

**UJI EFEKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF FLOROTANIN PADA ALGA  
COKELAT (*Sargassum binderi*) SEBAGAI ANTI PERDARAHAN  
SECARA *IN VITRO*  
EFFECTIVENESS OF THE BIOACTIVE PHLOROTANNIN COMPOUND  
ON BROWN ALGAE (*Sargassum binderi*) AS A HEMOSTATIC AGENT:  
*IN VITRO* STUDY**



**AKSAM HIDAYAT  
J045201003**



Optimized using  
trial version  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI SPESIALIS BEDAH MULUT  
DAN MAKSILOFASIAL  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
2024**

**UJI EFEKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF FLOROTANIN PADA ALGA  
COKELAT (*Sargassum binderi*) SEBAGAI ANTI PERDARAHAN  
SECARA *IN VITRO***

**AKSAM HIDAYAT  
J045201003**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI SPESIALIS BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



**EFFECTIVENESS OF THE BIOACTIVE PHLOROTANNIN COMPOUND  
ON BROWN ALGAE (*Sargassum binderi*) AS A HEMOSTATIC AGENT:  
IN VITRO STUDY**

**AKSAM HIDAYAT  
J045201003**



**EDUCATIONAL SPECIALIST PROGRAM  
MAXILLOFACIAL SURGERY STUDY PROGRAM  
DENTISTRY FACULTY  
HASANUDDIN UNIVERSITY  
MAKASSAR**

**2024**

**UJI EFEKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF FLOROTANIN PADA ALGA  
COKELAT (*Sargassum binderi*) SEBAGAI ANTI PERDARAHAN  
SECARA *IN VITRO***

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar spesialis

Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial

Disusun dan diajukan oleh

**AKSAM HIDAYAT  
NIM: J045201003**

Kepada

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
BEDAH MULUT DAN MAKSILOFASIAL  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**



TESIS

**UJI EFEKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF FLOROTANIN PADA ALGA COKELAT  
(*Sargassum binderi*) SEBAGAI ANTI PERDARAHAN SECARA *IN VITRO***

**AKSAM HIDAYAT  
J045201003**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Tesis pada tanggal 11 September 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

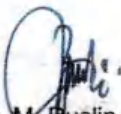
Pada

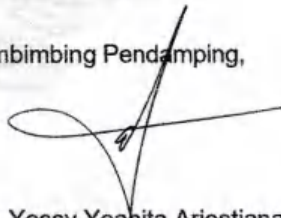
Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis  
Bedah Mulut dan Maksilofasial  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

  
Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D.,  
Sp.B.M.M., Subsp.Ortoognat-D (K)  
NIP 197307022001121001

  
drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG.,  
Sp.B.M.M., Subsp.Ortoognat-D (K)  
NIP 198404062012122002

Ketua Program Studi Bedah  
Mulut dan Maksilofasial,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin,

  
drg. Andi Talib, M.Kes., Sp.B.M.M.,  
Subsp.C.G.M.K.  
NIP 197410102003121002



  
drg. Irfan Sugianto, M.MedED., Ph.D  
NIP 198102012008011009



## **PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA**

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Uji Efektivitas Senyawa Bioaktif Florotanin Pada Alga Cokelat (*Sargassum Binderi*) Sebagai Anti Perdarahan Secara *In Vitro*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) dan drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K)). Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 31 Mei 2024

Materai dan tandangan



Aksam Hidayat  
J045 201 003

## **PRAKATA UCAPAN TERIMA KASIH**

Alhamdulillah, segala puji saya panjatkan kepada Allah SWT, saya bersyukur bahwa tesis ini akhirnya dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, yang telah menunjukkan jalan yang lurus kepada umat manusia. Pada kesempatan ini, perkenankan penulis untuk menyampaikan rasa hormat dan terimakasih serta penghargaan yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan perhatian selama penulis menempuh pendidikan, terutama pada proses penelitian, penyusunan hingga penyempurnaan karya ilmiah tesis ini.

Rasa hormat dan terimakasih serta penghargaan yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Muhammad Ruslin, drg. M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D (K) sebagai Pembimbing Utama dan Ibu drg. drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D (K) sebagai Pembimbing Pendamping, atas bimbingan ilmu dan arahnya pada penelitian ini maupun selama saya menempuh pendidikan.
2. Kepada Bapak drg. Andi Tajrin, M.Kes., Sp. B.M.M., Subsp. C.O.M(K) selaku Ketua Program Studi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial yang telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, senantiasa memotivasi dan menginspirasi penulis selama mengikuti proses pendidikan dan penelitian.
3. Kepada Ibu Prof. Dr. drg. Asmawati, M.Kes dan Bapak drg. Abul Fauzi, Sp.B.M.M., Subsp. T.M.T.M.J(K) sebagai Tim Penguji Seminar Proposal saya yang telah memberikan banyak masukan berharga dalam perbaikan arah penelitian saya.

Akhirnya, tesis ini penulis persembahkan kepada kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Akbar Lemang dan Ibunda Hj. Samsidar, saya mengucapkan terima kasih dan sembah sujud atas doa, kasih sayang, dan pengorbanan mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan saya yang besar dan ucapan terima kasih juga kepada istri tersayang Nur Ellah Wulandari, atas motivasi dan dukungannya sebagai support system yang tak ternilai. Penulis sadar bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan. Akhirnya semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat- Nya kepada kita semua dan apa yang disajikan dalam tesis ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Aamiin.

Makassar, 31 Mei 2024

  
drg. Aksam Hidayat

## ABSTRAK

Aksam Hidayat. **Uji Efektivitas Senyawa Bioaktif Florotanin pada Alga Cokelat (*Sargassum binderi*) sebagai Anti Perdarahan Secara *In Vitro*** (dibimbing oleh Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D dan drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K))

**Latar belakang:** Alga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang keberadaannya sangat melimpah dan umumnya yang digunakan sebagai bahan baku dalam industri makanan, kosmetik dan obat-obatan dan memiliki kandungan senyawa tannin memiliki aktifitas anti perdarahan dan dapat mempercepat pembentukan gumpalan darah. Florotanin adalah grup fenol dari alga cokelat, yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang diduga memiliki efek anti pendarahan secara lokal. Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kandungan Florotanin pada alga coklat *Sargassum binderi* sebagai agen hemostatis.

**Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan rancangan *post test only control group design*. Senyawa florotanin diekstrak dari dari alga cokelat *sargassum binderi*. Sampel yang digunakan adalah darah sebanyak 5 cc yang diambil dari tikus jantan (*Rattus Norvegicus*). Sampel dibagi menjadi 5 kelompok berdasarkan perlakuan, yaitu Kelompok pertama adalah akuades (kontrol negatif), kelompok kedua adalah Feracrylum 1% (kontrol positif), dan kelompok ketiga, keempat dan kelima adalah kelompok perlakuan (7,5%, 5% dan 2,5% *Sargassum binderi*) Uji efektivitas hemostasis secara in vitro dilakukan dengan metode Lee-White dan metode Eustrek (hapusan darah). Setelah itu dihitung waktu pendarahan dan dilakukan analisis data dengan menggunakan statistik ANOVA.

**Hasil:** Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak *sargassum* pada konsentrasi florotanin 2,5%, florotanin 5% dan florotanin 7,5%

**Kesimpulan:** Florotanin dalam ekstrak alga coklat (*Sargassum binderi*) dapat mempersingkat waktu pendarahan. Semakin rendah presentasi Florotanin, semakin tinggi efek hemostatiknya.

**Kata kunci:** *Alga cokelat, Anti pendarahan, Bleeding time, Florotanin, Sargassum binderi*





## ABSTRACT

Aksam Hidayat. **Effectiveness Of the Bioactive Phlorotannin Compound on Brown Algae (*Sargassum binderi*) As A Hemostatic Agent: *In Vitro* Study** (supervised Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D dan drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K))

**Background:** Brown algae is one of the marine natural resources whose existence is very abundant and generally used as raw material in the food, cosmetics, and medicine industries. It contains tannin compounds that have anti-bleeding properties and can accelerate blood clot formation. Phlorotannins are a group of phenols from brown algae, which exhibit characteristics very similar to tannins that are thought to have local anti-bleeding effects. Phlorotannin is only produced by brown algae through the biosynthesis pathway by malonate acetate. This study aims to determine the effectiveness of Phlorotannin content in brown algae *Sargassum Binderi* as a hemostatic agent.

**Methods:** This is experimental research with a post-test-only control group design. A phlorotannin compound was extracted from the brown algae *Sargassum binderi*. The sample used was 2.5 cc of blood from male rats (*Rattus norvegicus*). The first group was aquadest (negative control), the second group was 1% Feracrylum (positive control), and the third, fourth, and fifth groups were the treatment groups (7.5%, 5%, and 2.5% *Sargassum binderi*). In vitro hemostasis effectiveness tests were conducted by the Lee-White method and the Eustrek method (blood smear). After that, we calculated the bleeding time and performed data analysis using the ANOVA statistical method.

**Results:** There was a significant difference between the positive control and the sargassum extract group at concentrations of 2.5% phlorotannin, 5% phlorotannin, and 7.5% phlorotannin.

**Conclusion:** Phlorotannin in brown algae extract (*Sargassum binderi*) can shorten bleeding time. The lower the presentation of phlorotannin, the higher the hemostatic effect.

**Keywords:** Brown algae, Anti-hemorrhage, bleeding time, brown algae, phlorotannin,



## DAFTAR ISI

<b>JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR SEMINAR HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....</b>	<b>vi</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA UCAPAN TERIMA KASIH .....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan umum .....	2
1.3.2 Tujuan khusus.....	2
1.4 Manfaat penelitian.....	2
1.5 Teori.....	3
1.5.1 Alga .....	3
1.5.2 Alga Cokelat .....	3
1.5.3 Tanin.....	5
1.5.4 Florotanin pada Alga Cokelat .....	6
1.5.5 Alga Cokelat sebagai Anti Perdarahan .....	7
1.5.6 Perdarahan.....	8
1.5.7 Hemostasis.....	8
1.5.8 Faktor-faktor pembekuan darah .....	9
1.5.9 Proses pembekuan darah .....	10
1.5.9.1 Hemostatik lokal .....	11
1.5.9.2 Hemostatik sistemik.....	12
1.5.10 Feracrylum.....	12
<b>BAB II METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>14</b>
1.1 Waktu dan Lokasi Penelitian .....	14
1.2 Bahan Penelitian .....	14
1.3 Metode Penelitian .....	14
1.4 Tahapan Penelitian .....	14
1.5 Uji Percobaan .....	14
1.6 Analisis Penelitian .....	15
1.7 Kesimpulan Penelitian .....	15



2.5.1 Uji Efektivitas Senyawa Aktif Florotanin Alga Cokelat ( <i>Sargassum binderi</i> ) pada Pendarahan Lokal .....	15
2.5.2 Preparasi Sampel .....	15
2.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi dan Ekstraksi Metode Partisi Hasil Hidrolisis .....	15
2.5.4 Uji Analisis teknik FT-IR ( <i>Fourier-Transform Infrared Spectroscopy</i> ) pada Florotanin .....	16
2.5.5 Uji Efektivitas Hemostasis Secara <i>In Vitro</i> .....	16
2.5.5.1 Pengukuran Waktu Koagulasi dengan Metode Lee-White....	16
2.5.5.2 Koagulasi secara Mikroskopik dengan Teknik Eustrek (Hapusan Darah) .....	17
2.5.6 Analisis Data .....	18
2.6 Kerangka Teori .....	18
2.7 Kerangka Konsep .....	20
2.8 Alur Penelitian .....	21
<b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>22</b>
3.1 Hasil .....	22
3.1.1 Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi .....	22
3.1.2 FT-IR .....	22
3.1.3 Analisis Data.....	22
3.1.4 Pengukuran Waktu Koagulasi dengan Metode Lee-White.....	23
3.1.5 Uji Normalitas Data .....	25
3.1.6 Uji Homogenitas Data Antar Kelompok .....	25
3.1.7 Analisis <i>Least Significant Difference – test</i> (LSD) .....	26
3.1.8 Koagulasi Secara Mikroskopik dengan Teknik Eustrek (Hapusan Darah) .....	27
3.2 Pembahasan.....	29
<b>BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Kesimpulan .....	31
4.2 Saran .....	31
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>32</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>37</b>



**DAFTAR TABEL**

Nomor urut		Halaman
Tabel 1	Faktor-Faktor Pembekuan Darah	9
Tabel 2	Waktu Penggumpalan Darah Tikus Metode <i>Lee White</i> Secara <i>In Vitro</i>	23
Tabel 3	Uji Normalitas	25
Tabel 4	Uji Homogenitas	25
Tabel 5	Analisis Komparasi (LSD) Waktu Perdarahan Antar Kelompok	26
Tabel 6	Hasil Pengamatan Bentuk Sel Darah Secara Mikroskopik	28



**DAFTAR GAMBAR**

Nomor urut		Halaman
Gambar 1	<i>Sargassum binderi</i>	4
Gambar 2	Struktur Florotanin	7
Gambar 3	Diagram Batang Rerata Lama Waktu Perdarahan pada Setiap Kelompok Penelitian	24
Gambar 4	Mikroskopik darah kelompok kontrol positif ( <i>feracrylum</i> 1%)	28
Gambar 5	Mikroskopik darah kelompok ekstrak alga coklat ( <i>Sargassum binderi</i> ) 2,5%	28




## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
Lampiran 1.	Surat Permohonan Izin Penelitian di Laboratorium	37
Lampiran 2.	Surat izin Komite Etik Penelitian Kesehatan	38
Lampiran 3.	Hasil Identifikasi Morfologi Alga Cokelat	39
Lampiran 4.	Peta Lokasi Pengambilan Sampel	40
Lampiran 5.	Uji Normalitas	41
Lampiran 6.	Uji Homogenitas	43
Lampiran 7.	Uji Anova	43
Lampiran 8.	Hasil Uji Lanjut	44
Lampiran 9.	Dokumentasi Kegiatan Penelitian	46



## DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
Bleeding time (BT)	<i>Bleeding time</i> (BT) didefinisikan sebagai waktu yang dihitung dari tusukan pada pembuluh darah hingga terhentinya perdarahan
BB	Berat badan.
COX-1	<i>Cyclooxygenase-1</i> , merupakan enzim konstitutif yang berfungsi dalam katalis pada proses fisiologis jaringan mukosa gastrointestinal
COX-2	<i>Cyclooxygenase-2</i> , enzim yang mengkatalis sintesis prostanoïd, termasuk PGE <sub>2</sub> , dari asam arakidonat, sebagai respon dari mediator pro-inflamasi
Florotanin	Senyawa fenol yang memiliki gugus hidroksil (-OH)
Fibrinogen	Salah satu protein yang disintesis oleh hati yang merupakan reaktan fase akut berbentuk globulin beta.
FT-IR	Fourier-Transform Infrared Spectroscopy
<i>Fucoxanthin</i>	golongan karotenoid berfungsi sebagai pigmen tambahan pada proses fotosintesis
<i>In vitro</i>	Eksperimen yang dilakukan peneliti di luar organisme hidup
Klorofil	Zat hijau daun (terjemah langsung dari bahasa Belanda, bladgroen) adalah pigmen yang dimiliki oleh berbagai organisme dan menjadi salah satu molekul berperan utama dalam fotosintesis.
Prokariotik	Sel yang tidak memiliki membran inti.
Polifenol	Senyawa alami pada tumbuhan yang berperan sebagai antioksidan di dalam tubuh
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
	Thromboxane A <sub>2</sub>
	Senyawa makanan yang termasuk dalam kategori senyawa polifenol

Spesies	Suatu takson yang dipakai dalam taksonomi untuk menunjuk pada satu atau beberapa kelompok individu (populasi)
Serotonin	5-hydroxytryptamine (5-HT) adalah neurotransmitter atau zat kimia yang memiliki tugas untuk membawa pesan antarsel saraf pada otak
Xantofil	Metode kromatografi membran tipis yang digunakan untuk memisahkan komponen tanaman
Protease (PAR 1 dan PAR 4)	Enzim golongan hidrolase yang berperan dalam reaksi pemecah protein
NSAID	Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs
Simplisia	Bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation





# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara yang memiliki sumber daya alam yang melimpah serta wilayah laut yang sangat luas. Sekitar 78 % wilayah Indonesia merupakan laut dan merupakan negara kepulauan dengan wilayah pengembangan rumput laut yang luas (11.109 km<sup>2</sup>). Beberapa studi menunjukkan bahwa tumbuhan laut seperti alga memiliki komponen-komponen bioaktif yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan atau agen terapeutik (Ruslin M *et al.*, 2018).

Perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumberdaya plasma nutfah rumput laut sebesar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut dunia. Rumput laut dari kelas alga merah (*Rhodophyceae*) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, setelah itu alga hijau (*Chlorophyceae*) sekitar 196 jenis dan alga cokelat (*Phaeophyceae*) sekitar 134 jenis (Pakidi *et al.*, 2017).

Alga cokelat merupakan salah satu jenis rumput laut yang habitatnya tersebar luas di wilayah perairan Indonesia. Umumnya tumbuh secara liar di perairan yang bersuhu hangat, sedang dan dingin. Pertumbuhannya cepat dan mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menyesuaikan terhadap perubahan musim. Spesies alga cokelat yang tumbuh di perairan Indonesia adalah jenis *Sargassum Sp.*, *Turbinaria Sp.*, *Hormophysa Sp.*, *Padina Sp.*, *Hydroclatrus clatratus Sp.*, *Cystoseira Sp.*, *Dictyopteris Sp.*, dan *Dictyota Sp.* Alga cokelat seperti *Sargassum Fulvellum* dan *Sargassum Thunbergii* menunjukkan adanya aktifitas anti inflamasi, analgesik dan antipiretik pada percobaan pada tikus. Alga cokelat mengandung pigmen alami yang memiliki aktifitas biologis yang tinggi (Renhoran M *et al.*, 2017).

Alga cokelat sangat melimpah di sulawesi selatan bisa ditemukan di Kabupaten Takalar, yaitu pantai Punaga dan Puntondo. Masyarakat setempat membudidayakan Alga cokelat untuk mata pencaharian mereka. Alga cokelat dapat ditemukan dengan mudah di daerah pesisir pantai Punaga dan Puntondo Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan (Fauzi A *et al.*, 2018).



t merupakan salah satu sumber daya alam laut yang melimpah dan umumnya yang digunakan sebagai bahan makanan, kosmetik dan obat-obatan. Pada penelitian yang dkk, kandungan senyawa tannin memiliki aktifitas anti tannin yang mempercepat pembentukan gumpalan darah dan terdapat tannin yang melimpah pada alga cokelat terutama pada *Sp.* dan *Padina Sp* (Fauzi A *et al.*, 2018).

Florotanin adalah grup fenol dari alga cokelat, yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang diduga memiliki efek anti perdarahan secara lokal. Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat (Ford L *et al.*, 2019).

Dalam kedokteran gigi ada berbagai macam komplikasi yang dapat terjadi setelah tindakan bedah minor kedokteran gigi. Komplikasi ini dapat terjadi karena berbagai faktor dan bervariasi pula dalam hal yang ditimbulkannya. Komplikasi dapat digolongkan menjadi intraoperatif, segera sesudah pencabutan dan jauh setelah pencabutan. Komplikasi yang sering ditemui pada pencabutan gigi antara lain perdarahan, inflamasi, rasa sakit, *dry socket*, fraktur, dan dislokasi mandibular. Perdarahan merupakan komplikasi yang paling ditakuti, karena oleh dokter maupun pasiennya dianggap mengancam kehidupan (Lande *et al.*, 2007).

Berdasarkan uraian tersebut, peneliti bermaksud melakukan uji efektivitas senyawa bioaktif florotanin pada *Sargassum binderi* sebagai anti perdarahan sehingga betul-betul dapat dikembangkan menjadi bahan yang memiliki efek terapeutik yang digunakan secara luas.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah diuraikan tersebut diatas, maka rumusan masalah penelitian yaitu :

- a. Apakah senyawa florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) mampu mempercepat waktu koagulasi darah dengan metode Lee- White secara *in vitro*?
- b. Apakah senyawa florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) mampu mempercepat waktu koagulasi darah melalui pengamatan bentuk sel darah dengan metode Eustrek (hapusan darah) secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efektivitas senyawa bioaktif florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) sebagai anti perdarahan lokal.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Untuk mengetahui efektivitas senyawa florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) dalam mempercepat waktu koagulasi darah dengan metode Lee- White secara *in vitro*.
- b. Untuk mengetahui efektivitas senyawa florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) terhadap aktivitas hemostatis melalui pengamatan darah dengan metode Eustrek (hapusan darah) secara *in vitro*.



### itian

Penelitian ini adalah untuk memberikan bukti ilmiah tentang florotanin pada alga cokelat (*Sargassum binderi*) dalam koagulasi darah secara *in vitro* dan diharapkan dapat

memberikan sumbangan dalam perkembangan pengobatan menggunakan bahan alam pada bidang kedokteran gigi.

## 1.5 Teori

### 1.5.1 Alga

Alga berasal dari bahasa Yunani yaitu “algor” yang berarti dingin. Menurut Landau, alga laut (seaweed) merupakan bagian terbesar dari tumbuhan laut dan termasuk tumbuhan tingkat rendah yang tidak memiliki perbedaan susunan kerangka seperti akar, batang dan daun meskipun tampak seperti ada perbedaan tapi sebenarnya hanya merupakan bentuk thallus. Pada umumnya alga terdapat pada zona intertidal sampai pada kedalaman di mana cahaya matahari masih dapat tembus. Di perairan yang jernih beberapa jenis alga laut dapat hidup sampai pada kedalaman 150 m. Alga dapat dijumpai dalam bentuk filamen yang sangat halus dan berbentuk membran dan dapat ditemukan pada daerah yang cukup dalam. Alga juga dapat bertumbuh dan tersebar di berbagai daerah pantai dan pulau-pulau karang. Distribusi alga dapat dibagi berdasarkan kedalaman yaitu pada perairan dangkal didominasi oleh alga hijau (*Chlorophyta*) kemudian diikuti oleh alga cokelat (*Phaeophyta*), dan yang sering ditemukan pada perairan yang lebih dalam adalah alga merah (*Rhodophyta*) (Ode I *et al.*, 2014).

Alga laut merupakan salah satu sumberdaya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi, yang juga dikenal di masyarakat dengan nama rumput laut (*seaweed*). Rumput laut telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi, rumput laut diketahui mengandung senyawa hidrokoloid, senyawa bioaktif dan senyawa penting lainnya (Rene CK *et al.*, 2018).

### 1.5.2 Alga Cokelat

Sebagian besar alga cokelat mengandung pigmen *fucoxanthin*, yang bertanggung jawab atas warna cokelat kehijauan khas sesuai namanya. Alga cokelat juga menghasilkan berbagai komponen aktif termasuk metabolit sekunder yang unik seperti florotanin dan banyak di antaranya memiliki aktivitas biologis memberi manfaat ekonomi. Selain itu, dalam beberapa dekade lisakarida sulfat yang diisolasi dari alga cokelat menarik farmakologi dan biokimia ( Pakidi *et al.*, 2017).

, khususnya *Sargassum*, telah diketahui memiliki banyak kesehatan. *Sargassum Sp.* merupakan rumput laut yang kelas *Phaeophyceae* dan genus terbesar dari famili Indonesia, *Sargassum Sp.* memiliki sebaran yang luas dan



bervariasi. Jenis rumput laut tersebut termasuk tumbuhan yang dominan dan terdistribusi di seluruh perairan Indonesia. *Sargassum* merupakan genus yang sangat besar menyebar di seluruh dunia. Alga *Sargassum* tumbuh sepanjang tahun, dapat hidup pada setiap musim barat maupun musim timur. Penelitian lain juga telah melaporkan bahwa konsumsi alga cokelat (*Sargassum fulvellum* dan *S. Fusiforme*). Berkontribusi terhadap penurunan inflamasi sistemik dan resistensi insulin pada hewan coba tikus obesitas. Masyarakat di China menggunakan berbagai macam jenis *Sargassum* untuk mengobati scrofula, edema, arteriosclerosis, penyakit kulit, kondisi hipertensi, pembesaran organ hati, neurosis, angina pektoris, esophagitis, dan bronkhitis kronis (Salehi, Sharifi-Rad, *et al.*, 2019; Saraswati *et al.*, 2019; Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Senyawa-senyawa bioaktif pada *Sargassum* sp. terdiri dari golongan polifenolik, terpenoid, karotenoid, polisakarida, asam fenolat, steroid, klorofil dan glikolipid. Florotanin, fukosantin, fukoidan, alginat, fukosterol, meroditerpenoid dan asam-asam fenolat adalah jenis senyawa bioaktif dominan dalam *Sargassum* sp. Aktivitas biologis dari senyawa bioaktif *Sargassum* sp. yaitu antioksidan, antikanker, antitumor, antialergi, antiinflamasi, antihipertensi, antiobesitas, antidiabetes, antimikroba, anti-browning, neuroprotektif dan hipokolesterolemia. Dengan demikian, senyawa-senyawa bioaktif dari *Sargassum* sp. dapat digunakan untuk terapi maupun pencegahan berbagai penyakit (Saraswati *et al.*, 2019).

*Sargassum* merupakan bagian dari kelompok rumput laut cokelat (Phaeophyceae) dan genus terbesar dari famili Sargassaceae Kelas: *Phaeophyceae*, Ordo: *Fucales*, Famili: *Sargassaceae*, Genus: *Sargassum*, Spesies: *Sargassum* sp. *Sargassum* terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies-spesies *Sargassum* Sp. yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu : *S. duplicatum*, *S. hystrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofillum*, *S. vulgare*, dan *S. Polyceratium* (Pakidi *et al.*, 2017).



Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa yang dihasilkan makhluk hidup dalam keadaan tertentu. Salah satu metode uji kualitatif metabolit sekunder yang ada pada bahan alam adalah dengan melakukan uji fitokimia. Rumput laut dari divisi *Phaeophyta* menghasilkan algin atau alginat, laminarin, selulosa dan manitol. Biasanya jenis *Phaeophyta* yang dimanfaatkan sebagai penghasil alginat adalah *Macrocystis*, *Turbinaria*, *Padina* dan *Sargassum Sp.* *Phaeophyceae* di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar UV (ultra violet). Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh *Phaeophyceae* (Pakidi *et al.*, 2017).

### 1.5.3 Tanin

Tanin telah digunakan sejak dahulu karena sifat farmakologisnya sebagai bagian dari tumbuhan herbal dalam pengobatan tradisional. Selain itu bahan ini telah banyak digunakan sejak abad ke-18 oleh industri kulit untuk meningkatkan ketahanan kulit dalam proses pewarnaan atau penyamakan, karena dapat mengendapkan gelatin yang melekat pada kulit hewan dan memberikan warna kecokelatan. Sehingga nama tersebut diberikan pada golongan senyawa fitokimia tersebut (Fraga-Corral *et al.*, 2021).

Istilah "tanin" digunakan secara luas pada senyawa polifenol besar yang mengandung hidroksil dan gugus lain yang sesuai (seperti karboksil) untuk membentuk kompleks yang kuat dengan berbagai makromolekul. Tanin adalah senyawa fenolik yang tersusun dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam yang terdapat pada bagian tumbuhan termasuk daun, akar dan buah. Tanin mengendapkan protein (astringen) dan juga kompleks dengan pati, selulosa, dan mineral. Tanin memiliki berat molekul mulai dari 500 hingga lebih dari 3000. Tanin ditemukan dalam bentuk massa kekuningan atau cokelat muda seperti bubuk, serpihan atau spons. Tanin ditemukan hampir di semua tumbuhan dan di semua iklim di seluruh dunia (Minocha, Kumari and Tiwari, 2015).

Sifat astringen yang terutama berasal dari tanin dan senyawa polifenol lainnya dapat menyebabkan lapisan epitel mulut terasa kering, mengeras, dan mengkerut yang disebabkan oleh interaksi antara tanin dan saliva (He *et al.*, 2015). Tanin adalah polifenol nabati yang dikategorikan menjadi tiga kelompok berdasarkan struktur kimia unit fungsionalnya, yaitu tanin terkondensasi (non-hidrolisis), taninterhidrolisis, dan florotanin (Tabel 1) (Øverland, Mydland and Skrede, 2019), (Fraga-Corral *et al.*, 2021), (Bule *et al.*, 2020), (Li *et al.*, 2017)



selanjutnya dikategorikan menjadi gallotannin dan ellagitannin, jenis tanin yang paling sederhana di antara tanin terhidrolisis. ditemukan di polong biji, kulit kayu, kayu, daun, buah-buahan,

si, juga dikenal sebagai proanthocyanidin, lebih kompleks dan lum ditentukan sepenuhnya. Tanin terkondensasi umumnya

ditemukan di batang, kacang-kacangan, pohon, hijauan, dan sebagainya.

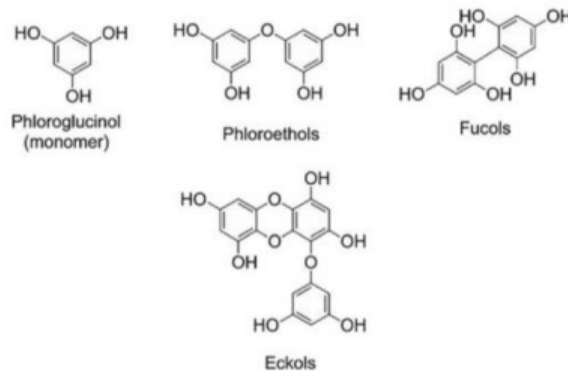
c. Florotanin atau pseudotanin, merupakan kelompok polimer kompleks dari floroglukinol (1, 3, 5-trihidrobenzena), banyak ditemukan pada alga cokelat genus *Ascophyllum*, *Fucus*, dan *Sargassum* (Ford *et al.*, 2019).

#### 1.5.4 Florotanin pada Alga Cokelat

Florotanin adalah grup fenol dari alga cokelat, yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang dihasilkan oleh tumbuhan darat tetapi secara struktural sangat berbeda. Florotannin adalah struktur polimer dari monomer floroglucinol (1,3,5 - trihidroksbenzena) yang terhubung melalui ikatan aril-aril C-C atau ikatan aril-eter C-O. Penamaan sistematis florotanin berdasarkan jenis ikatan antara gugus aromatik, fucol hanya terdiri dari ikatan aril-aril (Gambar 5) sedangkan floreoethol secara khusus memiliki ikatan eter melalui oksigen fenolik. Klasifikasi florotanin dibagi berdasarkan ikatan antar unit floroglukinol, menjadi enam subklas: floretol, fucol, fucofloretol, eckol, fuhalol, dan isofuhalol. Beberapa penulis hanya menyebutkan empat subklas dikarenakan fuhalol dan isofuhalol jarang ditemukan. Ikatan yang paling umum antar unit floroglukinol adalah ikatan eter (Ford *et al.*, 2019; Salehi, Sharifi-rad, *et al.*, 2019; Saraswati *et al.*, 2019).

Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat. Mereka sangat hidrofilik karena adanya banyak fenolik OH dalam strukturnya. Hal ini memungkinkan penyerapan florotanin dengan mudah ke dalam sistem biologis saat dicerna. Florotanin banyak terkonsentrasi di korteks epidermis alga cokelat, dan juga ditemukan terikat ke dinding sel makroalga laut, seperti pada asam alginat. Florotanin diketahui memiliki peran penting berupa integritas fisiologis pada alga cokelat sebagai pertahanan penekan nafsu makan herbivora, proteksi terhadap kerusakan oksidatif sebagai respon perubahan nutrisi dan proteksi radiasi UV sehingga dapat digunakan pada industri kosmetik. Konsentrasi florotanin bervariasi dari 0,5% hingga 20% dari berat keringnya, yang berfluktuasi terkait musim (perubahan paparan cahaya), lingkungan (ketersediaan nutrisi di perairan) dan juga antar spesies. Lopes dkk melaporkan kandungan florotanin pada beberapa family Sargassaceae berkisar antara 74,96 hingga 815,82 mg floroglukinol / kg berat kering (Li *et al.*, 2017; Ford *et al.*, 2019; Saraswati *et al.*, 2019).





Gambar 2. Struktur florotanin. (Fraga-Corral M, 2021)

Sumber: Ford L, Theodoridou K, Sheldrake GN, Walsh PJ. A critical Sreview of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*. (Ford *et al.*, 2019)

### 1.5.5 Alga Cokelat sebagai Anti Perdarahan

Tanin merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan. Presipitasi protein non-spesifik adalah karakteristik umum tanin. Senyawa tanin banyak terdapat di dalam alga cokelat sebagai florotanin. Tanin adalah zat yang diekstrak dari polifenol tumbuhan alga yang dapat mengontrol perdarahan. Mekanisme pengendapan atau efek vasokonstriktor dari tanin melalui efek astringennya yang dapat mengendapkan protein darah seperti trombin. Trombin mengubah fibrinogen menjadi satu set serat fibrin pada luka untuk menghentikan pendarahan. Tanin mempercepat pelepasan protein dari sel dan mengendapkan protein tersebut di permukaan sel. Mereka juga mengurangi sekresi dan permeabilitas kapiler, kontraksi ruang antar sel, proses pengerasan endotel kapiler dan membentuk lapisan pelindung kulit yang membuat lapisan sel superfisial mengencang dan mengecil. Hal ini akan menyebabkan vasokonstriksi lokal kapiler. Tanin juga dapat mengendapkan protein darah tersebut dan membentuk albumin. Proses pengendapan protein ini akan menginduksi sintesis tromboksan A2 untuk meningkatkan agregasi trombosit, dengan demikian dapat mempercepat pembentukan penyumbatan trombosit sementara di pembuluh darah yang terbuka. Selain menyembuhkan luka dan menghentikan pendarahan, tanin juga dapat menghentikan infeksi secara internal. Kemampuan tanin untuk membentuk lapisan aringan yang terluka mencegah luka menjadi lebih terinfeksi. ila dioleskan pada mukosa mulut. (inocha S *et al.*, 2015)



arahan merupakan kondisi dimana keluarnya darah dari  
na rusaknya kontinuitas pembuluh darah karena trauma atau

infeksi. Perdarahan terjadi karena robeknya kapiler pembuluh darah yang diutuhkan dalam proses penyembuhan luka. Jika terjadi perdarahan berlebih, hal ini perlu dipertimbangkan sebagai adanya komplikasi. Perdarahan yang berlebih merupakan akibat kegagalan proses hemostatik yang dapat menyebabkan masalah klinis. Pendarahan dapat disebabkan oleh defisiensi faktor pembekuan darah. Hemostasis merupakan mekanisme pertahanan tubuh yang berperan penting untuk menghentikan pendarahan. Proses hemostasis dibagi menjadi empat tahap utama, vasokonstriksi, agregasi trombosit, adhesi trombosit, dan pembekuan darah. Vasokonstriksi 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. 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. (McCormick, Moore and Meechan, 2014; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017) .

### 1.5.7 Hemostasis

Hemostasis adalah serangkaian kompleks reaksi yang menyebabkan pengendalian perdarahan melalui pembentukan trombosit dan bekuan fibrin pada tempat cedera. Pembekuan diikuti dengan penghancuran bekuan dan regenerasi endotel. Pada keadaan abnormal, dapat terjadi perdarahan yang mengancam jiwa atau trombotis yang menyumbat cabang-cabang pembuluh darah (Tian H *et al.*, 2015).

Hemostasis merupakan proses penghentian perdarahan secara spontan pada pembuluh darah yang cedera. Dalam proses tersebut berperan faktor-faktor pembuluh darah, trombosit dan faktor pembekuan darah. Dalam proses ini pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi, trombosit akan beragregasi membentuk sumbat trombosit oleh fibrin yang dibentuk melalui proses pembekuan darah akan memperkuat sumbat trombosit yang telah terbentuk sebelumnya. (McCormick, Moore and Meechan, 2014; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017).





### 1.5.8 Faktor-Faktor Pembekuan Darah

Faktor-faktor pembekuan darah terdiri dari:

Nama Faktor Pembekuan		Keterangan
I	Fibrinogen	Prekursor fibrin (protein terpolimerisasi)
II	Protrombin	Prekursor enzim proteolitik trombin
III	Tromboplastin	Aktivator lipoprotein jaringan pada trombin
IV	Kalsium	Aktivasi trombin dan pembentukan fibrin
V	Akselerator plasma globulin	Mempercepat konversi protrombin menjadi trombin
VII	Akselerator konversi protrombin serum	Mempercepat konversi protrombin
VIII	Globulin antihemofilik (AHG)	Plasma yang berikatan dengan faktor III dan faktor IX; aktivasi protrombin
IX	Faktor Christmas	Berikatan dengan faktor pembekuan darah
X	Faktor Stuart-Power	Faktor plasma dan serum, akselerator konversi protrombin
XI	Pendahulu Tromboplastin Plasma (PTA)	Diaktivasi oleh faktor XII (Hageman), akselerator pembentukan trombin
XII	Faktor Hageman	Faktor plasma; mengaktivasi PTA
XIII	Faktor Penstabil Fibrin	Menghasilkan bekuan fibrin yang lebih kuat
-	Faktor Fletcher (Prakalikrein)	Faktor pengaktivasi kontak
-	Faktor Fitzgerald	Faktor pengaktivasi kontak

Tabel 1. Faktor-faktor pembekuan darah (Ashok PK *et al.*, 2012).

### 1.5.9 Proses Pembekuan Darah

Proses koagulasi darah berlangsung dalam beberapa tahap, dengan pembentukan fibrin sebagai hasil akhir. Dalam garis besar, proses pembekuan berjalan melalui 3 tahap, yaitu:

#### 1. Pembentukan tromboplastin



...nbin dari protrombin  
...n dari fibrinogen.

...n tromboplastin, yaitu aktivitas yang mengubah protrombin  
...at berlangsung melalui dua jalan, yaitu dengan mekanisme  
...isme ekstrinsik, yang masing-masing memerlukan faktor  
... Pembentukan tromboplastin dengan mekanisme intrinsik

berlangsung di dalam plasma darah dan memerlukan desintegrasi trombosit, faktor-faktor IV, V, VIII, IX, X, XI, dan XII. Proses dimulai dengan aktivasi faktor XII oleh persentuhan dengan suatu permukaan asing, dalam hal ini kolagen. Kemudian faktor XII aktif akan mengaktivasi faktor XI. Faktor XI aktif bersama faktor VIII aktif (diaktivasi oleh trombin), faktor IV dan suatu fosfolipid mengaktivasi faktor X (Kusumawati *et al.*, 2004).

Proses ekstrinsik memerlukan faktor-faktor III, IV, dan VII untuk mengaktivasi faktor X. Faktor X aktif bersama faktor V aktif (diaktivasi trombin),  $Ca^{2+}$ , dan fosfolipid mengaktivasi protrombin menjadi trombin. Selanjutnya trombin bersama  $Ca^{2+}$  mengubah fibrinogen menjadi fibrin yang berupa monomer. Fibrin monomer ini oleh faktor XIII aktif (diaktivasi oleh trombin bersama  $Ca^{2+}$ ) diubah menjadi fibrin padat yang berupa polimer. Faktor jaringan tidak terdapat di dalam darah, maka faktor ini merupakan faktor ekstrinsik koagulasi, dengan demikian disebut juga koagulasi jalur ekstrinsik (Nurwahyuni *et al.*, 2006).

Rangkaian yang menyebabkan aktivasi faktor X adalah jalur intrinsik, disebut demikian karena rangkaian ini menggunakan faktor-faktor yang terdapat di dalam sistem vaskular plasma. Dalam rangkaian ini, terjadi reaksi kaskade, aktivasi satu prokoagulan menyebabkan aktivasi bentuk pengganti. Jalur intrinsik diawali dengan plasma yang keluar terkena dengan kulit atau kolagen di dalam pembuluh darah yang rusak. Faktor jaringan tidak diperlukan, tetapi yang berperan adalah trombosit yang melakat pada kolagen. Pada jalur intrinsik, faktor-faktor XII, XI, dan IX harus diaktivasi secara berurutan sebelum faktor X dapat diaktivasi. Zat-zat lain juga sangat diperlukan seperti prakalikein dan HMWK (*High Molecular Weight Kininogen - Fitzgerald Factor*) serta ion kalsium. Dari hal ini, koagulasi dapat terjadi sepanjang apa yang dinamakan jalur bersama, yaitu aktivasi faktor X terjadi akibat reaksi jalur ekstrinsik dan intrinsik. Pembentukan fibrin berlangsung jika faktor X aktif dibantu oleh fosfolipid dan trombosit yang diaktivasi, memecah protrombin, membentuk trombin. Selanjutnya trombin memecahkan fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin ini awalnya merupakan jeli yang dapat larut, distabilkan oleh faktor XIII aktif, dan mengalami polimerisasi menjadi jalinan fibrin yang kuat dan memerangkap trombosit dan sel-sel darah. Untaian fibrin kemudian memendek mendekatkan tepi-tepi dinding pembuluh darah yang cedera dan menutup daerah tersebut (Hou, Y *et al.*, 2015).



Protein C: suatu polipeptida, merupakan suatu antikoagulan fisiologik yang dan beredar secara bebas dalam bentuk inaktif dan diaktivasi tif. Protein C yang diaktivasi menginaktivasi protrombin, faktor an VIIIa (faktor VII aktif), sedangkan protein S mempercepat jinaktivasi faktor-faktor itu. (Minocha S *et al.*, 2015).

Hemostatik terbagi dua, yaitu hemostatik lokal dan hemostatik sistemik.

### 1.5.9.1 Hemostatik lokal

Hemostatik lokal dibagi menjadi 4 kelompok berdasarkan mekanisme hemostasisnya, yaitu:

#### a. Hemostatik serap

Hemostatik serap (*absorbable hemostatics*) menghentikan pendarahan dengan pembentukan suatu bekuan buatan atau memberikan jala serat – serat yang mempermudah pembekuan bila diletakkan langsung pada permukaan yang berdarah. Adanya kontak pada permukaan asing, trombosit akan pecah dan membebaskan faktor pembekuan darah yang memulai proses pembekuan darah. Hemostatik golongan ini berguna untuk mengatasi perdarahan yang berasal dari pembuluh darah yang kecil saja, misalnya kapiler, dan tidak efektif untuk menghentikan perdarahan arteri atau vena yang tekanan intravaskularnya cukup besar. Termasuk dalam kelompok ini antara lain spons gelatin, oksisel (selulosa oksida), dan busa fibrin insani (*human fibrin foam*).

#### b. Adstringen

Zat ini bekerja lokal dengan cara mengendapkan protein darah sehingga perdarahan dapat dihentikan. Sehubungan dengan cara penggunaannya, zat ini dinamakan juga *styptic*. Termasuk di dalam kelompok ini antara lain feri klorida, nitras argenti, asam tanat. Kelompok ini digunakan untuk menghentikan perdarahan kapiler, tetapi kurang efektif bila dibandingkan dengan vasokonstriktor yang digunakan lokal.

#### c. Koagulan

Obat ini pada penggunaan lokal dapat menimbulkan hemostasis dengan dua cara, yaitu mempercepat perubahan protrombin menjadi trombin (aktivator protrombin) dan secara langsung menggumpalkan fibrinogen. Sediaan trombin tidak boleh langsung disuntikkan secara i.v., sebab segera menimbulkan pembekuan dengan bahaya emboli.



iktor

n norepinefrin berefek vasokonstriksi, dapat digunakan untuk perdarahan kapiler suatu permukaan. Vasopressin, yang bersifat, pernah digunakan untuk perdarahan pasca persalinan.

### 1.5.9.2 Hemostatik sistemik

Transfusi darah dapat menghentikan perdarahan dengan segera. Hal ini dapat terjadi karena pasien mendapatkan semua faktor pembekuan darah yang terdapat dalam darah transfusi. Perdarahan yang disebabkan oleh defisiensi faktor pembekuan darah tertentu dapat diatasi dengan mengganti/memberikan faktor pembekuan yang berkurang. (Rosmiati, H,2007)

### 1.5.10 Feracrylum

*Feracrylum* adalah campuran yang larut dalam air dari garam besi yang tidak lengkap (II dan III) dari asam polyacrylic yang mengandung 0,05% - 0,5% zat besi yang bertindak sebagai agen hemostatik yang efektif, aman yang juga memiliki sifat antimikroba sehingga mengurangi risiko infeksi luka. *Feracrylum* di alam bersifat biokompatibel, biodegradable dan higroskopis. *Feracrylum* memiliki berat molekul tinggi yaitu 5.000.000-8.00.000 Dalton, sehingga tidak dapat terjadi penyerapan secara sistemik dan tidak menimbulkan efek samping pada hati, ginjal, adrenal, kardiovaskular dan system hemopoietik.

*Feracrylum* memiliki tiga cara untuk perawatan luka, yaitu:

#### 1. Tindakan hemostatik

Ini menyebabkan aktivasi trombin (faktor IIa) yang merupakan serin protease yang mengubah fibrinogen yang larut menjadi untaian fibrin yang tidak larut sehingga membentuk bekuan serta mengkatalisasi banyak reaksi terkait koagulasi lainnya dalam koagulasi darah. Saat *feracrylum* bertemu dengan protein darah terutama albumin, akan terbentuk kompleks sintetik yang tidak larut dalam air yang dapat terurai secara hayati membentuk bekuan darah yang keras pada permukaan luka dan menghentikan pendarahan kapiler yang merembes dalam 2-3 menit. Ini bersifat non alergi tanpa penyerapan sistemik.

#### 2. Tindakan antimikroba

*Feracrylum* tidak hanya bersifat hemostatik tetapi juga anti-infeksi terhadap beberapa strain patogen, bakteri dan jamur gram-positif dan gram-negatif seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Shigella dysenteriae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoderma viridae* dan *Candida albicans*. *Feracrylum* bekerja dengan menghancurkan dinding sel mikroba yang menyebabkan lisis sel. *Feracrylum* mengandung povidone iodine untuk sifat antimikroba dan memiliki aktivitas antibakterial sebanding dengan povidone iodine. *Feracrylum* mengurangi risiko infeksi sehingga dapat menunda penyembuhan luka.



### 3. Tindakan higroskopis

*Feracrylum* di alam bersifat higroskopis dan mempertahankan lingkungan yang lembab ditempat luka sehingga penyembuhan bisa lebih cepat. Ini mendorong pertumbuhan jaringan granulasi yang baik. Feracrylum tersedia dalam bentuk larutan (1% b/v *feracrylum*), gel dan salep (1% *feracrylum*) dan tulle (3% *feracrylum*). (Meenakshi K *et al.*, 2017)



## BAB II

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 2.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2021 – Januari 2022. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Perairan Pantai Desa Puntondo dan Punaga, Kabupaten Takalar. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

#### 2.2 Alat dan Bahan Penelitian

##### 2.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- |                                |                       |
|--------------------------------|-----------------------|
| 1. Seperangkat alat gelas ukur | 10. Neraca listrik    |
| 2. Neraca analitik             | 11. Object glass      |
| 3. Cawan penguap               | 12. Rak tabung reaksi |
| 4. Oven                        | 13. Botol vial        |
| 5. Loyang                      | 14. Stopwatch         |
| 6. Mikroskop elektrik          |                       |
| 7. Aluminium foil              |                       |
| 8. Mortir                      |                       |
| 9. Stampfer                    |                       |

##### 2.2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa bioaktif florotanin alga cokelat *Sargassum binderi* bahan lain yang digunakan diantaranya :

1. Etanol 80%
2. Darah tikus
3. Metanol
4. *Feracrylum* 1%



il

aan

digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus* istar dengan berat 160 – 200gram dengan usia sekitar 3-4 an ini sebelumnya telah diaklimatisasi selama satu minggu.

Hewan dipelihara dalam kandang, diberi sekam dan diberi pakan. Hewan percobaan harus dipelihara dan dirawat dengan sebaik-baiknya pada kandang yang mempunyai ventilasi baik dan selalu dijaga kebersihannya. Hewan yang sehat ditandai dengan pertumbuhan normal dan suhu badan normal.

Jumlah hewan percobaan yang akan digunakan dalam penelitian ini sebanyak 5 ekor tikus untuk tiap kelompok pada uji menggunakan 1 ekor tikus.

## 2.4 Tahapan Penelitian

1. Identifikasi jenis alga cokelat *Sargassum binderi*
2. Preparasi sampel *Sargassum binderi*
3. Pembuatan simplisia dan ekstrak
4. Uji Analisis teknik FT-IR (*Fourier-Transform Infrared Spectroscopy*) pada Florotanin
5. Melakukan uji efektivitas senyawa bioaktif florotanin sebagai anti perdarahan secara lokal dengan metode *Lee-White* dan metode hapusan darah secara *in vitro*
6. Data yang diperoleh dianalisis dan disajikan dalam bentuk diagram dan tabel hasil penelitian.

## 2.5 Pelaksanaan Penelitian

### 2.5.1 Uji Efektivitas Senyawa Aktif Florotanin Alga Cokelat (*Sargassum binderi*) pada Pendarahan Lokal

Uji efektivitas senyawa aktif florotanin Alga Cokelat (*Sargassum binderi*) pada pendarahan lokal dilakukan di Laboratorium Fitokimia Universitas Hasanuddin, Makassar.

### 2.5.2 Preparasi Sampel

Sampel dikeringkan di bawah sinar matahari selama  $\pm$  4 hari. Sampel yang telah kering dipotong-potong kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk simplisia kering.

### 2.5.3 Ekstraksi Senyawa Aktif dengan Metode Maserasi dan Ekstraksi Metode Partisi Hasil Hidrolisis



Sebanyak 300 gram serbuk *Sargassum binderi* diekstraksi maserasi nol 80% selama 24 jam. Kemudian sampel tersebut dishaker 30 rpm selama 3 jam. Selanjutnya sampel disaring dan ampas serasi kembali dengan pelarut yang sama sampai filtrat yang lebih bening. Filtrat yang diperoleh disaring menggunakan *in* dipekatkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh dan dialiri gas N<sub>2</sub>.

Ekstrak pekat fraksi etanol 80% dihidrolisis dengan HCl 2N ke dalam ekstrak pekat dengan perbandingan 1:2. Hasil hidrolisat yang diperoleh ditambahkan dengan NaHCO<sub>3</sub> sampai netral. Kemudian hasil dari hidrolisis dibagi menjadi 2 bagian yang sama. Bagian pertama diekstraksi dengan metode partisi menggunakan pelarut kloroform sedangkan bagian kedua diekstraksi dengan metode partisi menggunakan pelarut n-heksana.

Proses ekstraksi dengan metode partisi dilakukan dengan tiga kali pengulangan, dimana fase organik di partisi kembali untuk memaksimalkan hasil ekstraksi. Masing-masing ekstrak hasil partisi dipekatkan menggunakan rotary evaporator dan dialiri gas N<sub>2</sub> ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang dan dihitung rendemennya menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100$$

#### 2.5.4 Uji Analisis teknik FT-IR (Fourier-Transform Infrared Spectroscopy) pada Florotanin

Fourier Transform Infrared (FT-IR) merupakan salah satu metode pengukuran untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Pengujian FT-IR dilakukan pertama kali untuk mengetahui informasi terkait ikatan kimia yang ada pada florotanin alga cokelat *Sargassum binderi*. Uji analisis dengan teknik FT-IR menggunakan alat spektrofotometri Shimadzu 8400S buatan Jepang, dengan prosedur sebagai berikut:

1. Buka program aplikasi FT-IR 8400 pada komputer.
2. Sampel florotanin *Sargassum binderi* sejumlah 1 mg dimasukkan ke dalam sample holder mesin FT-IR.
3. Pada menu aplikasi kemudian dilakukan scanning pada panjang gelombang (□) 765 nm.
4. Didapatkan hasil nilai absorbansi dengan standar yang digunakan adalah asam galat, yaitu standar yang digunakan untuk mengetahui ekspresi kandungan fenolik dengan nilai equivalen asam galat (1 gram asam galat/kg ekstrak).
5. Spektrum yang diperoleh muncul pada layar beserta nilai panjang gelombang.
6. Hasil yang didapat dilakukan analisis data berdasarkan gugus fungsi pada bilangan gelombang tertentu..



#### Hemostasis Secara *In Vitro*

hemostasis secara *in vitro* dilakukan dengan metode Lee-istrek (hapusan darah). (Jose D *et al.*, 2018)

#### Iran Waktu Koagulasi dengan Metode Lee-White

digunakan untuk menentukan masa koagulasi darah yang



diamati secara visual. Pada pengujian ini, hewan percobaan berupa 5 ekor tikus. Darah yang diperoleh dari 1 ekor tikus digunakan untuk 5 kelompok uji *in vitro* dengan total jumlah darah yang diambil sebanyak 2,5 ml dari 1 ekor tikus. Darah diambil melalui ekor kemudian dimasukkan ke dalam 5 tabung yang telah dipersiapkan untuk setiap kelompok uji masing-masing sebanyak 0,5 ml.

Tahapannya adalah sebagai berikut:

1. Tikus dianestesi menggunakan dietil eter, kemudian diambil darahnya dari ekor sebanyak 0,5 ml untuk tiap tabung uji.
2. Disiapkan 5 kelompok uji, masing-masing kelompok uji terdiri dari 5 tabung.
3. Kelompok 1, kontrol negatif yaitu tabung kontrol berisi aquadest sebanyak 0,5 ml, lalu ditambahkan darah sebanyak 0,5 ml.
4. Kelompok 2, kontrol positif yaitu tabung yang berisi *Feracrylum* 1% sebanyak 0,5 ml, lalu ditambahkan darah sebanyak 0,5 ml.
5. Kelompok 3, yaitu tabung yang berisi ekstrak florotanin 2,5% sebanyak 0,5 ml, lalu ditambahkan darah sebanyak 0,5 ml.
6. Kelompok 4, yaitu tabung yang berisi ekstrak florotanin 5% sebanyak 0,5 ml, lalu ditambahkan darah sebanyak 0,5 ml.
7. Kelompok 5, yaitu tabung yang berisi ekstrak florotanin 7,5% sebanyak 0,5 ml, lalu ditambahkan darah sebanyak 0,5 ml.

Pada saat memasukkan darah ke dalam setiap tabung, *stopwatch* dijalankan untuk melihat waktu koagulasi darah. Setiap 30 detik sekali, setiap tabung dimiringkan dan diamati koagulasi darah yang terjadi hingga terjadi koagulasi atau terbentuk gumpalan (*clot*) selama 10 menit. Waktu yang diperoleh dikenakan 30 detik.



### 2.5.5.2 Koagulasi secara Mikroskopik dengan Teknik Eustrek (Hapusan Darah)

Metode ini dilakukan untuk melihat keadaan sel darah secara mikroskopik. Caranya adalah sebagai berikut:

1. Disiapkan 5 buah kaca objek yang bersih dan bebas lemak, masing-masing diberi label nomor 1 sampai nomor 5.
2. Diambil darah dari kelompok nomor 1 sampai 5 setelah proses koagulasi menggunakan metode lee-white ditotolkan pada ujung sisi kaca objek nomor 1 sampai nomor 5 secara berurutan.
3. Disentuh tetesan darah pada kaca objek dengan kaca objek lain sehingga tetesan akan melebar, kemudian dengan arah berlawanan menuju sisi kaca objek yang lain, tarik hingga membentuk seperti lidah, dan akan terbentuk lapisan yang tipis.
4. Diamati bentuk penggumpalan darah dibawah mikroskop dengan perbesaran 10 dan didokumentasikan dengan kamera.

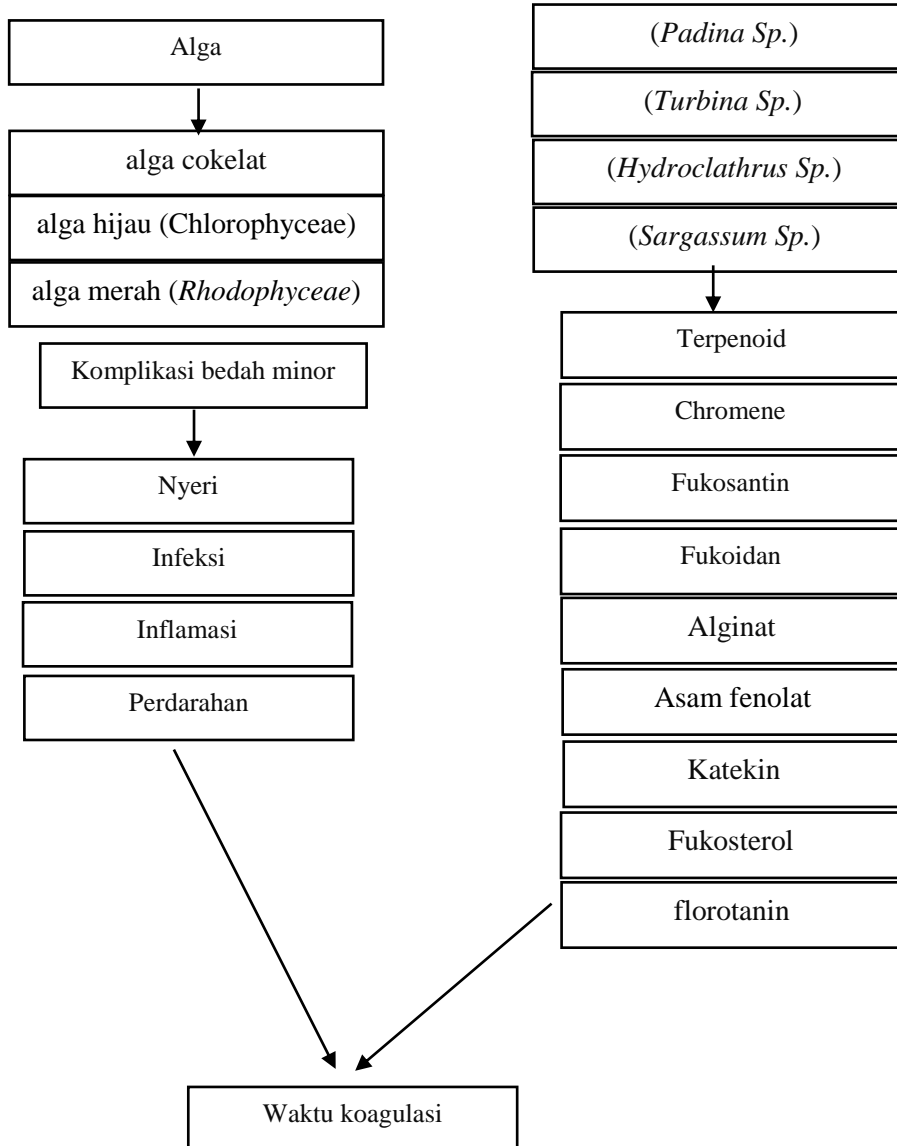
### 2.5.6 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil penelitian dikelompokkan, lalu ditabulasikan berdasarkan metode analisis variansi (ANOVA) untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan menggunakan program SPSS (*Statistical Product and Service Solution*), dianalisis secara statistik dengan uji normalitas data, uji homogenitas data, dan uji komparabilitas:

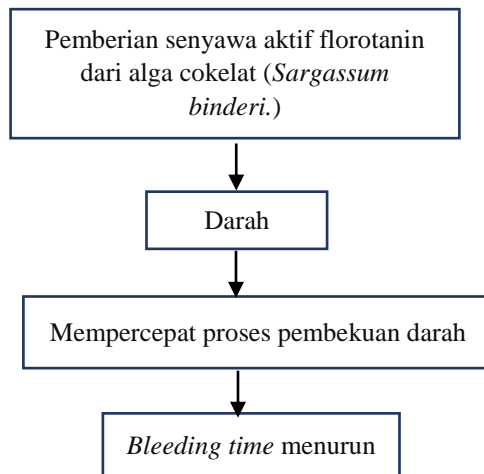
1. Analisis normalitas  
Analisis normalitas data dilakukan dengan uji Shapiro-Wilk. Uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data adalah normal dengan nilai  $p > 0,05$ .
2. Analisis homogenitas  
Analisis homogenitas data dilakukan dengan uji varians (*Levene's test of varians*). Uji varians menunjukkan bahwa data adalah homogen dengan nilai  $p > 0,05$ .
3. Analisis komparabilitas  
Data terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference*.



## 2.6 Kerangka Teori



## 2.7 Kerangka Konsep



## 2.8 Alur Penelitian

