki fungsi sebagai antivirus, antioksidan, antikanker dan memodulasi pembekuan darah (Zhang *et al*, 2015). Liu *et al*. (2006) melakukan penelitian bahwa tikus yang hemophilia diamati dengan potong ujung ekor setelah pemberian ekstrak fucoidan yang berasal dari *Fucus Vesiculosus* secara injeksi dapat bertahan hidup.

Ekstrak fucoidan yang berasal dari *Fucus Vesiculosus* menyebabkan aktivasi trombosit karena fucoidan mengurangi waktu perdarahan pada model hemophilia (Manne *et al*, 2013). Berdasarkan uraian tersebut, fucoidan mengandung senyawa aktif yang dapat digunakan untuk mempercepat hemostatis yang dapat mempengaruhi waktu perdarahan. Pada penelitian ini digunakan algae cokelat *Sargassum Bideri* yang penelitiannya sebagai *hemostatic agent* masih minim.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah senyawa fucoidan dapat diekstraksi dari alga cokelat (*Sargassum Bideri*)?
2. Apakah senyawa fucoidan pada alga cokelat (*Sargassum Bideri*) dapat sebagai *hemostatic agent* pada hewan coba mencit (*Mus Musculus*)?
3. Pada dosis berpakah senyawa fucoidan efektif sebagai *hemostatic agent*?

4. Apakah ekstrak fucoidan *Sargassum Bideri* efek yang kuat pada *clotting time* dibandingkan *bleeding time*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa bioaktif ucoidan yang terdapat dalam alga cokelat (*Sargassum Bideri*) sebagai *hemostatic agent* yang diambil dari pesisir pantai punaga kabupaten Takalar.

1.3.2 Tujuan Jangka Panjang

Menghasilkan obat kumur dalam bidang kedokteran gigi berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *Sargassum Bideri* dari Perairan Selat Makassar dengan memiliki kemampuan sebagai *hemostatic agent*

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

1. Sebagai bahan pertimbangan dalam menyusun penelitian dan bermanfaat sebagai bahan aktif lain pada tumbuhan alga cokelat
2. Sebagai acuan yang bisa digunakan untuk memperbanyak ilmu pengetahuan pada umumnya dan dibidang kedokteran gigi
3. Menambah dan memberikan pengetahuan ilmiah mengenai manfaat tumbuhan alga cokelat di bidang medis khususnya untuk menggunakan sebagai *hemostatic agent*

I.4.2 Manfaat Penelitian

1. Menambah nilai alga cokelat Indonesia khususnya jenis *Sargasaum Bideri* yang berasal dari Selat Makassar untuk menjadi salah satu bahan baku pembuatan obat kumur dalam bidang kedokteran gigi
2. Memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Saragassum Bideri*
3. Medapatkan hak paten (HKI) sebagai obat kumur dalam bidang kedokter gigi yang herbal berasal dari alga cokelat jenis *Sargassum Bideri*
4. Hasil penelitian diharapkan memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian alga cokelat di Indonesia

BAB II

TINJUAN PUSTAKA

2.1 Koagulasi

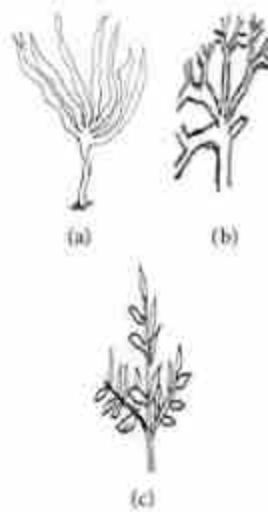
Koagulasi darah merupakan proses koagulasi darah terdiri dari rangkaian enzimatik yang melibatkan banyak protein plasma yang disebut sebagai factor koagulasi. Faktor koagulasi terdiri dari glikoprotein dengan berat molekul lebih dari 40.000 (Umar *et al.*, 2020).

Mekanisme pembekuan darah berlangsung secara bertahap sedemikian rupa sehingga salah satu faktor koagulasi diubah menjadi aktif diakhiri dengan pembentukan fibrin (bekuan). Faktor koagulasi atau faktor pembekuan darah adalah protein yang terdapat dalam darah (plasma) yang berfungsi dalam proses koagulasi. Proses pembekuan darah bertujuan untuk mengatasi vascular injury sehingga tidak terjadi pendarahan berlebihan, tetapi proses pembekuan darah ini dilokalisir pada daerah injury (Putri, 2021).

2.2 Alga Cokelat (Brown Algae)

Algae coklat adalah kelas algae beragam yang terkenal karena warnanya, mulai dari hijau zaitun hingga coklat keemasan. Mulai dari filamen kecil hingga kelompok besar rumput laut kompleks (Wehr *et al.*, 2015). Karena kromatofornya mengandung pigmen xanthophyll berwarna coklat keemasan fucoxanthin, karena kebanyakan fucoxanthin dan karotenaoid yang menutupi sisa pigmen klorofil c, a, dan xanthophyll lainnya, terlihat kecoklatan. Ukuran algae coklat bervariasi dari small string sampai

yang paling signifikan, dan mayoritas algae cokelat ditemukan di intertidal zone. Studi tentang metabolit sekunder lebih banyak berkonsentrasi pada makroalga daripada fitoplankton karena alga laut menghasilkan keanekaragaman senyawa alami yang sangat baik. Meskipun molekul-molekul ini berkontribusi minimal terhadap total biomassa organisme, keterlibatan senyawa ini terkadang mirip dengan metabolit yang dihasilkan dari metabolisme primer. Metabolit ini menunjukkan sifat antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antidiabetik, dan antikanker yang baik (Maximo *et al.*, 2018).



Gambar 2.1
karakteristik dari algae cokelat: (a) Laminaria, (b)
Dictyota, and (c) Sargassum.

Sumber: Maximo *et al.*, 2018

2.2.1 Ciri- Ciri Alga Cokelat

Sebagian besar kelompok ini adalah uniseluler atau multiseluler. Ukurannya dapat bervariasi dari filamen mikroskopis dengan cabang hingga thalli makroskopik (Remya *et al.*, 2022). Thallus berisi stipes, blades, atau frond dan juga holdfast. Seperti yang terlihat pada akar tumbuhan tingkat tinggi, holdfast menempelkan thallus ke substratum. Stipe sebanding dengan batang tanaman tingkat tinggi, dan daun mirip dengan daun. Stipe dan daun adalah salah satu karakter morfologi utama untuk mengidentifikasi beberapa spesies alga coklat. Perubahan morfologi alga dimungkinkan berdasarkan kondisi lingkungan tertentu (Wemberg *et al.*, 2018). Beberapa ganggang coklat yang dikenal adalah laminaria yang memiliki tubuh sporofit berukuran besar, tumbuh hingga 1-3m dan melekat pada batuan dasar dengan bantuan holdfast, dictyota adalah thallus sporophytic bercabang dikotomis, dan sporangia menghasilkan empat spora haploid (Gambar 2.1). Sargassum adalah bentuk terapung bebas atau bentuk lekat, dimana bentuk lekat memiliki tiga bagian, holdfast, main axis, dan laterals (Gambar 2.1). Beberapa spesies ini melekat pada batuan atau zat pendukung lainnya, sedangkan yang lain melayang di permukaan air, membentuk koloni bersel tunggal atau pluriseluler, sementara yang lain menempel di dasar laut melalui struktur mirip akar (pegangan). Pigmen penting dalam ganggang coklat terdiri dari klorofil a, c1, β -karoten, lutein, fucoxanthin, dioanthin, dan violaxanthin.

2.2.2 Komposisi Alga Cokelat

Makroalga coklat berlimpah dalam mineral mulai dari 14% hingga 35% bahan kering. Mereka memiliki kadar protein total yang relatif lebih rendah (8–13%) untuk *Laminaria* dan sakarina, sedangkan sekitar 6–11% untuk *Sargassum* 7–13% untuk *Macrocystis pyrifera* (*M. pyrifera*) dan 5–12% untuk *Ascophyllum nodosum* (*a. nodosum*). Variasi signifikan dalam komposisi kimia tergantung pada musim tahun itu, dengan protein kasar berkisar antara 4–8% di musim gugur hingga 12–14% bahan kering di musim semi. Dinding sel terdiri dari asam alginat dan selulosa, heteropolisakarida dengan rantai panjang dan melimpah (20–27%, 20–45%, dan 15–30% untuk *M. pyrifera*, *Laminaria digitata* (*L. digital*) dan *A. nodosum*, masing-masing). Fucoidan terdiri dari unit polisakarida dengan jumlah sulfasi yang bervariasi, dan membentuk dinding sel dari banyak makroalga coklat, terutama *Laminariales* dan *Fucales* (Remya *et al.*, 2022). Berbeda dengan rumput laut lain yang menyimpan karbohidrat berupa pati, rumput laut coklat menyimpan karbohidrat dalam bentuk laminarin, suatu polisakarida glukosa (Sanjeewa *et al.*, 2018). Natrium (2,2% dalam *L. digitata* dan 4% masuk *A. nodosum*), kalium (3,8% dan 3% dalam *L. digitata* dan *A. nodosum* masing-masing, dan yodium (1,1% dan 0,1% dalam *L. digitata* dan *A. nodosum*, masing-masing tinggi rumput laut coklat. Tentu *Laminaria* dapat menyerap yodium dengan laju lebih dari tiga puluh ribu kali laju konsentrasi yodium di lautan (C.S Dhanalakshmi *et al.*, 2020). Komposisi bervariasi tergantung pada berbagai fitur misalnya, *M. pyrifera* dibudidayakan di musim panas di sepanjang pantai Meksiko mengandung lebih banyak asam amino dan mineral daripada *M. pyrifera* panen pada

musim dingin (Circuncisão *et al*, 2018). Senyawa fenolik (florotanin) yang terkandung di dalamnya *A. nodosum* tidak larut dalam saluran pencernaan hewan. Banyak jenis rumput laut memiliki asam glutamat bebas dalam jumlah tinggi, yang bertanggung jawab untuk “umami” rasa yang ditemukan dalam masakan Jepang dan digunakan sebagai penyedap rasa dalam makanan. *Sargassum* rendah protein tetapi tinggi karbohidrat dan merupakan mineral yang mudah diakses. Mereka juga kaya akan vitamin dan β -karoten dan bebas dari antinutrien (Purcell-Meyerink *et al*, 2021).

2.3 *Sargassum Bideri*

Genus *Sargassum* termasuk golongan alga cokelat (*Phaeophyta*) yang banyak tumbuh di perairan beriklim sedang. *Sargassum* sp. tumbuh melekat pada batu, karang atau kerang di zona sub-tidal sampai kedalaman 0,01% cahaya matahari masih tersedia. Genus *Sargassum* termasuk famili *Sargassaceae*, ordo *Fucales*, kelas *Phaeophyceae*, subkelas *Cyclosporeae*. *Sargassum* sp. terdiri dari sekitar 400 spesies seperti *S. tenerrimum*, *S. micracanthum*, *S. thunbergii*, *S. wightii*, *S. cristaeifolium*, *S. muticum*, *S. bideri*, *S. polycystum*, dan *S. horneri*. Senyawa bioaktif dalam *Sargassum* sp. tersebut berpotensi sebagai sumber nutrasetikal, farmasetikal maupun pangan fungsional (Rohimi *et al*, 2019). *Sargassum bideri* adalah spesies rumput laut coklat (*Phaeophyceae*). *Sargassum bideri* dari Pantai Sungai Nipah mengandung 6,93% protein kasar; 1,07% lemak; 7,76% serat kasar; 2179,63 kkal/kg energi; 0,64% Ca ; 0,62% P dan 20,89% alginat, garam 17% (Purcell *et al*, 2021). Florotanin, fukosantin, fukoidan, alginat, fukosterol, meroditerpenoid dan gentisic acid adalah senyawa bioaktif dominan dalam *Sargassum Bideri*. Meroditerpenoid merupakan

senyawa bioaktif khas dalam *Sargassum Binderi*, yang tidak diproduksi oleh genus rumput laut lainnya (Dewi *et al*, 2018).

Tabel 2.1
Kandungan dan Manfaat Rumput Laut Genus *Sargassum*

Jenis	Kandungan	Manfaat
<i>Sargassum Binderi</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat, fukosantin, asam lemak, fucoidan	Antioksidan, Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Crassifolium</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat, asam amino, asam lemak, mineral (Ca, Fe, P)	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Duplicatum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat, flavonoid, phlorotanin, alkaloid	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Echinocarpum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Fenitan</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Filipendula</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil

<i>Sargassum Gracillimum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Hystrix</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Mollerii</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, Alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Polycistum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Polyceratium</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Siliquosum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Sineureum</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil
<i>Sargassum Sp</i>	Protein, Vitamin C, tanin, iodine, fenol, alginat	Bahan Pangan, Obat-obatan, Kosmetik dan Tekstil

Sumber: Pakidi *et al*, 2017

Sargassum umumnya tumbuh liar di alam dan secara terbatas dibudidayakan di beberapa perairan dan belum banyak dimanfaatkan bahkan hanya dianggap sebagai sampah perairan (Pakidi *et al*, 2017). Maka dari itu *sargassum binderi* dipilih untuk diteliti lebih lanjut.

2.4 Molekul Bioaktif dari *Saragassum Binderi*

2.4.1 Florotanin

Polifenol juga dikenal sebagai fitokimia karena terdapat pada tanaman. Polifenol adalah kelompok luas dan heterogen dari molekul yang muncul secara alami dengan karakteristik fenolik di lingkungan akuatik dan terestrial sebagai metabolit sekunder. Karena aplikasi biologisnya yang luas, polifenol alami ini telah diidentifikasi sebagai pengganti yang mungkin untuk berbagai formulasi industri yang terdiri dari nutraceuticals, suplemen makanan, cosmeceuticals, dan obat-obatan (Remya *et al.*, 2022). Tanin merupakan senyawa polifenol yang terdapat secara alami pada tumbuhan. Mereka ditemukan di tumbuhan laut dan darat. Tidak seperti tanin yang ditemukan di lingkungan terestrial, hanya alga coklat laut yang ditemukan mengandung florotanin. Mereka memiliki struktur yang lebih sederhana daripada tanin terestrial dan dibuat sepenuhnya dari polimerisasi phloroglucinol. Banyak penelitian selama bertahun-tahun telah dilakukan pada fungsi dan peran florotanin. Selain itu, berbagai turunan phlorotannin diekstraksi dari berbagai ganggang coklat. Phlorotannins dilaporkan memiliki efek tidur, antibakteri (Remya *et al.*, 2022), antioksidan (Rangaraj *et al.*, 2022) dan algisida. Telah ditemukan memiliki tindakan penghambatan terhadap HIV-1 reverse transcriptase (Remya *et al.*, 2022).

2.4.2 Fucoxanthin

Fucoxanthin adalah salah satu varian xanthophylls yang paling umum dalam alga coklat, pigmen alami yang termasuk dalam keluarga karotenoid. Seiring dengan karoten, hadir dalam rumput laut coklat yang dapat dimakan seperti *Hyalogonium Fusiforme*, *Undaria Pinnatifida*, *Laminaria Japonica*, dan *Sargassum Fulvellum*. Ini adalah salah satu karotenoid yang paling umum. Secara eksternal, pada semua spesies alga, keberadaan fucoxanthin dapat dengan mudah diakses dengan mengamati warnanya (Remya *et al*, 2022). Seperti namanya, ini digunakan sebagai pewarna aditif dalam kloroplas rumput laut coklat dan banyak heterokont lainnya, memberikan warna hijau zaitun atau coklat. Banyak penelitian saat ini sedang dilaporkan tentang mengekstraksi fucoxanthin dari spesies ganggang coklat tertentu, yang memungkinkan zat tersebut digunakan dalam berbagai aplikasi fungsional. Menurut beberapa penelitian nutrisi dan metabolisme yang dilakukan di Universitas Hokkaido pada tikus, fucoxanthin merangsang pembakaran lemak di dalam jaringan adipose putih dengan meningkatkan ekspresi termogenin. Selanjutnya, fucoxanthin telah ditemukan untuk menawarkan spektrum yang luas dari bioaplikasi (Rangaraj *et al*, 2022).

2.4.3 Alginic Acid dan Fucoidan

Polisakarida berdasarkan produk alami bioaktif telah menarik banyak minat dalam farmakologi selama beberapa tahun terakhir. Rumput laut kaya akan polisakarida larut dan dapat digunakan sebagai serat. Algae coklat, khususnya, ditemukan mengembangkan polisakarida yang efisien, termasuk fukoidan dan alginat. Aktivitas antitumoral, antikoagulan, antivirus, dan antiinflamasi adalah beberapa sifat

biologis yang berbeda dari turunan alginate acid dan fucans (Remya, 2022; Circuncisão 2018). Alginic acid (algin atau alginat) adalah polisakarida pembentuk gel dari -L-Gulu-ironis, dan 1, 4-linked β -D-mannuronic acid tersusun dalam urutan yang tidak beraturan melalui rantai. Polisakarida koloid hidrofilik ini umumnya ditemukan pada zat intraseluler alga coklat dan dinding sel. Ini juga salah satu polisakarida struktural paling signifikan dari ganggang coklat. Fucoidan dan asam alginat membentuk sebagian besar polisakarida asam di dinding sel ganggang coklat. Alginat alga coklat umumnya digunakan dalam berbagai formulasi farmasi. Ini juga merupakan zat pengental yang bermanfaat untuk jeli, minuman, dan es krim dalam industry makanan. Hal ini juga digunakan untuk produksi kosmetik sebagai bahan pengikat dan pengental air karena alginate mudah menyerap air, membuatnya menjadi aditif yang berguna dalam formulasi kosmetik (Remya *et al*, 2022).

Fucoidan adalah polisakarida yang terdiri dari sejumlah besar ester sulfat dan gugus L-fucose dan terdapat pada banyak spesies ganggang coklat. Ganggang coklat memiliki polisakarida tersulfasi ini di dinding selnya (Mohd Fauziee, 2021). Polisakarida sulfat, juga dikenal sebagai fucoidans dalam ganggang coklat laut, memiliki aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang potensial. Derajat sulfasi tinggi Fucoidan tampaknya menentukan fungsi biologisnya, tetapi fungsi ini didasarkan pada berat molekul dan struktur halus (Remya *et al*, 2022). Fucoidan juga berpotensi untuk meningkatkan sifat kosmetik kulit. Oleh karena itu, bahan serbaguna dengan aplikasi dalam formulasi kosmetik penting. Polygalactosides mengikat dengan lapisan luar yang melindungi kulit, membentuk kompleks pelembab pelindung oleh interaksi

ion-ion, sedangkan polimer fucose bersifat penyerap dan bertindak seperti zat pelembab. Fucus memiliki kandungan asam amino esensial dan nonesensial yang tinggi seperti lisin, prolin, dan glisin, yang terdapat dalam serat elastis kulit. Dari perspektif ini, fukoidan polisakarida tersulfasi dari ganggang coklat dapat membantu menjaga elastisitas kulit dengan meningkatkan hidrasi dan dengan demikian memperkuat sifat fleksibel kulit (Remya,2022; Thiyagarasaiyar, 2022).

2.4.4 Laminarin/Laminarans.

Rumput laut coklat mengandung polisakarida penyimpanan esensial yang disebut laminaran atau laminarin (misalnya, Laminaria atau sakarin), akuntansi hingga 32-35% (d. w.) dari total polisakarida penyimpanan. Laminarin adalah glukana yang memiliki polisakarida yang berbentuk linier, terdiri dari β -glukosa dengan perbandingan 3:1 dengan acak β -(1 \rightarrow 6) percabangan intrachain. Jumlah polimerisasi berbeda dari 20 hingga 50 unit. Rantai polimer telah diklasifikasikan menjadi dua jenis: rantai G dengan residu glukosa dan rantai M dengan residu D-manitol. Bergantung pada tingkat polimerisasi (biasanya 25), berat molekul laminaria adalah sekitar 5 kDa. Telah dilaporkan bahwa laminarin memiliki banyak aktivitas biologis, termasuk potensi antitumor, antiapoptosis, antiinflamasi, antikoagulan, dan antioksidan (Rangaraj *et al*, 2022). Remya *et al*. (2018) melaporkan ekstraksi laminarin menggunakan rumput laut coklat *Turbinaria ornate* yang bertindak sebagai komponen bioaktif potensial.

2.5 Fukoidan Sebagai *Hemostatic Agent*

Fukoidan telah dilaporkan mempunyai bioaktivitas dan memiliki nilai potensial medis untuk digunakan sebagai *hemostatic agent*. Fukoidan dapat berfungsi sebagai antivirus, antioksidan dan antikanker dan dapat memodulasi pembekuan darah, selain itu dapat juga berfungsi sebagai antikoagulan hanya pada konsentrasi tinggi. Fukoidan dikatakan polisakarida sulfat Non- Antikoagulan (NAPs). Aktivitas prokoagulan terjadi pada konsentrasi yang jauh lebih rendah dan fukoidan dianggap senyawa kelas baru untuk meningkatkan koagulasi (Zhang *et al.*, 2014). Aktivitas prokoagulan fukoidan berguna mengobati gangguan perdarahan seperti hemophilia tipe A dan B yang masing – masing disebabkan oleh defisiensi faktor pembekuan FVIII dan FIX (Lilikrap, 2013). Pentosan Polisulfat (PPS) dan fukoidan merupakan NASP yang menarik karena keduanya menghambat Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI) dan meningkatkan waktu pembekuan plasma manusia yang kekurangan faktor VII, VIII, dan IX (Lie *et al.*, 2006).

2.6 Vitamin K

Phytonadione merupakan obat yang digunakan untuk mengobati dan mengatasi kekurangan vitamin K yang berguna untuk mengatasi perdarahan intracranial atau perdarahan lainnya. Vitamin K memiliki peranan penting dalam fisiologi pembekuan, yaitu sebagai kofaktor untuk karboksilasi residu glutamat pada modifikasi pascasintesis protein untuk membentuk asam amino tak-lazim γ -karboksi-glutamat. Faktor pembekuan II, VII, IX, dan X serta protein S dan C masing-masing mengandung 4-6

residu γ - karboksiglutamat. γ -Karboksiglutamat mengikat ion kalsium sehingga protein pembekuan darah dapat berikatan dengan membran. Faktor pembekuan (faktor II, VII, IX, X) yang memiliki kemampuan mengikat Ca^{2+} memegang peranan dalam mekanisme hemostasis plasma (Hanifa *et al*, 2017)

2.7 Perdarahan

Kondisi dimana keluarnya darah dari pembuluh darah karena rusaknya kontinuitas pembuluh darah karena trauma atau infeksi merupakan proses perdarahan. Komplikasi dapat terjadi jika terjadi perdarahan berlebih dan perlu dipertimbangkan. Perdarahan yang berlebih merupakan akibat kegagalan proses hemostatik yang dapat menyebabkan masalah klinis. Pendarahan dapat disebabkan oleh defisiensi faktor pembekuan darah. mekanisme pertahanan tubuh yang berperan penting untuk menghentikan pendarahan disebut hemostatis. Proses hemostasis dibagi menjadi empat tahap utama, vasokonstriksi, agregasi trombosit, adhesi trombosit, dan pembekuan darah. merupakan respons awal terhadap cedera melalui penyusutan sel otot polos di dalam dinding pembuluh darah yang berfungsi untuk mengurangi aliran darah melalui pembuluh darah yang rusak merupakan vasokonstriksi (Riddel *et al*, 2007). Penumpukan platelet terjadi setelah pembuluh darah yang cedera mengalami vasokonstriksi. Agregasi trombosit membentuk sumbat trombosit yang selanjutnya diperkuat oleh benang-benang fibrin yang terbentuk melalui proses pembekuan darah. Pembuluh darah yang terluka tersebut akan menyebabkan kerusakan sel endotel dan membuka jaringan ikat di bawahnya. Hal ini menyebabkan terjadinya adhesi platelet,

yaitu proses perlekatan platelet pada permukaan serat kolagen. Trombosit juga akan menempel pada trombosit lain yang disebut agregasi trombosit (Fraga *et al*, 2021).

2.8 Hemostatis

Hemostasis adalah proses dinamis yang terjadi didalam tubuh dimana pembekuan darah dimulai dan diakhiri dengan cara yang cepat sehingga mencegah terjadinya trauma atau luka. Pembekuan darah (penghentian kehilangan darah dari pembuluh yang rusak) adalah bagian dari mekanisme pertahanan host yang penting. Setelah cedera pembuluh darah, trombosit menempel pada makromolekul di jaringan subendotelial di lokasi cedera dan kemudian beragregasi untuk membentuk sumbat hemostatik primer. Trombosit merangsang aktivasi lokal faktor koagulasi plasma, yang mengarah pada pembentukan bekuan fibrin yang memperkuat platelet agregat. Kemudian, saat penyembuhan luka terjadi, platelet agregat dan bekuan fibrin dipecah dan dihilangkan (Riddel *et al*, 2007). Sistem hemostasis pada dasarnya terbentuk dari tiga kompartemen hemostasis yang sangat penting dan sangat berkaitan yaitu trombosit, protein darah, dan jaring-jaring fibrin pembuluh darah (Putri, 2021).

Hemostasis normal terjadi sebagai hasil dari serangkaian proses yang diatur untuk mencapai 2 fungsi; pertama, ia mempertahankan darah dalam keadaan cair, bebas bekuan, dan kedua, ia menginduksi sumbat hemostatik yang cepat dan terlokalisir di lokasi cedera vaskular). Pembekuan darah terjadi ketika enzim trombin dihasilkan yang memproteolisis fibrinogen plasma yang larut, membentuk polimer atau bekuan fibrin yang tidak larut. Mekanisme yang membatasi pembentukan agregat

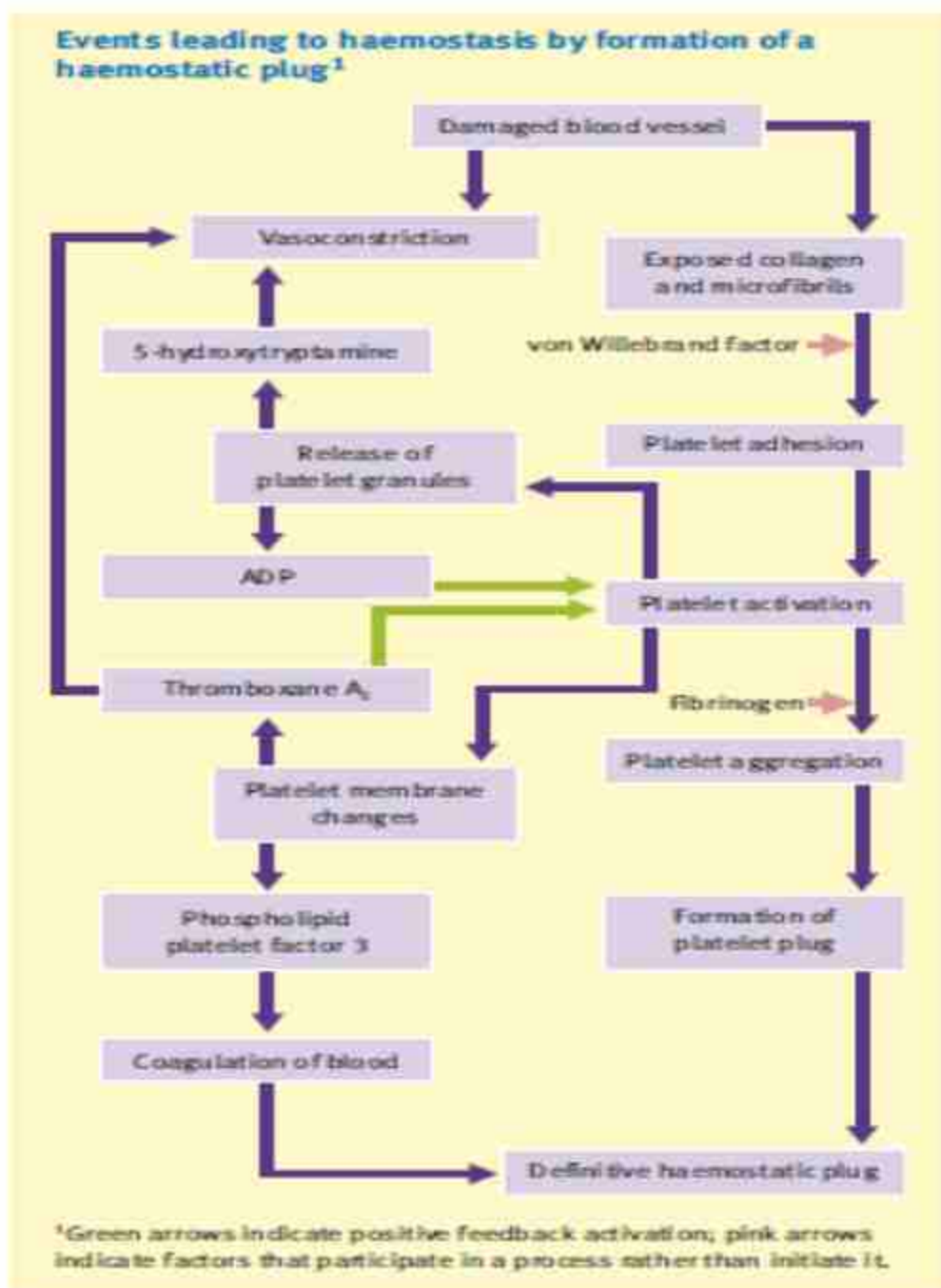
trombosit dan bekuan fibrin ke tempat cedera diperlukan untuk menjaga fluiditas darah (Riddel *et al*, 2007).

Hemostatis merupakan proses yang kompleks maka dari itu dibagi dalam beberapa bagian, proses hemostasis primer, hemostasis sekunder (koagulasi), fibrinolisis, dan mekanisme pengaturan keseimbangannya (Umar *et al*, 2020).

2.8.1 Proses Hemostatis

Pada proses perdarahan dari pembuluh darah maka yang terjadi adalah adanya kerusakan dinding pembuluh darah dan tekanan di dalam pembuluh darah lebih besar daripada tekanan di luar. Oleh karena itu, terjadi dorongan darah keluar dari kerusakan tersebut. Mekanisme hemostatik inheren dalam keadaan normal mampu menambal kebocoran dan menghentikan pengeluaran darah melalui kerusakan kecil di kapiler, arteriol, dan venula (Minors *et al*, 2007). Pembuluh-pembuluh darah ini sering mengalami *rupture* oleh trauma-trauma minor yang terjadi sehari-hari. Trauma semacam ini adalah sumber tersering perdarahan. Mekanisme hemostatis dalam keadaan normal menjaga agar kehilangan darah melalui trauma kecil tersebut tetap minimum (Umar *et al*, 2020).

Tahapan atau proses hemostasis dibagi menjadi tiga langkah utama (gambar 2) yaitu: (1) spasme vaskuler (Vasokonstriksi vaskuler), (2) pembentukan sumbat trombosit Hemostasis Primer, (3) koagulasi darah Hemostasis Sekunder. Sedangkan proses hemostasis akan dipertahankan keseimbangannya melalui: (1) mekanisme kontrol pembekuan darah, (2) proses fibrinolisis (Minors *et al*, 2007).



Gambar 2.2 Tahapan hemostatis

2.8.2 Vasokonstriksi vaskuler (Proses Spasme Vaskuler)

Pembuluh darah yang terpotong atau robek akan segera berkonstriksi akibat respon vaskuler inheren terhadap cedera dan vasokonstriksi yang diinduksi oleh rangsang simpatis (Minors *et al*, 2007). Konstriksi ini akan menghambat aliran darah melalui *defect*, sehingga pengeluaran darah dapat diperkecil. Karena permukaan endotel pembuluh darah saling menekan satu sama lain akibat proses spasme vaskuler awal, endotel tersebut menjadi lengket dan melekat satu sama lain, kemudian menutup pembuluh yang rusak. Tindakan fisik ini saja tidak cukup untuk secara total mencegah pengeluaran darah selanjutnya, tetapi penting untuk memperkecil pengeluaran darah dari pembuluh darah yang rusak sampai tindakan-tindakan hemostatik lainnya mampu menyumbat *defect* tersebut (Fraga *et al*, 2021).

2.8.3 Proses Adhesi Trombosit (Hemostasis Primer)

Setelah terjadi kerusakan endotel dan berlanjut dengan pembentukan plak trombosit hemostasis primer mulai terjadi dalam beberapa detik dalam waktu 5 menit. Dalam proses ini, faktor endotel dan trombosit memegang peranan yang sangat penting (Fraga *et al*, 2021). Dalam pemeriksaan mikroskop elektron diketahui ultra struktur trombosit terdiri atas berbagai bagian:

1. Mikrofilamen dan mikrotubula, terdapat langsung dibawah membran sel, menghasilkan sitoskeleton untuk mempertahankan bentuk diskoid selama dalam sirkulasi dan mempertahankan posisi organel, mengatur organisasi

internal dalam reaksi pelepasan, mengandung trombostenin yang dapat menyebabkan trombosit berkontraksi (Umar *et al*, 2020).

2. Glikokaliks, selaput berbulu halus yang mengelilingi membran trombosit. Pada permukaan ini terdapat reseptor-reseptor glikoprotein yang menjadi reaksi-reaksi kontak membran pada adhesi, perubahan bentuk sel, kontraksi internal, dan agregasi. Nomenklatur reseptor ini dengan GPI (*glycoprotein*) untuk berat molekul terberat dan GPII, GPIII, dan seterusnya untuk berat molekul yang lebih ringan secara sekuensial. Dalam keadaan normal, reseptor-reseptor ini tidak semuanya dalam bentuk aktif bahkan ada yang tidak terpapar ke permukaan (Fraga *et al*, 2021).
3. Membran sitoplasma mengadakan invaginasi dan membentuk *surface connecting canalicular system* (SCCS) yang berfungsi sebagai tempat absorpsi selektif faktor-faktor koagulasi plasma, tempat sekresi pada reaksi pelepasan, dan memperluas permukaan trombosit (Riddel *et al*, 2007).
4. Dalam sitoplasma trombosit terdapat granula alfa dan granula padat. Dalam reaksi, granula alfa akan mengeluarkan faktor von Willebrand (vWF), fibrinogen, F V, *Platelet Factor* (PF4), 1,6-FIX, fibrinektin, trombospodin, protein S, plasminogen aktivator inhibitor, 6 dan *platelet derived growth factor* (PDGF) beta tromboglobulin. Beberapa protein merupakan hasil penyerapan dari plasma di antaranya fibrinogen, F V dan F VII, sedangkan granula padat mengeluarkan ADP (*adenosine 5'-diphosphate*), ATP (*adenosine triphosphate*), ion Ca, serotonin, epinefrin, dan norepinefrin (Umar *et al*, 2020).

Ketika dalam keadaan normal trombosit normal tidak melekat di permukaan endotel pembuluh darah, tetapi apabila lapisan ini rusak akibat cedera pembuluh, trombosit akan melekat ke kolagen yang terpajan, yaitu protein fibrosa yang terdapat di jaringan ikat dibawahnya. Saat endotel mengalami kerusakan, maka kolagen dan matriks lain sub endotel akan terpapar dan akan memicu adhesi trombosit (Umar *et al.*, 2020).

Pada studi *in vitro*, dalam kondisi statis atau aliran yang lambat pada sirkulasi vena menunjukkan permukaan trombosit akan beradesi dengan kolagen, fibronektin, laminin dan mikrofibril. Pada aliran yang lebih cepat pada mikrosirkulasi arteriol kolagen, fibronektin, dan laminin saja tidak adekuat untuk terjadinya adhesi trombosit. Untuk itu diperlukan vWF yang merupakan kompleks pada F VIII dan disintesis oleh sel endotel dan megakariosit. vWF akan berikatan dengan kolagen sub endotel yang selanjutnya akan mengikat permukaan reseptor GPIb-IX pada trombosit. Adesi ini berlangsung dalam 1-2 menit setelah robekan. Trombosit yang beradhesi akan mengalami aktivasi. Aktivasi trombosit menyebabkan perubahan bentuk trombosit, kontraksi, dan pengeluaran matriks yang terdapat pada granula sitoplasma trombosit (antara lain PF, beta tromboglobulin, trombosudin, vWF, fibrinogen, fibronektin, Ca, ADP, ATP, serotonin, dan 5OH triptamin). Agregasi trombosit awalnya dicetuskan oleh ADP yang dikeluarkan oleh trombosit yang beradhesi dan disebut sebagai agregasi trombosit primer yang bersifat reversible. Adhesi merupakan gaya afinitas permukaan trombosit dengan reseptor yang bukan berasal dari permukaan trombosit, sedangkan agregasi adalah afinitas antara permukaan sel trombosit. Trombosit dapat diaktivasi

oleh ADP, trombin, atau kolagen. ADP akan berikatan dengan permukaan trombosit dan menyebabkan reseptor GPIIb dan GPIIIa terbuka (Igelbrink *et al*, 2018). Fibrinogen dapat berikatan dengan lebih dari satu trombosit pada reseptor-reseptor ini dengan perantara CA, sehingga terbentuk ikatan kompleks antara GPIIb dan GPIIIa dengan Ca dan fibrinogen. Ikatan yang timbul bersifat lemah. Trombosudin yang dilepaskan dari granul juga akan menyebabkan adhesi trombosit dan memperkuat agregasi (Fraga *et al*, 2021).

2.8.4 Hemostasis Sekunder

Koagulasi darah merupakan Proses koagulasi darah terdiri dari rangkaian enzimatik yang melibatkan banyak protein plasma. Faktor koagulasi terdiri dari glikoprotein dengan berat molekul lebih dari 40.000. Nomenklatur faktor pembekuan adalah menggunakan angka Romawi sesuai dengan urutan ditemukan. Ketika keadaan normal faktor pembekuan berada dalam plasma dalam bentuk prekursor *inert* sebagai prokoagulan atau proenzim dan akan diubah dalam bentuk enzim aktif atau sebagai kofaktor selama proses koagulasi. Bentuk aktif ditandai dengan huruf 'a' dibelakangnya. Untuk fibrinogen, protrombin, tromboplastin jaringan, ion Ca, prekallikrein (PK), dan *high molecular weight kininogen* (HMWK) biasanya tidak ditulis sebagai angka Romawi (Umar *et al*, 2020)

Teori yang banyak dianut untuk menerangkan proses koagulasi adalah teori kaskade atau *waterfall* yang dikemukakan oleh Mac Farlane, Davie, dan Ratnoff. Menurut teori ini, tiap faktor koagulasi diubah menjadi bentuk aktif oleh faktor sebelumnya dalam rangkaian faktor enzimatik. Faktor pembekuan beredar dalam darah

sebagai prekursor yang akan diubah menjadi enzim bila diaktifkan. Enzim ini akan mengubah prekursor selanjutnya menjadi enzim. Mula-mula, faktor pembekuan bertindak sebagai substrat dan kemudian sebagai enzim. Banyak reaksi dalam kaskade koagulasi melibatkan satu faktor yang mengaktifkan faktor yang lain. Beberapa faktor koagulasi diaktifkan dengan melibatkan beberapa faktor koagulan dan ada yang bertindak sebagai ko-faktor. Ini disebut sebagai '*reaction complex*' (Fraga *et al.*, 2021).

Faktor V dan VIII bertindak sebagai kofaktor dalam '*reaction complex*' pada kaskade koagulasi. Tanpa adanya kofaktor ini, maka reaksi akan berjalan sangat lambat. Kedua, faktor ini dikenal sebagai faktor yang labil karena aktivitas koagulan ini sangat singkat di darah.⁶ Demikian juga HMWK dan tromboplastin jaringan bertindak sebagai kofaktor. Sedangkan faktor XII, XI, prekallikrein, X, IX, VII, dan protrombin adalah zimogen proteinase serin yang akan diubah menjadi enzim aktif selama proses koagulasi. Dalam sirkulasi, faktor VIII merupakan protein plasma yang kompleks dan terdiri dari dua komponen. Bagian dengan berat molekul besar terdapat antigen faktor VIII (VIII:R-Ag) dan vWF. Bagian dengan berat molekul kecil terdiri dari *activity coagulant factor* VIII (VIII:C). Bagian ini kemungkinan besar disintesis di hati. vWF mempunyai 2 fungsi utama yaitu sebagai perekat kolagen subendotel dengan trombosit pada proses adhesi dan sebagai protein pembawa faktor VIII (VIII:C). Kadar faktor VIII akan meningkat oleh epinefrin, vasopresin, dan estrogen (Putri *et al.*, 2021).

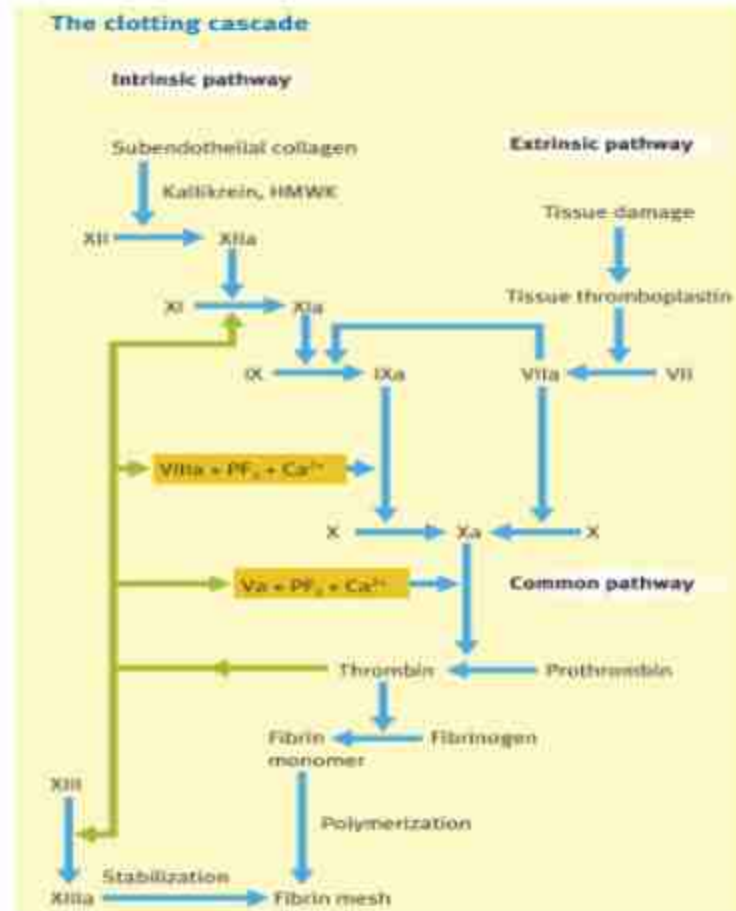
Beberapa faktor koagulasi yaitu protombin, faktor VII, IX, dan X memerlukan vitamin K dalam proses sintesisnya di hati, sehingga disebut dengan *Vitamin K dependent factor*. Vitamin K diperlukan untuk reaksi enzimatik tahap akhir proses

sintesis dengan penambahan gugus karboksil. Tanpa adanya gugus karboksil, maka faktor koagulasi tidak dapat berikatan dengan permukaan fosfolipid dengan diperantarai oleh Ca. Kekurangan vitamin K akan menyebabkan faktor koagulasi yang disintesis tidak fungsional walaupun secara kualitatif kadarnya tidak menurun. Kaskade mekanisme koagulasi terus berkembang. Pada tahun 1964, teori klasik mekanisme koagulasi menyatakan bahwa proses koagulasi dapat dipicu melalui dua jalur yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik (Umar *et al*, 2020).

Jalur intrinsik klasik dimulai dengan faktor kontak (faktor XII, XI, prekallikrein, dan HMWK) yang bersentuhan dengan permukaan asing dan terjadilah reaksi aktivasi kontak. Kontak antara F XII dengan permukaan asing akan menyebabkan aktivasi F XII menjadi F XIIa. F XIIa akan mengubah prekallikrein menjadi kallikrein yang akan meningkatkan aktivasi F XII selanjutnya dengan adanya kofaktor HMWK. Disamping itu, kallikrein akan mengaktifkan F VII menjadi F VIIa pada jalur ekstrinsik, mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin pada sistem fibrinolitik, serta mengubah kininogen menjadi kinin yang berperan dalam reaksi inflamasi. Kemudian FXI diaktifkan menjadi FXIa oleh FXIIa dengan HMWK sebagai kofaktor. FXIa dengan adanya ion Ca akan mengubah FIX menjadi FIXa. Selanjutnya, kompleks FIXa, PF-3, FVIII, dan in CA akan mengaktifkan FX 1,4,6 Jalur intrinsik dimulai dengan aktivasi FVII oleh terpaparnya TF dan selanjutnya mengaktifkan FX. Setelah itu, kedua jalur tersebut akan bertemu di jalur bersama (Umar *et al*, 2020).

Pada individu yang menderita defisiensi faktor FXII, prekallikrein dan HMWK tidak menunjukkan perdarahan abnormal secara klinis, walaupun keluhan

perdarahannya dapat bervariasi dan biasanya ringan. Ini menunjukkan FXII, prekallikrein dan HMWK tidak begitu diperlukan dalam hemostasis *in vivo*. Reaksi jalur intrinsik dapat terjadi dengan pengaruh FVII/TF dan trombin .



Gambar 2.3 Kaskade koagulasi

Pada saat terjadi *injury* endotel, FVII akan terikat dengan TF dan segera berubah menjadi FVIIa. Kompleks FVIIa/TF kemudian mengaktifkan FX dan juga FIX menjadi FXa dan FIXa. FIXa akan membentuk kompleks FIXa, FVII, PF-3 dan Ca untuk mengaktifkan FX menjadi Fxa. Setelah itu maka akan memasuki jalur bersama

dengan pembentukan *protombin converting complex* (kompleks protombinase) yang terdiri dari Fxa, FV, PF-3 dan Ca. Kompleks protombinase kemudian akan mengubah protombin menjadi trombin. Trombin akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin, mengaktifasi FXII, FV, FVII, dan FIX, merangsang reaksi pelepasan dan agregasi trombosit.^{6,7,8} Trombin akan memecah rantai alfa dan beta pada N-terminal menjadi fibrinopeptida A, B dan fibrin monomer. Fibrin monomer akan segera mengalami polimerisasi untuk membentuk fibrin polimer *soluble*. Dengan adanya FXIIIa dan Ca, maka fibrin polimer akan diubah menjadi fibrin polimer *insoluble* karena terbentuk ikatan silang antara 2 rantai gamma dari fibrin monomer bersebelahan (Fraga *et al*, 2021)

FXa lebih cepat terjadi oleh FVIIa/TF dan menjadi pertanyaan mengapa terjadi perdarahan pada penderita hemofilia. Ini semua dikarenakan *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI). Di dalam plasma, konsentrasi TFPI hanya 1/4 dari konsentrasi FVII dan hampir 1/1000 dari kadar antitrombin. TFPI memerlukan FXa dalam menghambat FVI/TF menghasilkan FIXa dan FXa. Pada awal terbentuknya FVIIa/TF, fungsinya tidak dihambat karena FXa belum terbentuk. Reaksi akan berlanjut hingga terbentuknya trombin. Trombin akan mengaktifasi FIX, FVIII sehingga produksi FXa selanjutnya akan tergantung pada jalur alternatif lain (*intrinsic*) (Umar *et al*, 2020)

2.8.5 Mekanisme Kontrol Pembekuan Darah

Pembekuan darah merupakan proses autokatalitik dimana sejumlah kecil enzim yang terbentuk pada tiap reaksi akan menimbulkan enzim dalam jumlah besar pada reaksi selanjutnya. Oleh karena itu perlu adanya mekanisme kontrol untuk mencegah

aktivasi dan pemakaian faktor pembekuan darah secara berlebihan yaitu melalui aliran darah, mekanisme pembersihan (*clearance*) seluler dan inhibitor alamiah (Umar *et al*, 2020).

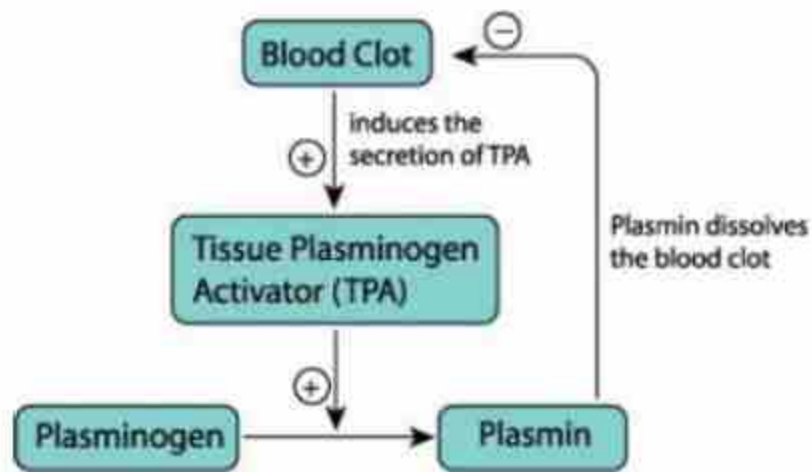
Tabel 2.2
Faktor-faktor pembekuan darah

Clotting factor number	Clotting factor name	Function	Plasma half-life (h)	Plasma concentration (mg/L)
I	Fibrinogen	Clot formation	90	3000
II	Prothrombin	Activation of I, V, VII, VIII, XI, XIII, protein C, platelets	65	100
III	TF	Co factor of VIIa	-	-
IV	Calcium	Facilitates coagulation factor binding to phospholipids	-	-
V	Proaccelerin, labile factor	Co-factor of X-prothrombinase complex	15	10
VI	Unassigned			
VII	Stable factor, proconvertin	Activates factors IX, X	5	0.5
VIII	Antihæmophilic factor A	Co-factor of IX-tenase complex	10	0.1
IX	Antihæmophilic factor B or Christmas factor	Activates X. Forms tenase complex with factor VIII	25	5
X	Stuart-Prower factor	Prothrombinase complex with factor V. Activates factor II	40	10
XI	Plasma thromboplastin antecedent	Activates factor IX	45	5
XII	Hageman factor	Activates factor XI, VII and prekallikrein		-
XIII	Fibrin-stabilising factor	Crosslinks fibrin	200	30
XIV	Prekallikrein (F. Fletcher)	Serine protease zymogen	35	
XV	HMWK- (F Fitzgerald)	Co factor	150	
XVI	vWF	Binds to VIII, mediates platelet adhesion	12	10 µg/mL
XVII	Antithrombin III	Inhibits IIa, Xa, and other proteases	72	0.15-0.2 mg/mL
XVIII	Heparin cofactor II	Inhibits IIa	60	-
XIX	Protein C	Inactivates Va and VIIIa	0.4	-
XX	Protein S	Cofactor for activated protein C		-

Sumber: Palta *et al*, 2010

2.8.6 Fibrinolisis

Fibrinolisis adalah proses penghancuran deposit fibrin oleh sistem fibrinolitik sehingga aliran darah akan terbuka kembali. Sistem fibrinolitik terdiri dari tiga komponen utama yaitu plasminogen yang akan diaktifkan menjadi plasmin, aktivator plasminogen, dan inhibitor plasmin (Umar *et al*, 2020).



Gambar 2.4 Proses Fibrinolisis

2.9 Pemeriksaan Faal Hemostatis

2.9.1 Bleeding Time

Bleeding time (BT) didefinisikan sebagai waktu yang dihitung dari tusukan pada pembuluh darah hingga terhentinya perdarahan. Bleeding time tergantung pada berbagai faktor seperti fungsi trombosit dan jalur koagulasi yang biasanya berlangsung selama 2 – 6 menit (Adhana *et al.*, 2018).

Bleeding time menilai kemampuan darah untuk membeku setelah adanya luka atau trauma, dimana trombosit berinteraksi dengan dinding pembuluh darah untuk pemeriksaan penyaring hemostasis primer atau interaksi antara trombosit dan pembuluh darah dalam membentuk sumbat hemostatic (Fraga *et al.*, 2021).

Bleeding time ditentukan dengan metode kertas saring Duke. Sebuah tusukan kulit yang dalam dibuat dan lamanya waktu yang dibutuhkan untuk menghentikan pendarahan dicatat dengan menyeka tetesan darah yang keluar dari sayatan setiap 30 detik menggunakan kertas penyerap. BT dihitung dengan mengalikan jumlah tetesan pada kertas saring dengan waktu 30 detik. BT normal dengan metode kertas saring Duke biasanya berkisar antara 1–5 menit (Jha *et al.*, 2012).

Bleeding time memanjang pada gangguan fungsi trombosit atau jumlah trombosit dibawah 100.000/mm³. Pemanjangan *bleeding time* menunjukkan adanya defek hemostasis, termasuk didalamnya trombositopenia, gangguan fungsi trombosit herediter, defek vaskuler kegagalan vasokonstriksi, *Von Willebrand's disease*, *disseminated intravascular coagulation* (DIC), defek fungsi trombosit (*Bernard-Soulier disease* dan *Glanzmann's thrombasthenia*), obat-obatan (aspirin atau ASA, inhibitor siklooksigenase, warfarin, heparin, NSAID, *betablockers*, alkohol, antibiotika) dan hipofibrinogenemia (Adhana *et al.*, 2018).

2.9.2 Cloting Time

Clotting time (CT) tergantung pada mekanisme dari efektivitas pembekuan. Clotting time merupakan interval waktu dari tusukan pembuluh darah ke pembentukan benang fibrin. Clotting time cenderung meningkat karena tidak adanya atau kelainan pada faktor pembekuan yang normalnya berlangsung sekitar 3 – 8 menit. CT digunakan untuk menilai faktor-faktor pembekuan darah, khususnya faktor pembentuk tromboplastin dan faktor trombosit, serta kadar fibrinogen (Adhana *et al.*, 2018).

Untuk menghitung CT biasanya digunakan dengan cara menempatkan darah dalam tabung gelas reaksi, lalu menggoyangkan atau memiringkan tabung tersebut setiap 10 detik hingga terbentuk bekuan atau dapat juga menggunakan pipa kapiler yang dipatahkan untuk melihat terbentuknya benang benang fibrin pada proses pembekuan darah. Waktu pembekuan normal pada hewan coba tergantung dari jenis hewan coba yang dipakai dan besar volume darah yang digunakan dalam pemeriksaan (Jha *et al*, 2012)

2.10 Mencit

Mencit merupakan hewan yang sering digunakan sebagai hewan laboratorium. Penggunaan mencit sebagai model laboratorium berkisar 40%. Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Selain itu, mencit dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun (Herman *et al*, 2019). Mencit sering dijumpai dalam riset-riset di laboratorium yang berkaitan dengan bidang fisiologi, farmakologi, biokimia, patologi, histopatologi, toksikologi, embriologi, zoology komparatif serta bidang biomolekuler. Di bidang kedokteran, mencit dipakai untuk keperluan diagnostik. Mencit sering digunakan sebagai objek penelitian klinis karena struktur anatomi dan fisiologinya yang mempunyai kemiripan dengan struktur anatomi dan fisiologi manusia. (Nugroho *et al*, 2018)

Tabel 2.3.
Representatif dan perbedaan utama antara mencit dan manusia.

Parameter	Mencit	Manusia
Klasis	Mammalia	Mammalia
Ordo	Rodentia	Primata
Family	Muridae	Hominidae
Genus dan Spesies	<i>Mus musculus</i>	<i>Homo sapiens</i>
Matang seksual	5-6 minggu	10-15 tahun
Berat badan dewasa (betina)	18-35 gr	75 kg
Berat badan dewasa (jantan)	20-40 gr	87 kg
Luas permukaan tubuh	0.03-0.06 cm ²	1.6-1.9 m ²
Masa hidup	1-3 tahun	Rata-rata 67 tahun
Masa hidup terpanjang yang pernah dilaporkan	4 tahun	122 tahun
Jumlah keturunan	5-11, tergantung strain	1-2
Tungkai alat berjalan	4	2
Tungkai tangan	0	2
Kuku	ada	ada
Ekor	ada	ada
Rumus vertebrae	C7 T13 L6 S4 Cd28	C7 T12 L5 S5 Cd4
Integument	Haired skin predominates	Glabrous skin predominates
Kelenjar keringat	Eccrine only, restricted to feet	Apocrine and eccrine
Vibrissae	ada	Tidak ada
Kelenjar mammae	10 diffuse, cervical, thoracic, abdominal, inguinal	2 discrete, pectoral
Puting susu jantan	Tidak ada	Ada
Kelenjar lakrimal exorbital	Ada	Tidak ada
Kelenjar Harderian	Ada	Tidak ada
Lobus paru-paru	4 kanan, 1 kiri	3 kanan, 2 kiri
Cerebral giry dan sulci	Tidak ada	Ada
Lobus hati	4: kanan, kiri, median, caudate	4: kanan, kiri, caudate, quadrate
Pankreas	Relatively diffuse in mesentery, indistinct lobation	Well-demarcated, left and right lobes, connected by body
Vesikula seminalis	Ada, very prominent	Ada
Prostat	Ada, 6 lobus	Ada, 4 lobus
Bulbourethralis	Ada	Ada
Kelenjar koagulasi	Ada	Tidak ada
Kelenjar preputial	Ada	Tidak ada
Kelenjar klitoris	Ada	Tidak ada
Uterus	Bicornis	Simplex
Plasenta	Discoidal, labyrinth, hemotrichorial	Discoidal, Villious, hemochorial
Tonsil	Tidak ada	Ada
Hubungan usus-jaringan lymphoid	Ada	Ada
Hubungan Nasal-kelenjar	Ada	Tidak ada

Sumber: Nugroho *et al.*, 2018

Di samping kemiripan anatomi dan fisiologi, mencit merupakan kelompok mamalia yang telah diketahui karakter genetiknya, sehingga tidak heran bahwa mencit cocok digunakan sebagai hewan uji laboratorium untuk penelitian-penelitian yang berkaitan dengan genetik. Di antara hewan-hewan mamalia, mencit adalah hewan yang mempunyai kemiripan genetik dengan manusia. Banyak penelitian yang bergerak di bidang manipulasi genetik, rekayasa gen, selalu menggunakan mencit sebagai bahan percobaan (Herman *et al.*, 2019).

Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya. Mencit memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala. Ciri-ciri lain mencit secara umum adalah tekstur rambut lembut dan halus, bentuk hidung kerucut terpotong, bentuk badan silindris agak membesar ke belakang warna rambut putih, mata merah, ekor merah muda (Nugroho *et al.*, 2018).

Mencit merupakan hewan yang termasuk dalam family Muridae. Mencit liar atau mencit rumah adalah hewan satu spesies dengan mencit laboratorium. Semua galur mencit laboratorium sekarang ini merupakan keturunan dari mencit liar sesudah melalui peternakan selektif (Herman *et al.*, 2019). Mencit memiliki taksonomi sebagai berikut:

2.10.1 Klasifikasi Mencit

Kingdom	: Animalia	Sub filum	: Vertebrata
Filum	: Chordata	Class	: Mamalia

Sub class	: Theria	Sub family	: Murinae
Ordo	: Rodentia	Genus	: Mus
Sub ordo	: Myomorpha	Species	: <i>Mus musculus</i>
Famili	: Muridae		

Dari klasifikasi mencit di atas dapat diuraikan beberapa ciri pokok dari mencit: Mencit termasuk dalam filum chordate yang artinya mempunyai chorda dorsalis, batang syaraf dorsal tunggal dan mempunyai celah insang pada masa embrionya dan tidak berfungsi sebagai alat pemapasan. Mencit dikelompokkan dalam kelas mamalia. Seperti telah diketahui, mamalia adalah kelompok hewan vertebrata yang menduduki tempat tertinggi dalam perkembangan hewan. Nama mamalia merujuk pada ciri utama anggota mamalia yaitu adanya kelenjar mammae atau kelenjar air susu yang dapat menghasilkan air susu (pada betina) yang dapat diberikan ke keturunannya (Phifer *et al.*, 2015).

Selain adanya kelenjar mammae, semua jenis mamal mempunyai rambut, namun berbeda dalam hal distribusi, ukuran, fungsi, modifikasi dan kelebihannya. Selain ciri tersebut mencit juga termasuk hewan yang mempunyai adaptasi homoiterm yaitu mempunyai kemampuan mempertahankan suhu tubuh. Ciri lain mencit sebagai kelompok mamalia dan subklas theria adalah, mempunyai daun telinga (pinna), tengkorak bersendi pada tulang atlas melalui dua *condyles occipitalis*, gigi-gigi dijumpai ada hewan muda serta tua, eritrosit tidak bernukleus, otak dengan 4 *lobus opticus* jumlah jari pada tiap kaki tidak lebih dari lima, ginjal tipe metanephros dan bersifat vivipar. Sebagai anggota ordo rodentia, mencit mempunyai cir-iciri: jari-jari

lima masing-masing bercakar, gigi seri pada rahang atas hanya sepasang membentuk seperti pahat dan tumbuh terus, tanpa taring, testes abdominal, plasenta tipe *discoidal* (Herman *et al*, 2019).

Mencit dikategorikan dalam hewan *crepuscular*, yaitu hewan yang aktif saat senja dan malam hari. Daur hidup mencit berkisar satu hingga dua tahun bahkan ada yang lebih dan mencapai tiga tahun. Mencit dapat dikawinkan setelah usia dewasa yaitu sekitar delapan minggu. Lama kebuntingan mencit dari 19-21 hari dengan jumlah anak hingga 6 ekor. Berat mencit jantan dewasa sekitar 20-40 gram dan betina dewasa 18-35 gram (Phifer *et al*, 2015).

2. 10.2 Anestesi

Anestesi berasal dari bahasa Yunani, an- yang berarti "tanpa" dan aisthēsi, yang berarti sensasi. Anestesi adalah pemberian obat untuk menghilangkan kesadaran secara sementara dan biasanya ada kaitannya dengan pembedahan (Noviar *et al*, 2022). Anestesi adalah suatu kondisi menghilangkan rasa nyeri, secara sentral disertai kehilangan kesadaran menggunakan obat amnesia, sedasi, analgesia, pelumpuh otot atau gabungan dari beberapa obat tersebut yang bersifat dapat pulih Kembali (Millizia *et al*, 2021).

Anestesi digunakan dalam beberapa penelitian untuk mengurangi atau menghilangkan rasa sakit dan penderitaan pada hewan coba (Krissanti *et al*, 2022).

Pemberian obat anestesi dimaksudkan untuk menghilangkan kesadaran dan rasa sakit serta mengurangi timbulnya konvulsi otot saat terjadinya relaksasi otot, dengan demikian tindakan operasi dapat dilakukan pada penderita dengan aman (Dhiu

et al, 2021). Secara garis besar anestesi dibagi menjadi dua kelompok yaitu anestesi umum dan anestesi regional (Noviar *et al*, 2022).

Anestesi umum merupakan tindakan yang paling umum dilakukan pada hewan coba. Anestesi umum dapat dilakukan dengan rute inhalasi, injeksi ataupun kombinasi dari dua rute tersebut. Kombinasi dari pemilihan analgesik dan juga anestesi dilaporkan dapat meminimalisir stres yang berkaitan dengan prosedur pembedahan. Analgesik dapat diberikan secara enteral maupun para enteral. Obat yang digunakan di antaranya kloroform, eter, kombinasi ketamin 10% dan xylazin, atau kombinasi lidokain dan kloroform (Mutiarahmi *et al*, 2021).

Pemilihan obat analgesik dan bius yang tepat harus dipilih secara komperhensif, salah satunya bisa dilakukan dengan konsultasi kepada dokter hewan (Mutiarahmi *et al*, 2021). Faktor penting yang perlu diperhatikan dari pemberian agen anestesi adalah potensi reaksi yang merugikan. Secara umum, pemberian agen anestesi dapat menyebabkan efek sistemik pada sistem saraf, kardiorespirasi, metabolik, dan imun, dimana depresi kardiorespirasi merupakan reaksi merugikan yang utama. Selain itu, selama anestesi dapat terjadi hipotermia karena anestesi dapat menghambat homeostasis hewan (Krissanti *et al*, 2022).

2.11 Ekstraksi

Pengambilan bahan aktif dari suatu tanaman, dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam proses ekstraksi ini, bahan aktif akan terlarut oleh zat penyari yang sesuai sifat kepolarannya. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan

kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna (Zhang *et al*, 2018).

Ekstraksi adalah penarikan zat aktif yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut tertentu yang dipilih dengan tujuan zat yang diinginkan dapat larut. Bahan mentah obat yang berasal dari tumbuh-tumbuhan atau hewan dikumpulkan, dibersihkan, atau dicuci, dikeringkan dan dijadikan serbuk. Berikut macam-macam Ekstraksi :

1. Ekstraksi dengan menggunakan pelarut.

a. Cara dingin

- 1) Maserasi dan perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang dilakukan tanpa pemanasan atau dingin. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang (kamar). Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya (Zhang *et al*, 2018).
- 2) Perkolasi sendiri adalah ekstrak dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruang. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi, tahap

perkolasi sebenarnya (penetasan/ penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Cujic *et al*, 2016).

b. Cara Panas

Ekstraksi yang menggunakan pelarut secara panas terdapat beberapa cara diantaranya refluks, soxhlet, digesti, infus, dan dekok.

- 1) Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Zhang *et al*, 2018).
- 2) Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relative konstan dengan adanya pendingin balik (Cujic *et al*, 2016).
- 3) Digesti adalah meserasi kinetik (dengan pengaduk kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperature ruang, yaitu secara umum dilakukan pada temperature 40- 50 °C (Cujic *et al*, 2016).
- 4) Infus adalah ekstrak dengan pelarut air pada temperature penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperature terukur (96- 98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Zahng *et al*, 2018).
- 5) Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperature sampai titik didih (Zahng *et al*, 2018).

2. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap minyak astiri dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilasi air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah Sebagian (Zahng *et al*, 2018).

Destilasi uap, bahan (simplisia) tidak tercelup ke air yang mendidih, namun dilewati uap air sehingga senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi. Destilasi uap dan air mendidih, senyawa kandungan menguap tetap kontinu ikut terdestilasi (Cujic *et al*, 2016).

Cara ekstraksi lain yang dapat dilakukan selain dengan metode penggunaan larutan dan destilasi, ekstraksi dapat dilakukan dengan metode ekstraksi berkesinambungan, superkritikal karbondioksida, ekstraksi ultrasonik, dan ekstraksi energi listrik (Rohman *et al*, 2010).

2.12 Uji Kemurnian FTIR

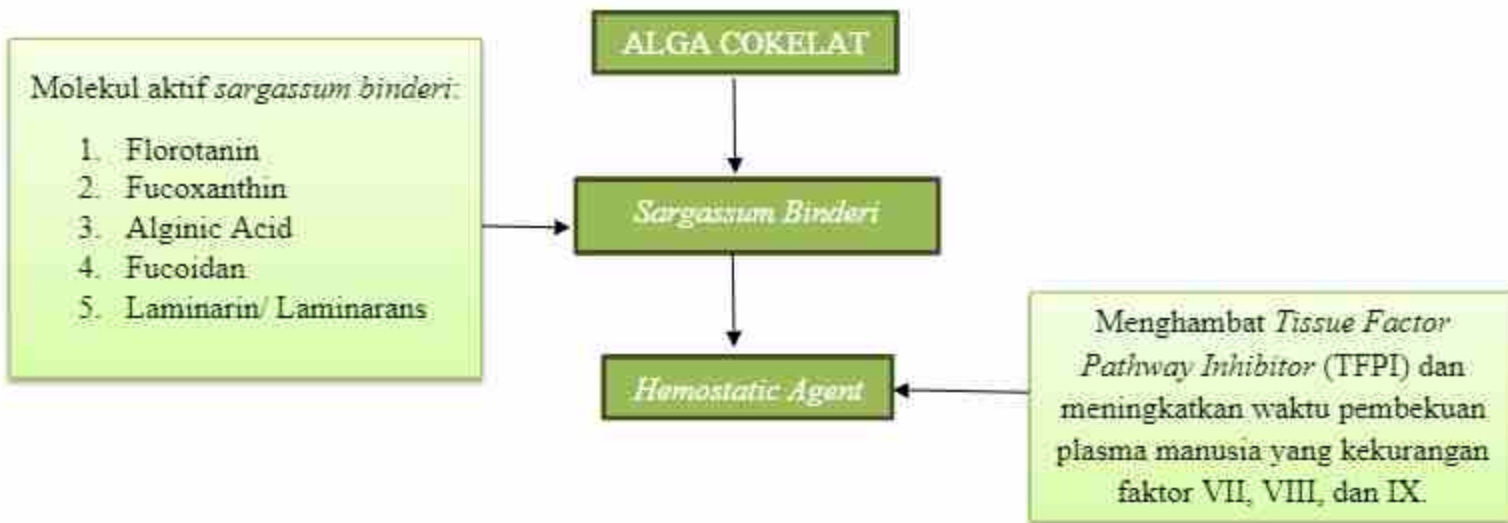
Spektroskopi FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) merupakan spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk deteksi dan analisis hasil spektrumnya. Inti spektroskopi FT-IR adalah interferometer Michelson yaitu alat untuk menganalisis frekuensi dalam sinyal gabungan.

Spektroskopi inframerah merupakan salah satu jenis spektroskopi vibrasional (Rohman *et al.*, 2012). Molekul penyusun lemak saat dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR akan menyerap energi radiasi inframerah pada bilangan gelombang tertentu, dan akan terjadi getaran (vibrasi). Spektrometer FTIR Nicolet 6700 (Thermo Nicolet Corp., Madison, WI) yang dilengkapi dengan detector deuterated triglycine sulphate (DTGS) dan terhubung ke perangkat lunak sistem operasi OMNIC (Versi 7.0 Thermo Nicolet) digunakan untuk mendapatkan spektrum FTIR sampel. Sampel ditempatkan dalam kontak dengan elemen reflektansi total (ATR) yang dilemahkan (Kristal ZnSe) pada suhu sekitar yang terkontrol. Spektra FTIR dikumpulkan pada frekuensi 4000 – 650 cm^{-1} dengan menambahkan 32 pindaian dan pada resolusi 4 cm^{-1} . Semua spektrum dijatah dengan latar belakang spectrum udara. Setelah setiap pemindaian, spektrum latar belakang udara referensi baru diambil. Spektrum ini dicatat sebagai nilai absorbansi pada setiap titik data dalam rangkap tiga (Rohman *et al.*, 2010).

BAB III

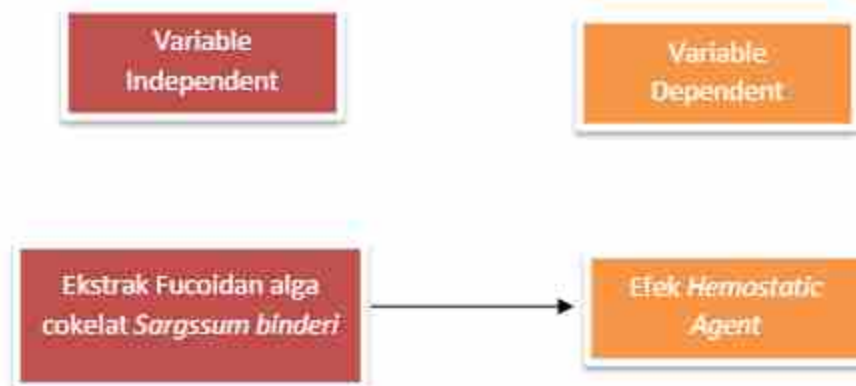
KERANGKA TEORI, KONSEPTUAL, dan HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 3.1 Kerangka teori penelitian (Remya *et al.*, 2022), (Zhang *et al.*, 2014)

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka konsep penelitian

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep, hipotesis penelitian yaitu:

Senyawa fucooidan dari alga coklat (*Sargassum Bideri*) efektif sebagai *hemostatic agent*