

**UJI ANTI-PERDARAHAN SEDIAAN OBAT KUMUR
BERBASIS SENYAWA FUCOIDAN DAN FLOROTANIN
DARI BAHAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM BINDERI*)**

***ANTI-BLEEDING TEST OF MOUTHWASH PREPARATIONS
BASED ON FUCOIDAN AND FLOROTANIN COMPOUNDS
FROM BROWN ALGAE (*SARGASSUM BINDERI*)***



Helmy Siswanto Hasbi

J012221007



PROGRAM STUDI MAGISTER KEDOKTERAN GIGI

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

**UJI ANTI-PERDARAHAN SEDIAAN OBAT KUMUR
BERBASIS SENYAWA FUCOIDAN DAN FLOROTANIN
DARI BAHAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM BINDERI*)**

Helmy Siswanto Hasbi

J012221007



**PROGRAM STUDI MAGISTER KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**UJI ANTI-PERDARAHAN SEDIAAN OBAT KUMUR
BERBASIS SENYAWA FUCOIDAN DAN FLOROTANIN
DARI BAHAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM BINDERI*)**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kedokteran Gigi

Disusun dan diajukan oleh

Helmy Siswanto Hasbi

J012221007

kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

TESIS

UJI ANTI-PERDARAHAN SEDIAAN OBAT KUMUR BERBASIS SENYAWA FUCOIDAN DAN FLOROTANIN DARI BAHAN ALGA COKLAT (*SARGASSUM BINDERI*)

Helmy Siswanto Hasbi

J012221007

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada tanggal bulan
tahun dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

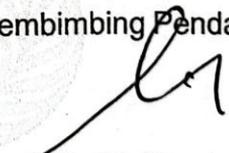
Pembimbing Utama


Prof. Muhammad Ruslin, drg.,
M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M.,
Subsp. Ortognat-D (K)
NIP.19730702 2001121 001


Ketua Program Studi
Magister Kedokteran Gigi,


Fuad Husain Akbar, drg., MARS., Ph.D
NIP.19850826 201504 001

Pembimbing Pendamping,


Prof. Dr. M. Hendra Chandha,
drg., MS
NIP. 19590622 198803 1003


Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin,


Irfan Sugianto, drg., M.Med., Ph.D
NIP.19810215 2008011 009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Uji Anti-Perdarahan Sediaan Obat Kumur Berbasis Senyawa Fucoidan Dan Florotanin dari Bahan Alga Coklat (*Sargassum Binden*)" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D (K) dan Prof. Dr. M. Hendra Chandha, drg., M.S). 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, 14 Agustus 2024



Materai dan tandangan

Helmy Siswanto Hasbi
J012221007

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala Puji Syukur kepada Allah SWT, Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat, bimbingan dan kasih karunia-Nya yang dilimpahkan kepada penulis, serta shalawat dan salam semoga selalu tercurahkan kepada baginda tercinta, Nabi yang paling dimuliakan, pemimpin orang-orang bertakwa, Muhammad SAW yang dinantikan syafaatnya di akhirat kelak. Limpahan doa kepada keluarga serta sahabat Rasulullah SAW. *Alhamdulillah*, berkat rahmat dan karunia serta mukzizat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini sebagai salah satu syarat akademik untuk meraih gelar Magister Kedokteran Gigi pada Program Studi Magister Kedokteran Gigi Departemen Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.

Penghargaan yang tulus dan ucapan terima kasih dengan penuh keikhlasan juga penulis ucapkan kepada: Prof. Muhammad Ruslin, drg., M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp. Ortognat-D(K) sebagai promotor dan Prof. M. Hendra Chandha, drg., M.S sebagai ko-promotor, Prof. Dr. Nurlindah Hamrun, drg., M.Kes sebagai penguji pertama, Muhammad Irfan Rasul, drg., Ph.D., Sp.B.M.M Subsp C.O.M. (K) sebagai penguji kedua, dan Dr. Ayub Irmadani Anwar, drg., M.Med.Ed., FISDPH. FISPD sebagai penguji ketiga, atas arahan dan diskusi dalam penelitian ini.

Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin dan Prodi Magister Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program studi Magister serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua saya Prof. Hasbi Marissangan, M.Si., Ph.D dan Ros Gala S.H., M.M, Istri saya Retno Sari Daulima, drg. dan saudara saya Harry Marissangan Hasbi, S.T., M.M, saya mengucapkan limpah terima kasih dan sembah sujud atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada kedua mertua saya Ir. Irwan Daulima dan Hj. Marwati, yang telah memberikan dukungan selama ini kepada saya. Tak lupa juga saya mengucapkan terima kasih kepada senior juga teman seperjuangan saya Andi Baso, drg. yang telah bersama sama dengan saya berjuang dalam menempuh pendidikan ini.

Penulis,
Makassar, 14 Agustus 2024



Helmy Siswanto Hasbi

ABSTRAK

Helmy Siswanto Hasbi. **Uji Anti-Perdarahan Sediaan Obat Kumur Berbasis Senyawa Fucoidan dan Florotanin dari Bahan Alga Coklat (*Sargassum Binderi*)** (dibimbing oleh **Muhammad Ruslin** dan **M. Hendra Chandha**).

Latar Belakang: Tujuan penelitian ini adalah untuk mengukur potensi obat kumur berbahan dasar alga coklat dalam mengendalikan perdarahan pasca pencabutan gigi.

Bahan dan Metode: Sampel yang digunakan adalah *Sargassum Binderi*, diekstraksi dengan metode maserasi yang hasilnya mengandung fucoidan. Hasil ekstraksi dibagi menjadi beberapa dosis yaitu 0,1 gr fucoidan: 0,1 gr florotanin, 0,15 gr fucoidan: 0,05 florotanin, 0,05 gr fucoidan: 0,15 florotanin. Dimana pada penelitian ini digunakan 5 kelompok perlakuan. Dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan. Percobaan dilakukan dengan mengamati waktu pendarahan dengan cara memotong ekor mencit 2 mm dari ujung ekor. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin pada bulan Oktober sampai November 2023. Populasi penelitian ini terdiri dari alga coklat yang tumbuh di perairan Punaga, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan.

Hasil: Formula obat kumur dibagi menjadi tiga dosis (Formula 1 untuk 0,1 gr fucoidan: 0,1 gr florotanin, 0,15 gr fucoidan: 0,05 florotanin, 0,05 gr fucoidan: 0,15 florotanin) dan dua kelompok kontrol (kontrol negatif menggunakan aquadest dan kontrol positif menggunakan feracrylum 1%).

Kesimpulan: Berdasarkan hasil penelitian, fucoidan dan florotanin sebagai zat koagulan efektif pada dosis 0,05 gr fucoidan : 0,15 florotanin. Hal ini menunjukkan bahwa alga coklat *Sargassum binderi* mempunyai potensi sebagai bahan koagulan.

Kata kunci: Pendarahan, Alga coklat, Koagulasi, Fucoidan, Florotanin.

ABSTRACT

Helmy Siswanto Hasbi. **Anti-Bleeding Test of Mouthwash Preparations Based on Fucoidan and Phlorotannin Compounds from Brown Algae (Sargassum Binderi)** (Supervised by **Muhammad Ruslin** and **M. Hendra Chandha**).

Background: This research was to measure the potential of mouthwash based from brown algae for controlling bleeding after tooth extractions.

Materials and Method: The sample used was Sargassum Binderi, extracted by the maceration method which results contained fucoidan. The extraction results are divided into several doses, which are 0.1 gr fucoidan: 0.1 gr phlorotannin, 0.15 gr fucoidan: 0.05 phlorotannin, 0.05 gr fucoidan: 0.15 phlorotannin. Where in this study, 5 treatment groups were used. Two control groups and three treatment groups. The experiment was carried out by observing the bleeding time by cutting the tails of mice 2 mm from the tip of the tail. This research was carried out at the biopharmaceutical laboratory of the Faculty of Pharmacy, Hasanuddin University from October to November 2023. The population of this research consisted of brown algae growing in the waters of Punaga, Takalar regency, province of South Sulawesi.

Results: The mouthwash formula were divided into three doses (Formula 1 for 0.1 gr fucoidan: 0.1 gr phlorotannin, 0.15 gr fucoidan: 0.05 phlorotannin, 0.05 gr fucoidan: 0.15 phlorotannin) and two control groups (negative control using by aquadest and positive control using by feracrylum 1%).

Conclusion: According to research results, fucoidan and phlorotannin as a coagulant agent is effective at a dose of 0.05 gr fucoidan: 0.15 phlorotannin. This indicates that the brown alga Sargassum binderi has the potential to be a coagulant agent.

Keywords: Bleeding time, Brown algae, Coagulating agent, Fucoidan, Phlorotannin.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGAJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Jangka Panjang.....	3
1.4 Manfaat.....	3
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu.....	3
1.4.2 Manfaat Penelitian.....	3
1.5 Alga.....	4
1.6 Alga Cokelat.....	5
1.7 Senyawa Bioaktif <i>Sargassum Binderi</i>	6
1.7.1 Florotanin pada Alga Cokelat.....	7
1.7.2 Fucoidan pada Alga Cokelat.....	8

1.8	Metode Ekstraksi.....	9
1.9	Hemostatis.....	9
1.9.1	Proses Hemostatis.....	10
1.9.2	Vasokonstriksi Vaskuler.....	10
1.9.3	Proses Adhesi Trombosit.....	10
1.9.4	Hemostatis Sekunder (Koagulasi).....	12
1.9.5	Mekanisme Kontrol Pembekuan Darah.....	13
1.10	Fisiologi Pembekuan Darah.....	13
1.11	Pemeriksaan Faal Hemostatis.....	13
1.11.1	Bleeding Time.....	13
1.12	Efek Obat-Obatan Hemostatik.....	14
1.13	Mencit.....	14
1.14	Kerangka Teori.....	14
1.15	Kerangka Konsep.....	16
1.16	Hipotesis Penelitian.....	16
	BAB II METODE PENELITIAN.....	17
2.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	17
2.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	17
2.2.1	Waktu Penelitian.....	17
2.2.2	Tempat Penelitian.....	17
2.3	Variabel dan Definisi Operasional Penelitian.....	17
2.3.1	Variabel Penelitian.....	17
2.3.2	Definisi Operasional Penelitian.....	17

2.4	Teknik dan Besar Sampel Penelitian.....	18
2.5	Kriteria Sampel.....	18
2.5.1	Kriteria Inklusi.....	18
2.5.2	Kriteria Eksklusi.....	19
2.6	Alat dan bahan	19
2.6.1	Alat	19
2.6.2	Bahan	20
2.7	Prosedur Penelitian	20
2.7.1	Persiapan Hewan Coba.....	20
2.7.2	Pengolahan Ekstrak Fucoidan Sargassum Bindreri.....	21
2.7.3	Pengolahan Ekstrak Florotanin Sargassum Bideri.....	21
2.7.4	Uji Analisis Teknik FT-IR	23
2.7.5	Pembuatan Formula Obat Kumur	23
2.7.6	Uji Efektivitas Antiperdarahan.....	23
2.7.7	Cara Penilaian Antiperdarahan.....	24
2.7.8	Analisis Data	24
2.8	Perizinan Etik	24
2.9	Alur Penelitian	25
	BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN	26
3.1	Hasil.....	26
3.1.1	Analisis Data	26
3.1.2	Uji Normalitas Data.....	27

3.1.3 Uji Homogenitas Data Antar Kelompok	28
3.2 Pembahasan	29
BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN	32
4.1 Kesimpulan	32
4.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
Tabel 1. Distribusi rerata dan standar deviasi waktu perdarahan pada Setiap Kelompok Penelitian	27
Tabel 2. Uji Normalitas	28
Tabel 3. Uji homogenitas	28
Tabel 4. Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> Waktu Perdarahan	29
Tabel 5. Analisis Komparasi (LSD) waktu perdarahan antar kelompok.....	29

DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
Gambar 1. <i>Sargassum Bideri</i> (Dokumentasi pribadi)	7
Gambar 2. Struktur florotinin	9
Gambar 3. Struktur Fucoidan	9
Gambar 4. Kerangka Teori.....	16
Gambar 5. Kerangka Konsep	17
Gambar 6. Alur Penelitian	26

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perdarahan merupakan komplikasi yang paling ditakuti oleh pasien maupun dokter gigi sebab dianggap mengancam kehidupan (McCormik, 2014). Komplikasi perdarahan dapat terjadi selama tindakan atau setelah tindakan. Oleh karena itu dokter gigi dituntut untuk lebih banyak tahu tentang bagaimana pasien yang memiliki resiko untuk terjadinya perdarahan pada waktu maupun pasca perawatan/tindakan. Pada beberapa kasus terdeteksinya pasien dengan resiko perdarahan, merupakan suatu langkah yang sangat berarti untuk mengurangi masalah timbulnya perdarahan yang fatal pada perawatan gigi dan mulut (Iwabuchi H, 2014).

Salah satu cara untuk mengontrol perdarahan adalah dengan melakukan penekanan. Penekanan diperoleh dari penekanan langsung dengan jari atau dengan kasa. Sering hanya dengan penekanan sudah berhasil mengatasi perdarahan (Amer 2014). Selain penekanan, penggunaan hemostatik topical juga merupakan langkah untuk mengontrol perdarahan. Semenjak penemuan nylon, polimer dalam bidang kimia mengalami kemajuan pesat. Perkembangan yang terbaru adalah penggunaan polimer untuk obat-obatan, yang memiliki sifat kompatibilitas dengan tubuh manusia, dapat dihancurkan di dalam tubuh (biodegradable), dan tidak bersifat toksik setelah degradasi. Salah satu jenis polimer itu adalah Feracrylum 1%.

Namun penggunaan obat sintesis sebagai anti perdarahan, dalam waktu panjang akan mengakibatkan efek samping bagi tubuh karena dapat menimbulkan gangguan pada saluran pencernaan di lambung, dan gangguan fungsi ginjal. Selain itu, penggunaan obat steroid akan mengakibatkan penurunan respon imun tubuh terhadap infeksi, hipertensi, dan osteoporosis. Efek samping yang tinggi dari penggunaan obat sintesis akan memiliki upaya lain untuk menemukan obat alternatif anti perdarahan dari bahan-bahan organik yang masih bersifat alami, seperti tumbuh-tumbuhan, yang sesuai dengan rekomendasi *The World Health Organization* (WHO) untuk memberikan pengobatan tradisional, dengan memanfaatkan potensi bahan alam, yang memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan penggunaan obat sintesis, karena pengobatan secara tradisional dengan menggunakan tumbuhan, mikroba, dan sumber lainnya, dapat memperkecil efek samping yang ditimbulkan (Gunaydin & Bilge, 2018; Karim et al., 2019).

Obat kumur merupakan salah satu produk perawatan kesehatan gigi dan mulut yang dikategorikan sebagai obat bebas dan dapat diperoleh tanpa perlu peresepan tenaga medis profesional. Fungsi obat kumur secara umum adalah untuk menghilangkan atau membunuh bakteri, sebagai astringen, penghilang bau mulut, dan memiliki efek terapeutik untuk mengurangi infeksi dan mencegah terbentuknya

karies (Crowley MM, 2006).

Salah satu bahan herbal yaitu tanaman yang memiliki khasiat anti perdarahan dan memiliki potensi adalah alga coklat *Sargassum binderi*. Alga coklat tumbuh liar dan umumnya berkembang biak dengan invasif pada alga yang lain. Saat ini masyarakat belum membudidayakan, karena disamping permintaan pasar yang masih kurang, teknik pengolahan dan manfaat belum diketahui masyarakat. *Sargassum binderi* memiliki nilai ekonomis dan berpotensi untuk dijadikan bahan dasar obat dalam bidang kedokteran gigi (Kordi, 2010).

Sargassum binderi telah ditemukan dan menjadi sumber polisakarida dan glikoprotein dengan imunostimulan, dan aktivitas antivirus. Polisakarida terpenting pada rumput laut coklat adalah asam alginat dan turunannya seperti fucoidan, funoran dan laminaran yang merupakan komponen penyusun dinding sel seperti halnya selulosa dan pektin. Fucoidan merupakan polisakarida kompleks pada dinding sel rumput laut. Berbagai penelitian modern membuktikan, *fucoidan* mampu meningkatkan imunitas dengan merangsang produksi sel-sel imun. Membantu melawan virus dan bakteri, melawan alergi dan menghambat penggumpalan darah (Suresh et al. 2013).

Alga coklat juga memiliki kandungan senyawa *florotanin* yang menunjukkan karakteristik sangat mirip dengan tanin yang dihasilkan oleh tumbuhan darat tetapi secara struktural sangat berbeda. Tanin merupakan senyawa polifenol yang banyak terdapat pada tumbuhan. Presipitasi protein non-spesifik adalah karakteristik umum tanin. Senyawa tanin banyak terdapat di dalam alga coklat sebagai *florotanin*. *Sargassum binderi* memiliki nilai ekonomis dan berpotensi untuk dijadikan bahan dasar obat dalam bidang kedokteran gigi (Rohim A. 2019).

Selain itu juga, *Sargassum binderi* mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, dan fenol. Alga atau seaweed merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga benthic yang banyak hidup melekat di dasar perairan. Alga merupakan ganggang yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi thallophyta. Klasifikasi alga berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu alga hijau (Chlorophyta), alga merah (Rhodophyta), alga coklat (Phaeophyta), dan alga pirang (Chrysophyta). Seaweed telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan (Ode I, 2014).

Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan sumberdaya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi adalah alga laut, yang juga dikenal di masyarakat dengan nama rumput laut (seaweed). Rumput laut telah lamadimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan (Pakidi, 2017).

Alga laut tumbuh dalam berbagai ukuran dengan lebih dari 10.000 spesies yang tumbuh menyebar di seluruh dunia dalam berbagai bentuk dan warna. Alga teknologi, rumput laut diketahui mengandung senyawa hidrokoloid, senyawa bioaktif dan senyawa penting lainnya (Besednova, 2022).

Alga adalah tanaman primitif yang menempel atau mengambang bebas yang

tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati, dan merupakan sumber daya hayati laut yang penting dan dapat diperbarui. Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, bebatuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting (Pakidi, 2017).

Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, bebatuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting (Besednova, 2022).

Makroalga laut adalah kelompok multiseluler mirip tumbuhan yang dapat diklasifikasikan menjadi alga cokelat (Phaeophyta), hijau (Chlorophyta) dan merah (Rhodophyta). Pigmen yang bertanggung jawab atas warna cokelat Phaeophyta adalah fucoxanthin, warna merah Rhodophyta berasal dari phycobilins, dan beberapa pigmen yang bertanggung jawab atas warna hijau Chlorophyta seperti klorofil a dan b, karoten, dan xantofil. Komposisi kimiawi makroalga sangat bervariasi antar spesies dan dengan musim panen, habitat pertumbuhan, dan kondisi lingkungan. Dalam wilayah geografis yang kecil, laju pertumbuhan dan komposisi kimiawi dapat bervariasi tergantung pada musim panen, sinar matahari, salinitas, kedalaman arus air lokal laut, atau kedekatan dengan tanaman akuakultur (Besednova, 2022).

Berdasarkan penelitian, 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. Pada penelitian yang dilakukan terdapat jumlah flavonoid yang melimpah pada alga cokelat. Flavonoid merupakan senyawa bioaktif dari alga cokelat yang memiliki potensi sebagai obat anti inflamasi dan anti nyeri (Limantara L, 2011).

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 mandibula (Gordon PW, 2013).

Berdasarkan hal di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui efek anti perdarahan obat kumur dari senyawa bioaktif *fucoidan* dan *florotanin* berbahan dasar alga cokelat (*Sargassum binderi*) pada hewan uji mencit.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah senyawa bioaktif fucoidan dan florotanin dari sediaan obat kumur berbasis bahan alga cokelat (*Sargassum binderi*) mempunyai potensi efek anti perdarahan

pada makhluk hidup?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek uji antiperdarahan sediaan obat kumur berbasis senyawa fucoidan dan florotanin dari bahan alga cokelat (*sargassum binderi*).
2. Untuk membuat formulasi obat kumur berbasis senyawa fucoidan dan florotanin dari bahan alga cokelat (*sargassum binderi*).

1.3.1 Tujuan Jangka Panjang

Menghasilkan obat kumur dalam bidang kedokteran gigi berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *sargassum binderi* dari perairan selat Makassar dengan kemampuan efek anti perdarahan yang dapat digunakan luas oleh masyarakat.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

1. Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan sediaan obat kumur berbasis senyawa fucoidan dan florotanin dari bahan alga coklat (*sargassum binderi*).
2. Menjadi bahan pertimbangan dalam penyusunan penelitian pemanfaatan sediaan obat kumur berbasis senyawa fucoidan dan florotanin dari bahan alga coklat (*sargassum binderi*).
3. Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan di bidang kedokteran gigi bedah mulut dan maksilofasial pada khususnya.

1.4.2 Manfaat Penelitian

1. Untuk memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum binderi*.
2. Meningkatkan nilai tambah alga cokelat Indonesia utamanya jenis *Sargassum binderi* asal Selat Makassar untuk menjadi salah satu bahan baku pembuatan obat herbal tradisional berbahan dasar alam di bidang kedokteran gigi.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian alga cokelat *Sargassum binderi*.

1.5 Alga

Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang terdapat di dunia berdasarkan ekspedisi Laut Sibolga oleh Van Bosse. pada tahun 1899-1900. Dengan kata lain, perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumberdaya plasma nutfah rumput laut sebesar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut dunia (Santosa, 2003). Rumput laut dari kelas alga merah (Rhodophyceae) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, alga coklat sekitar 134, dan alga hijau 196 jenis. Dibalik peran ekologis dan biologisnya dalam menjaga kestabilan ekosistem laut serta sebagai tempat hidup sekaligus perlindungan bagi biota lain, golongan makroalga ini memiliki potensi ekonomis yaitu sebagai bahan baku dalam industri dan kesehatan (Surono, 2004).

Indonesia memiliki banyak jenis rumput laut, diantaranya bernilai ekonomis cukup tinggi seperti alga coklat *Sargassum*. *Sargassum* sp. sangat melimpah serta tersebar luas di perairan Indonesia. *Sargassum* sp. mengandung bahan alginat dan iodin yang digunakan pada industri makanan, farmasi, kosmetik dan tekstil (Kadi 2005).

Selain itu juga, *Sargassum* binderi mengandung senyawa-senyawa aktif steroida, alkaloida, dan fenol. Alga atau seaweed merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga benthic yang banyak hidup melekat di dasar perairan. Alga merupakan ganggang yang hidup di laut dan tergolong dalam divisi thallophyta. Klasifikasi alga berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu alga hijau (Chlorophyta), alga merah (Rhodophyta), alga coklat (Phaeophyta), dan alga pirang (Chrysophyta). Seaweed telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan (Ode I, 2014).

Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan sumberdaya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi adalah alga laut, yang juga dikenal di masyarakat dengan nama rumput laut (seaweed). Rumput laut telah lamadimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan (Pakidi, 2017).

Alga laut tumbuh dalam berbagai ukuran dengan lebih dari 10.000 spesies yang tumbuh menyebar di seluruh dunia dalam berbagai bentuk dan warna. Alga teknologi, rumput laut diketahui mengandung senyawa hidrokoloid, senyawa bioaktif dan senyawa penting lainnya (Besednova, 2022).

Alga laut tumbuh dalam berbagai ukuran dengan lebih dari 10.000 spesies yang tumbuh menyebar di seluruh dunia dalam berbagai bentuk.

Alga adalah tanaman primitif yang menempel atau mengambang bebas yang tidak memiliki akar, batang, dan daun sejati, dan merupakan sumber daya hayati laut yang penting dan dapat diperbarui. Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, bebatuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di

pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting (Pakidi, 2017).

Mereka tumbuh di daerah laut dalam hingga kedalaman 180 m, di muara, dan juga di air hitam pada substrat padat seperti kerikil, bebatuan, karang mati, cangkang, dan bahan tanaman, dan melekat pada dasar di pesisir berbatu yang relatif dangkal, terutama pada kondisi mereka terpapar saat air surut, dan merupakan salah satu sumber daya kehidupan laut yang penting (Besednova, 2022).

Makroalga laut adalah kelompok multiseluler mirip tumbuhan yang dapat diklasifikasikan menjadi alga cokelat (Phaeophyta), hijau (Chlorophyta) dan merah (Rhodophyta). Pigmen yang bertanggung jawab atas warna cokelat Phaeophyta adalah fucoxanthin, warna merah Rhodophyta berasal dari phycobilins, dan beberapa pigmen yang bertanggung jawab atas warna hijau Chlorophyta seperti klorofil a dan b, karoten, dan xantofil. Komposisi kimiawi makroalga sangat bervariasi antar spesies dan dengan musim panen, habitat pertumbuhan, dan kondisi lingkungan. Dalam wilayah geografis yang kecil, laju pertumbuhan dan komposisi kimiawi dapat bervariasi tergantung pada musim panen, sinar matahari, salinitas, kedalaman arus air lokal laut, atau kedekatan dengan tanaman akuakultur (Besednova, 2022).

1.6 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 spesifik yang dapat memberi manfaat ekonomi. Selain itu, dalam beberapa dekade terakhir, bioaktif polisakarida sulfat yang diisolasi dari alga cokelat menarik perhatian di bidang farmakologi dan biokimia (Ode I, 2014).

Alga cokelat, khususnya *Sargassum binderi*, telah diketahui memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. *Sargassum binderi* merupakan rumput laut yang termasuk dalam kelas Phaeophyceae dan genus terbesar dari famili Sargassaceae. Di Indonesia, *Sargassum binderi* 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 coklat tumbuh sepanjang tahun, dapat hidup pada setiap musim barat maupun musim timur (Tjitrosoepomo, 2005).

Sargassum tumbuh berumpun dengan untaian cabang-cabang, panjang thallus mencapai 1-3 meter. Fitton telah menyimpulkan bahwa pola hidup di Asia Timur yang menggunakan alga cokelat sebagai bahan makanan memiliki hubungan dengan rendahnya angka kejadian kanker di wilayah tersebut. 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 (Gheda S, 2021).

Masyarakat di China menggunakan berbagai macam jenis *Sargassum* untuk mengobati scrofula, edema, atherosclerosis, penyakit kulit, kondisi hipertensi, pembesaran organ hati, neurosis, angina pectoris, esophagitis, dan bronkhitis kronis (Mawaddah R, 2015).

Sargassum terdiri dari kurang lebih 400 spesies di dunia. Spesies- spesies *Sargassum* yang dikenal di Indonesia ada sekitar 12 spesies, yaitu: *S. duplicatum*, *S. histrix*, *S. echinocarpum*, *S. gracilimum*, *S. obtusifolium*, *S. binderi*, *S. polycystum*, *S. crassifolium*, *S. microphyllum*, *S. aquofilum*, *S. vulgare*, dan *S. Polyceratium* (Gheda S, 2021).



Gambar 1. *Sargassum Binderi* (Dokumentasi pribadi)

1.7 Senyawa Bioaktif *Sargassum Binderi*

Senyawa bioaktif adalah senyawa yang mampu memberikan efek fisiologis positif diluar nilai gizi dasar bahan pangan. Pada umumnya, senyawa bioaktif diserap dari saluran pencernaan ke dalam sistem peredaran darah, lalu dibawa ke organ targetnya. senyawa-senyawa bioaktif dalam *Sargassum Binderi* meliputi *florotanin*, *fucoidan terpenoid*, *chromene*, *derivat tetraprenyltoluquinol*, *fukosantin*, *alginat*, *asam fenolat*, *katekin*, *kuersetin*, *fukosterol*, *stigmasterol*, β - *sitosterol*, *feofitin A*, dan *sulfoquinovosyldiacylglycerol*. *Florotanin*, *fukosantin*, *fucoidan*, *alginat*, *fukosterol*, *meroditerpenoid* dan *gentisic acid* adalah senyawa bioaktif dominan dalam *Sargassum binderi* (Skinner M, 2013).

Meroditerpenoid merupakan senyawa bioaktif khas dalam *Sargassum binderi*, yang tidak diproduksi oleh genus rumput laut lainnya (Mawaddah R, 2015). 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 algin alginat adalah *Macrocystis*, *Turbinaria*, *Padina* dan *Sargassum Sp.* Phaeophyceae di daerah tropis memproduksi metabolit sekunder lebih baik sebagai suatu sistem proteksi terhadap radiasi sinar ultraviolet. Senyawa fenol dan turunannya diduga menjadi komponen utama senyawa antioksidan yang dihasilkan oleh Phaeophyceae (Overland M, 2018).

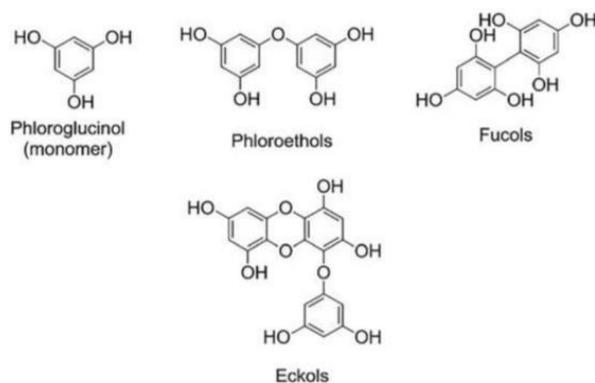
1.7.1 Florotanin pada Alga Cokelat

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 monomerfloroglucinol (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 sedangkan floroethol secara khusus memiliki ikatan eter melalui oksigen fenolik. Klasifikasi florotanin dibagi berdasarkan ikatan antar unit floroglucinol, menjadi enam subklas: floretol, fucol, fucofloretol, eckol, fuhahalol, dan isofuhahalol (Jeon YJ, 2011).

Beberapa penulis hanya menyebutkan empat subklas dikarenakan fuhahalol dan isofuhahalol jarang ditemukan. Ikatan yang paling umum antar unit floroglucinol adalah ikatan (Bule M, 2020).

Florotanin hanya diproduksi oleh alga cokelat melalui jalur biosintesis oleh malonat asetat. Florotanin 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 (Besednova, 2022).

Lopes dkk melaporkan kandungan florotanin pada beberapa famili Sargassaceae berkisar antara 74.96 hingga 815.82 mg floroglucinol/kg berat kering (Besednova, 2022).

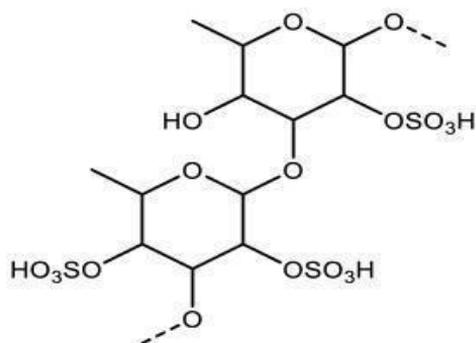


Gambar 2. Struktur florotanin

1.7.2 Fucoidan pada Alga Cokelat

Fucoidan merupakan polisakarida sulfat yang ditemukan pada struktur dinding sel rumput laut coklat yang mengandung fukosa sebagai komponen utama. Pada rumput laut coklat fucoidan memiliki fungsi melindungi dari patogen-patogen yang terlarut dalam air laut (Jeon YJ, 2011).

Fucoidan memiliki residu α -L-fukopironosa O-tersulfat yang dihubungkan melalui rantai $\alpha - (1 \rightarrow 2) -$, $\alpha - (1 \rightarrow 3) -$ dan/atau $\alpha - (1 \rightarrow 4)$ dengan susunan struktur bercabang. Fucoidan memiliki berat molekul rata-rata 2000Da dan larut dalam air dan asam (Jeon YJ, 2011).



Gambar 3. Struktur Fucoidan

Fucoidan memiliki banyak manfaat bagi kesehatan seperti antitumor, imunomodulator, antiinflamasi, antivirus, antitrombik, antikoagulan, dan antioksidan. Selain itu fucoidan juga dapat digunakan untuk mengobati gejala penyakit hati, osteoarthritis, penyakit ginjal, mengurangi risiko kerusakan akibat radiasi, dan dapat digunakan untuk menghambat racun ular (Jeon YJ 2011).

1.8 Metode Ekstraksi

Proses ekstraksi pada alga cokelat *Sargassum Sp.* umumnya dilakukan dengan metode maserasi atau solid-liquid extraction (SLE) karena kesederhanaan, efisiensi, dan penyesuaian yang mudah serta skalabilitas menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan pelarut yang digunakan merupakan hal yang penting dalam keberhasilan proses ekstraksi ekstrak *Sargassum Bideri*. Pelarut organik masih paling berhasil dan masih digunakan dalam ekstraksi senyawa fenolik dari makroalga. Adapun pelarut yang umum digunakan dalam melakukan proses ekstraksi florotanin adalah etanol, methanol, aseton..Penggunaan etanol sebagai pelarut dalam proses ekstraksi *Sargassum* diyakini mampu menghasilkan kandungan senyawa fenolik yang lebih tinggi karena kepolaran pelarut. Etanol merupakan pelarut yang kepolarannya relatif rendah sedangkan air merupakan pelarut polar kuat, sehingga kepolaran pelarut ekstraksi akan terus menurun dengan penambahan etanol ke dalam air. Tujuan proses sonifikasi dan pengulangan dilakukan untuk memaksimalkan hasil ekstraksi senyawa fenolik. Dalam melakukan ekstraksi selektif terhadap senyawa bioaktif florotanin *Sargassum Bideri*, pada umumnya digunakan pelarut fraksi etil asetat. Etil asetat sendiri telah digunakan secara luas untuk mengekstraksi secara selektif senyawa polifenol dari berbagai tumbuhan alga. Berdasarkan laporan penelitian oleh Li Y dkk (2017), penggunaan etil asetat akan memberikan hasil TPC (total phlorotannin content) yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan pelarut 1-butanol dan aqueous residue. Laporan penelitian tersebut juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat juga efektif dalam memaksimalkan ekstrak florotanin dari ekstrak *Sargassum*. Hal ini juga sesuai pada laporan penelitian Erpel F., dkk. (2020) yang menyebutkan etil asetat telah digunakan secara luas untuk mendapatkan fraksi florotanin yang melimpah dari ekstrak alga cokelat (Sanjeewa 2017).

1.9 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 (Patil KR 2019).

Hemostasis normal terjadi sebagai hasil dari serangkaian proses yang diatur untuk mencapai 2 fungsi pertama, yaitu 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 (Patil KR 2019). Hemostatis merupakan proses yang kompleks maka dari itu dibagi dalam beberapa bagian, proses hemostasis primer, hemostasis sekunder (koagulasi), fibrinolisis, dan mekanisme pengaturan keseimbangannya (Patil KR 2019).

1.9.1 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 (Setiabudi RD, 2007). Pembuluh darah ini sering mengalami *rupture* oleh trauma-trauma minor yang terjadi sehari-hari. Trauma semacam ini adalah sumber tersering perdarahan (Patil KR 2019).

1.9.2 Vasokonstriksi Vaskuler

Pembuluh darah yang terpotong atau robek akan segera berkonstriksi akibat respon vaskuler inheren terhadap cedera dan vasokonstriksi yang diinduksi oleh rangsang simpatis. 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 (Setiabudi RD, 2007).

1.9.3 Proses Adhesi Trombosit

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. Dalam pemeriksaan mikroskop elektron diketahui ultra struktur trombosit terdiri atas berbagai bagian: 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. Glikokaliks, selaput berbulu halus yang mengelilingi membran trombosit (Setiabudi RD, 2007).

Pada permukaan ini terdapat reseptor-reseptor glikoprotein yang menjadi reaksi-reaksi kontak membran pada adhesi, perubahan bentuk sel, kontraksi internal, dan agregasi.² 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 (Setiabudi RD, 2007).

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 (Setiabudi RD, 2007).

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, trombospondin, protein S, plasminogen aktivator inhibitor,⁶ dan *platelet derived growth factor* (PDGF) beta trombosglobulin. 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. 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 terpapar, 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. Pada studi *in vitro*, dalam kondisi statis atau aliran yang lambat pada sirkulasi venula menunjukkan permukaan trombosit akan beradhesi dengan kolagen, fibronektin, laminin dan microfibril (Setiabudi RD, 2007).

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 GPIIb-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 trombosglobulin, trombospondin, vWF, fibrinogen, fibronektin, Ca, ADP, ATP, serotonin, dan 5OH triptamin) (Setiabudi RD, 2007).

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. 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. Trombosporin yang dilepaskan dari granula juga akan menyebabkan adhesi trombosit dan memperkuat agregasi (Setiabudi RD, 2007).

1.9.4 Hemostatis Sekunder (Koagulasi)

Koagulasi darah merupakan Proses koagulasi darah terdiri dari rangkaian enzimatik yang melibatkan banyak protein plasma yang disebut sebagai faktor 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) (Setiabudi RD, 2007).

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 (Setiabudi RD, 2007).

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* (Bonar, 2017).

1.9.5 Mekanisme Kontrol Pembekuan Darah

1.10 Fisiologi Pembekuan Darah

Pada saat terjadi perdarahan, secara alami tubuh akan merespon dengan mekanisme hemostatic untuk menghentikan perdarahan tersebut. Sistem penghentian perdarahan yang berfungsi normal penting bagi kehidupan organisme, karena jika hemostasis terganggu maka luka yang kecil sekalipun dapat menyebabkan perdarahan yang membahayakan jiwa, sebaliknya pada kecenderungan darah untuk membeku akan mempermudah pembentukan trombus dan meningkatkan risiko trombosis dan emboli (Kruse-Jarres R, 2014).

1.11 Pemeriksaan Faal Hemostatis

1.11.1 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 (Kruse-Jarres R, 2014).

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 (Kruse- Jarres R, 2014).

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 (Kruse-Jarres R, 2014).

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 hypofibrinogenemia (Kruse- Jarres R, 2014).

1.12 Efek Obat-Obatan Hemostatik

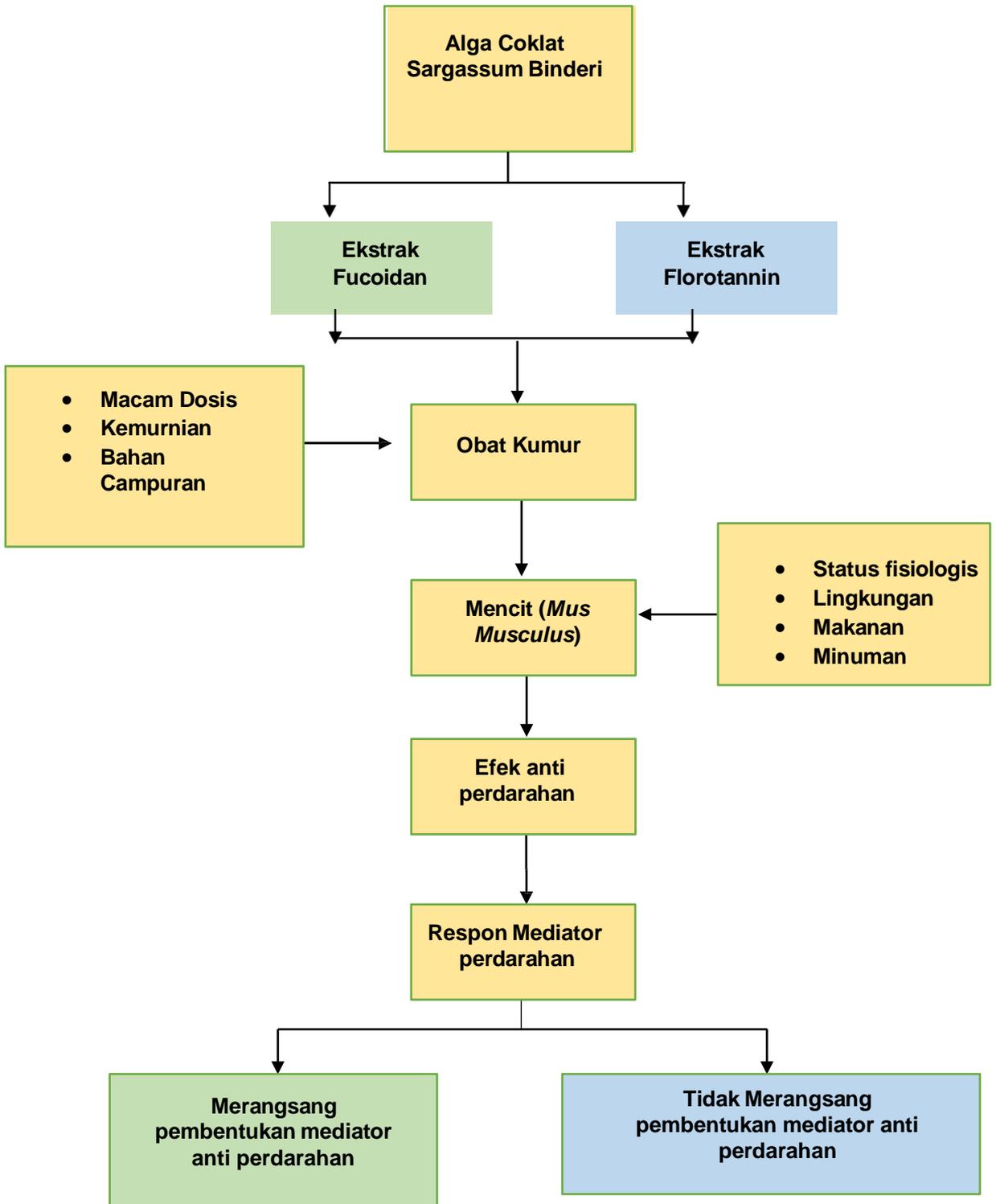
Obat hemostatik merupakan obat-obatan yang digunakan untuk mengatasi adanya perdarahan yang abnormal. Terdapat dua jenis obat-obatan hemostatik yaitu obat hemostatik sistemik dan obat hemostatik lokal. Saat ini telah tersedia berbagai jenis preparat hemostatik oral, diantaranya adalah bentuk *gelfoam*, *bone wax*, kolagen, spons selulosa, dan *astringent*. Beberapa jenis hemostatik tersebut memiliki kelemahan. Misalnya gelatin, dapat \ memicu timbulnya hematoma, reaksi benda asing, fibrosis luas, hingga *toxic shock syndrome*. Sedangkan bentuk hemostatik kolagen tidak dapat digunakan jika terdapat fokus infeksi dan sering menyebabkan alergi (Kruse-Jarres R, 2014).

1.13 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. Mencit sering dijumpai dalam 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 (Oktiansyah, R. 2019).

1.14 Kerangka Teori

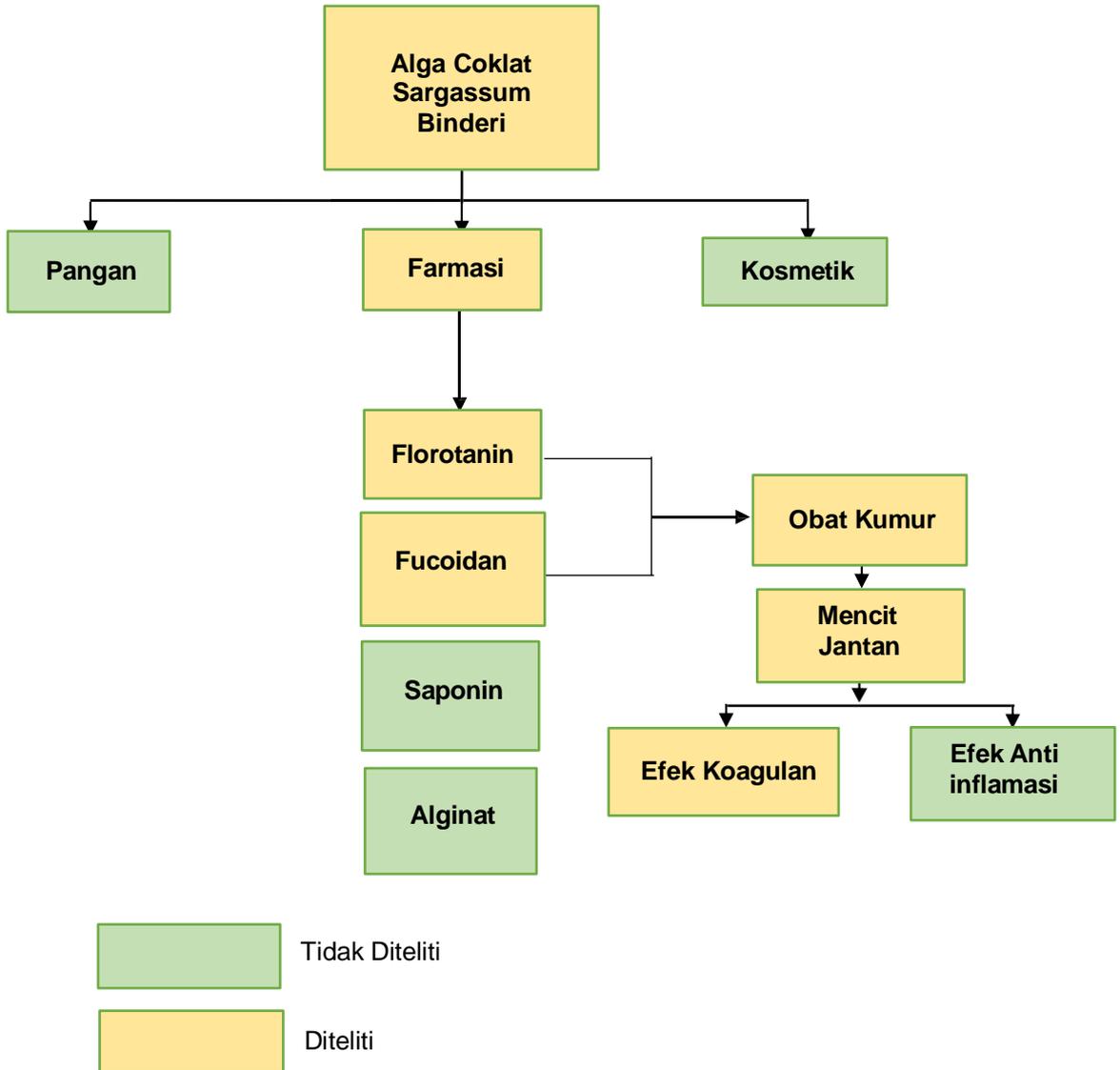
Alga cokelat *Sargassum binderi* merupakan tumbuhan yang hidup disekitar perairan pantai. Kualitas dan kuantitas senyawa bioaktif yang terkandung pada alga cokelat *Sargassum binderi* sangat dipengaruhi oleh beberapa parameter berupa kondisi fisika laut (suhu, intensitas cahaya, arus), kimia laut (oksigen terlarut, pH, salinitas) dan fisiologi (usia dan varian) dari tumbuhan itu sendiri. Kandungan florotanin alga cokelat *Sargassum binderi* yaitu kandungan *fucoïdan* dan *florotanin* yang sudah di ekstraksi kemudian dengan bahan tambahan dilakukan pembuatan obat kumur yang kemudian dilakukan uji efek anti perdarahan pada mencit jantan (*Mus Musculus*), dengan beberapa variabel penelitian yang mempengaruhi pertumbuhannya (status fisiologi, lingkungan, makanan, dan minuman). Pengamatan kemudian dilakukan untuk mengetahui efek anti perdarahan yang terjadi pasca pemberian bahan uji. Pengamatan dilakukan pada kondisi klinis mencit.



Gambar 4. Kerangka Teori

1.15 Kerangka Konsep

Alga coklat *Sargassum binderi* selama ini telah diketahui memiliki banyak manfaat dan luas digunakan sebagai bahan pangan, di bidang farmasi, dan industri.



Gambar 5. Kerangka Konsep

1.16 Hipotesis Penelitian

Senyawa bioaktif *fucoidan* dan *florotanin* dari sediaan obat kumur berbasis bahan alga coklat (*Sargassum binderi*) mempunyai potensi efek anti perdarahan pada mencit.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan dengan *the post test only control group design*, yaitu kelompok yang diberi perlakuan dan kelompok kontrol kemudian di lakukan observasi.

2.2 Waktu dan Tempat Penelitian

2.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2023.

2.2.2 Tempat Penelitian

Pengambilan sampel alga cokelat (*Sargassum binderi*) dilakukan di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangarabombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan. Titik pengambilan sampel yaitu 5°34'29.0"S 119°25'29.4"E. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biofarmaka dan Laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

2.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

2.3.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas: Obat kumur yang mengandung ekstrak senyawa *fucoidan* dan *florotanin* alga cokelat (*Sargassum binderi*).

Variabel terikat: Bleeding Time

Variabel kendali: Usia mencit, berat badan mencit, jenis kelamin mencit.

2.3.2 Definisi Operasional Penelitian

1. Alga cokelat (*Sargassum binderi*) adalah alga cokelat yang dimaksud merupakan alga cokelat yang tumbuh di pesisir Pantai Desa Punaga, Kecamatan Mangara bombang, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan.
2. Ekstrak *fucoidan* (*Sargassum binderi*) adalah kandungan senyawa aktif dari alga cokelat *Sargassum binderi* berupa ekstrak florotanin yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut HCl 0,1 N pH 4 pada suhu ruang selama 6 jam.
3. Ekstrak *florotanin* (*Sargassum binderi*) adalah kandungan senyawa aktif dari

alga cokelat *Sargassum binderi* berupa ekstrak florotanin yang diperoleh dari hasil ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

4. Hewan uji adalah mencit jantan (*Mus Musculus*) dengan berat 40 gram, yang berumur sekitar 2-4 bulan. Eksperimen sesuai dengan kode etik untuk pengelolaan ilmiah hewan.
5. Kontrol negatif uji anti perdarahan menggunakan larutan aquadest.
6. Kontrol positif uji anti perdarahan menggunakan hemolok dengan kandungan feracrylum 1%.
7. Efek anti pendarahan yaitu kemampuan efektif alga dalam menghambat proses perdarahan. Efektivitas diukur berdasarkan *bleeding time* yaitu waktu mulai perdarahan pada mencit sampai perdarahan berhenti.

2.4 Teknik dan Besar Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk untuk pengambilan sampel. Besar sampel penelitian yang digunakan dihitung menggunakan rumus federer. Rumus federer adalah sebagai berikut:

$$\text{Rumus Federer: } (n - 1) (t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

n = besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok, jumlah intervensi atau pengamatan.

Banyak kelompok = 5 kelompok perlakuan, Maka besar sampel tiap kelompok:

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) (5 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) (4) \geq 15$$

$$4n - 5 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 5$$

$$4n \geq 20 = 5$$

Dari perhitungan rumus federer didapatkan jumlah 5 mencit jantan (*Mus Musculus*) untuk setiap kelompok perlakuan. Karena menggunakan 5 kelompok perlakuan sehingga didapatkan jumlah keseluruhan tikus dalam penelitian ini adalah 25 ekor.

2.5 Kriteria Sampel

2.5.1 Kriteria Inklusi

1. Tidak memiliki cacat fisik.
2. Berat badan 20-40 gram.

3. Umur sekitar 2-4 bulan.
4. Sampel *Sargassum binderi* yang diambil merupakan sampel segar dan masih melekat pada substrat tempat tumbuh.

2.5.2 Kriteria Eksklusi

1. Mencit Jantan (*Mus Musculus*) sakit saat penelitian.
2. Mencit Jantan (*Mus Musculus*) mati saat penelitian.
3. Mencit Jantan (*Mus Musculus*) stress atau tidak mau makan saat penelitian.
4. Sampel alga cokelat *Sargassum binderi* yang melayang diperairan/pantai dan telah lepas dari substrat.

2.6 Alat dan bahan

2.6.1 Alat

1. Timbangan analitik digital (*FSR-B 1000 gram, Fujitsu, Jepang; Pioneer™ Plus Analytical PA124, Ohaus, Amerika Serikat*).
2. Stopwatch.
3. Timbangan digital (*SF-400, Morizt, China*).
4. Rotary evaporator (*Rotavapor R-220, Buchi, Swiss; RV 10 digital, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman*).
5. Labu Erlenmeyer (*Iwaki TE-32 1000 ml, Pyrex Asahi Techno Glass, Jepang*).
6. Gelas ukur kimia (*Iwaki OTE33 1000 ml, Asahi Glass, Indonesia*).
7. Gelas kimia (*Iwaki CTE33 1000 ml, AGC, Thailand*).
8. Oven dryer (*Memmert Universal Oven UN110, Memmert GmbH + Co. KG, Jerman*).
9. Blender simplisia.
10. *Magnetic stirrer (C-MAG MS 7, IKA Works GmbH & Co. KG, Jerman)*.
11. Batang pengaduk.
12. Corong (*Short-Stem Funnel 100 mm, Herma, China*).
13. Tiang statik.
14. Sentrifuse (*Model MX-305, Tomy, Jepang*).
15. Corong pisah 500 ml.
16. Toples kaca sampel.
17. Kanula spoit 3 ml.
18. Mesin freeze-dryer, (*FT33 MKII, Armfield, Inggris*).
19. Cawan petri.
20. Spektrofotometer *Infra-Red, (FTIR 8400S Spectrometer, Shimadzu, Jepang)*.
21. Hot plate (*Dragon Lab MS H-Pro, Dragon Laboratory, China*).

22. Stopwatch.

2.6.2 Bahan

1. Ekstrak *florotanin* dan *fucoidan* dari *Sargassum binderi*.
2. Akuades steril.
3. Pakan mencit.
4. Larutan *Aquadest*.
5. Handscoen dan masker.
6. Kertas saring (*Whatman Grade 1 125 mm Qualitative Filter Papers 11 μ m, GE Healthcare, Amerika Serikat*).
7. Etanol 70 %.
8. Etil asetat.
9. Ephinephrine.

2.7 Prosedur Penelitian

Tahapan penelitian terdiri dari:

1. Persiapan hewan coba.
2. Pengolahan ekstrak *Sargassum binderi*.
3. Uji Analisis Teknik FT-IR pada bahan bioaktif *florotanin* dan *fucoidan*
4. Persiapan bahan uji obat kumur ekstrak *florotanin* dan *fucoidan* yang telah di bagi menjadi konsentrasi.
5. Uji efektifitas anti perdarahan.
6. Pengamatan.
7. Analisis data.

2.7.1 Persiapan Hewan Coba

Mencit jantan berusia 2-4 bulan dengan berat 20-40 gram dan diadaptasikan di kandang mencit laboratorium Biofarmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin dengan persiapan sebagai berikut:

1. Pertama, dilakukan penimbangan berat badan hewan coba agar sesuai dengan kriteria sampel.
2. Tikus ditempatkan pada kandang berukuran 45 x 35 x 17 cm dan ditempatkan di dalam ruangan yang cukup aliran udara dan cahaya. Alas kandang diberi sekam setebal 2 cm dan diganti setiap 2 hari sekali.
3. Besar seluruh sampel akan dibagi dalam 5 kelompok yang nantinya akan ditempatkan dalam 5 kandang.
4. Makanan diberikan secara *ad libitum* dengan menitik beratkan pada makanan yang banyak mengandung serat kasar, umbi-umbian, jagung, serta hijau-hijauan yang lain.
5. Minuman diberikan dalam botol 300 ml yang dilengkapi pipa kecil diisi air matang. Makanan diberikan dalam wadah kecil dan diberi 3 kali sehari yaitu

pada setiap pagi, siang, dan malam.

6. Binatang percobaan diadaptasikan selama 1 minggu untuk mendapatkan kesehatan umum yang baik serta penyesuaian terhadap lingkungan.
7. Penempatan kandang:
 - a. Kandang ditempatkan pada tempat yang dengan pola 12 jam terang dan 12 jam gelap.
 - b. Kandang ditempatkan agak jauh dari kebisingan sehingga binatang percobaan bisa lebih tenang.
 - c. Kandang diusahakan pada tempat yang kering agar tidak menjadi sarang penyakit.

2.7.2 Pengolahan Ekstrak Fucoidan *Sargassum Bindreri*

Ekstraksi senyawa *fucoidan* dari alga coklat metode ekstraksi yang digunakan yaitu ekstraksi menggunakan CaCl_2 2% pada suhu 85°C dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Tepung rumput laut direndam dalam CaCl_2 2% (1:20) (b/v) lalu diekstraksi sambil diaduk selama 4 jam pada suhu 85°C .
2. Penyaringan dilakukan dengan menggunakan planktonet 500 mesh, kemudian filtrat disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit. Filtrat dipisahkan dari endapannya dan ke dalam filtrat ditambah etanol (1:2).
3. Hasil endapan yang diperoleh dilarutkan dalam air dan disentrifugasi 8.000 rpm selama 15 menit (sampai benar-benar larut). Filtrat yang diperoleh didialisis dengan 0,5 M NaCl dan akuades sehingga diperoleh ekstrak fucoidan, lalu dikering bekukan.

2.7.3 Pengolahan Ekstrak Florotanin *Sargassum Binderi*

Ekstraksi senyawa florotanin dari Alga coklat, ekstraksi florotanin diperoleh dengan mengacu pada metode Li dkk. (2017) dengan modifikasi.

1. Sebelum diambil dari perairan pantai, sampel yang telah dipetik dari substrat kemudian dicuci bilas dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan sedimen. Sampel lalu diambil dan ditempatkan didalam box styrofoam.
2. Identifikasi sampel, identifikasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui jenis alga coklat yang digunakan, Dalam penelitian ini adalah *Sargassum binderi* dan dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
3. Pembuatan simplisia dan ekstraksi, simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang dikeringkan. *Sargassum binderi* yang diperoleh kemudian dibilas kembali dengan air tawar sebanyak 2 kali pembilasan hingga sedimen dan kotoran yang menempel menjadi bersih. Selanjutnya sampel dibilas kembali dengan akuades untuk membersihkan sisa-sisa air tawar yang mungkin masih ada. Selanjutnya sampel *Sargassum*

binderi dikering-anginkan di tempat teduh atau tidak terkena matahari secara langsung selama ± 3 hari, lalu kemudian dilanjutkan dengan oven Herbs Dryer pada suhu sekitar 45°C selama ± 12 jam. Total sampel Sargassum binderi 500 gram simplisia kering. Kemudian dilakukan proses blender simplisia agar didapat hasil sampel berupa serbuk kering.

4. Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Metode yang digunakan adalah metode maserasi. Simplisia Sargassum binderi sebanyak 500 gram yang sudah dikeringkan kemudian dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:5 b/v. Kemudian diinkubasi dalam magnetic stirrer selama 60 menit pada suhu kamar dengan kecepatan 200 rpm, lalu dibiarkan selama 2 hari dengan dilakukan pengadukan setiap hari.
5. Simplisia kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan filtrat ditampung dalam tabung erlenmeyer. Proses ekstraksi dengan metode maserasi pada serbuk simplisia dilakukan sebanyak dua kali (duplikat) untuk mendapatkan hasil ekstrak yang maksimal.
6. Hasil campuran kemudian disentrifugasi (3.000 rpm, 10 menit, suhu kamar) dan supernatan diambil. Selanjutnya, filtrat dikumpulkan dan pelarut diuapkan dengan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 45°C dan kecepatan rotasi 28 rpm selama 150 menit. Ekstrak alga cokelat Sargassum binderi yang didapatkan berupa ekstrak kental sebanyak 120 gram.
7. Ekstrak etanol kental kemudian diekstraksi kembali dengan pelarut etil asetat. Ekstrak etanol kental sebanyak 120 gram didispersikan dalam etil asetat dengan perbandingan solid/liquid ratio 1:5 (b/v) dan diinkubasi dalam magnetic stirrer (30 menit, suhu kamar, 200 rpm), dan dibiarkan pada suhu kamar selama 24 jam.
8. Setelah diinkubasi larutan ekstrak terpisah menjadi dua lapisan. Lapisan yang dibawah adalah ekstrak etanol dan fase yang diatasnya adalah fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat selanjutnya diambil menggunakan corong pisah dan didapatkan fraksi etil asetat sebanyak 560 mL.
9. Filtrat dikumpulkan dan pelarut dihilangkan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C , kecepatan 60 rpm dengan waktu 55 menit dan didapatkan ekstrak kental florotanin 10,254 gram.
10. Ekstrak kental florotanin kemudian disimpan di freezer pada suhu -20°C , lalu dikering-bekukan dengan metode freeze-dried sebelum digunakan.

2.7.4 Uji Analisis Teknik FT-IR

Fourier Transform Infrared (FT-IR) merupakan salah satu metode pengukuran untuk mendeteksi struktur molekul senyawa melalui identifikasi gugus fungsi penyusun senyawa. Pengujian FTIR 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 FTIR 8400 pada komputer.
2. Sampel *florotanin* dan *fucoidan sargassum binderi* sejumlah 1 mg dimasukkan ke dalam sample holder mesin FTIR.
3. Pada menu aplikasi kemudian dilakukan scanning dengan FTIR 8400 pada panjang gelombang (λ) 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.

2.7.5 Pembuatan Formula Obat Kumur

Pembuatan Obat Kumur Formula dibuat sebanyak 100 ml dengan ekstrak alga cokelat *Sargassum binderi* dalam jumlah 98%, 0,4% dari minyak esensial (Thymol) dan pengemulsi (Sodium stearoyl lactylate) dalam jumlah sekitar 1,6%, digunakan untuk menyiapkan obat kumur. Rancangan formula dibuat berdasarkan jurnal (Vineskhan, 2020) karena memiliki kandungan zat aktif yang sama dengan *Ulva Selenium*. Semua komponen bahan obat kumur dicampurkan sesuai dengan formulasi dan dibuat homogen dengan magnetic stirrer pada kecepatan 100 rpm selama 15 menit.

2.7.6 Uji Efektivitas Antiperdarahan

1. Kontrol negatif menggunakan aquades. Setiap bahan uji diberi label nama pada wadah untuk memudahkan peneliti saat melakukan penelitian.
2. Kontrol positif menggunakan bahan obat yang mengandung feracrylum 1%.
3. Dilakukan pembuatan obat kumur dari bahan *florotanin* dan *fucoidan* dengan dosis 0,1 gr *fucoidan*: 0,1 gr *florotanin* untuk perlakuan pertama, 0,15 gr *fucoidan*: 0,05 *florotanin* untuk perlakuan dua, dan 0,05 gr *fucoidan*: 0,15 *florotanin* pada perlakuan ke tiga.

2.7.7 Cara Penilaian Antiperdarahan

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok tikus jantan yang terdiri dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

1. Ekor tikus jantan ditandai dengan spidol pada bagian 3 mm dari ujung ekor dan dibersihkan dengan ethanol 70%. Setelah itu ekor tikus jantan dipotong dengan gunting surgery.
2. Untuk kelompok tikus jantan 1 (kontrol negatif), celupkan ekor tikus jantan kedalam akuades selama 3 detik.
3. Darah yang keluar setelah pemotongan diteteskan pada kertas saring.
4. Stopwatch mulai dijalankan bersamaan dengan terlihatnya darah yang keluar dari ekor tikus jantan yang telah dipotong.
5. Dengan sehelai kertas saring, darah yang menetes disentuh hingga terhisap oleh kertas serap. Kertas saring tidak boleh menyentuh luka.
6. Prosedur nomor 5 dilakukan tiap 30 detik sampai darah tidak keluar lagi. Hal ini dapat dilihat pada kertas serap yang tidak menunjukkan adanya titik darah lagi.
7. Stopwatch dihentikan ketika darah sudah tidak dapat terhisap lagi oleh kertas serap kemudian waktu dicatat.

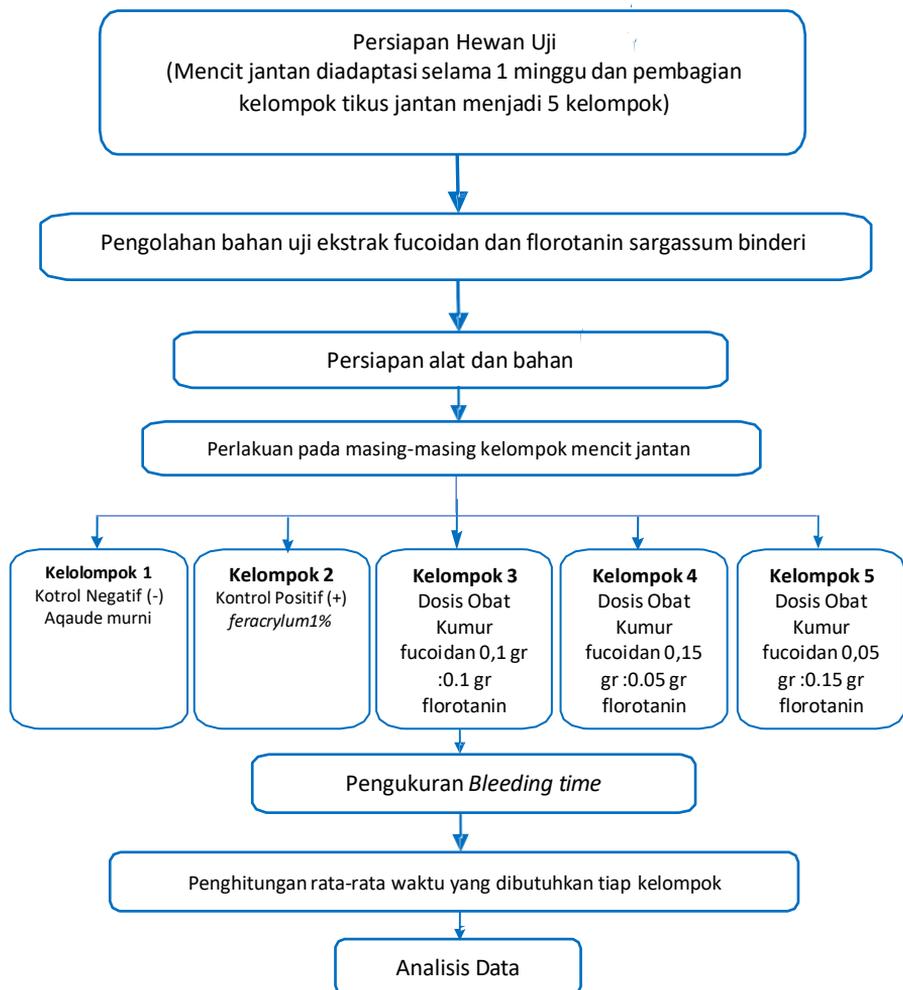
2.7.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data (karena data pengamatan < 50 sampel, jika hasil uji statistik nilai $p > 0.05$ maka data berdistribusi normal) dan dianalisis dengan uji *Levene* untuk melihat homogenitas data. Jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan menggunakan metode ANOVA dan dilanjutkan uji LSD (*Least Significant Difference*) untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan bermakna. Apabila dari salah satu syarat uji ANOVA tidak dipenuhi, maka dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat adanya perbedaan. Apabila terdapat perbedaan bermakna dilakukan uji *Mann-Whitney* untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

2.8 Perizinan Etik

Penelitian ini mendapatkan izin dari Komite Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dengan No. UH23120919.

2.9 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian