

**EFEKTIVITAS SENYAWA FLOROTANIN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
Sargassum binderi SEBAGAI AGEN ANTIPERDARAHAN PADA TIKUS
JANTAN (*Rattus norvegicus*): STUDI *IN VIVO***

**EFFECTIVENESS OF PHLOROTANNINS COMPOUNDS FROM THE
EXTRACT OF BROWN ALGAE *Sargassum binderi* AS HEMOSTATIC
AGENT IN MALE RATS (*Rattus norvegicus*): *IN VIVO* STUDY**



PAULA NESTY BANO

3045 201 007



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

**EFEKTIVITAS SENYAWA FLOROTANIN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
Sargassum binderi SEBAGAI AGEN ANTIPERDARAHAN PADA TIKUS
JANTAN (*Rattus norvegicus*): STUDI *IN VIVO***

PAULA NESTY BANO

J045 201 007



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

**EFFECTIVENESS OF PHLOROTANNINS COMPOUNDS FROM THE
EXTRACT OF BROWN ALGAE *Sargassum binderi* AS AN ANTI
HEMORRHAGE AGENT IN MALE RATS (*Rattus norvegicus*): *IN VIVO*
STUDY**

PAULA NESTY BANO

J045 201 007



**SPECIALIZED DENTAL EDUCATION PROGRAM
ORAL AND MAXILLOFACIAL SURGERY
FACULTY OF DENTISTRY
HASANUDDIN UNIVERSITY
MAKASSAR
2024**

**EFEKTIVITAS SENYAWA FLOROTANIN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
Sargassum binderi SEBAGAI AGEN ANTIPERDARAHAN PADA TIKUS
JANTAN (*Rattus norvegicus*): STUDI *IN VIVO***

Tesis

Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar spesialis

Program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial

Disusun dan diajukan oleh

**PAULA NESTY BANO
J045 201 007**

Kepada

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

TESIS

EFEKTIVITAS SENYAWA FLOROTANIN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT
Sargassum binderi SEBAGAI AGEN ANTIPERDARAHAN PADA TIKUS
JANTAN (*Rattus norvegicus*): STUDI *IN VIVO*

PAULA NESTY BANO
J045 201 007

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.Ortognat-D (K)
NIP 197307022001121001

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

Ketua Program Studi Bedah
Mulut dan Maksilofasial,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Hasanuddin,

drg. Andi Tarin, M.Kes., Sp.B.M.M.,
Subsp.C.O.M (K)
NIP 197410102003121002

drg. Irfan Sugianto, M.MedED., Ph.D
NIP 1981020152008011009

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Efektivitas Senyawa Florotanin Dari Ekstrak Alga Cokelat *Sargassum Binderi* Sebagai Agen Antiperdarahan Pada Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*): Studi *In Vivo*” 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, 30 April 2024
Materai dan tandatangan



Paula Nesty Bano
J045 201 007

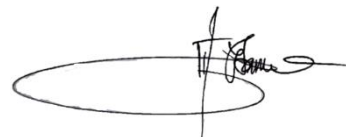
Ucapan Terima Kasih

Penelitian yang saya lakukan dapat terlaksana dengan sukses dan disertasi ini dapat terampungkan atas bimbingan, diskusi dan arahan Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) sebagai promotor, dan drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K) sebagai ko-promotor-1. Saya mengucapkan berlimpah terima kasih kepada mereka.

Kepada Pemerintah Provinsi Papua, saya mengucapkan terima kasih atas beasiswa Tugas Belajar yang diberikan (No.005/21338/SET) selama menempuh program pendidikan dokter Spesialis Bedah Mulut. Ucapan terima kasih juga saya ucapkan kepada pimpinan Universitas Hasanuddin, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Studi Bedah Mulut dan Maksilofasial Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Bedah Mulut dan Maksilofasial serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Akhirnya, kepada kedua orang tua tercinta saya mengucapkan limpah terima kasih dan pujian syukur atas doa, pengorbanan dan motivasi mereka selama saya menempuh pendidikan. Penghargaan yang besar juga saya sampaikan kepada Suami dan anak tercinta dan seluruh saudara di Tanah Papua atas motivasi dan dukungan yang tak ternilai.

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Paula Nesty Bano', is written over a large, horizontal oval shape that serves as a decorative underline or seal.

Paula Nesty Bano
J045 201 007

ABSTRAK

PAULA NESTY BANO. **EFEKTIVITAS SENYAWA FLOROTANIN DARI EKSTRAK ALGA COKELAT *Sargassum binderi* SEBAGAI AGEN ANTIPERDARAHAN PADA TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*): STUDI *IN VIVO*** (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: Komplikasi sering dijumpai dalam praktek dokter gigi, beberapa komplikasi dapat terjadi selama maupun setelah tindakan pencabutan gigi. Perdarahan berlebih pasca pencabutan gigi merupakan komplikasi yang paling sering terjadi. Untuk meminimalkan efek samping dari obat-obatan yang mungkin terjadi, maka diperlukan bahan alami pengganti. Pada beberapa penelitian, seringkali kita jumpai zat pada tumbuhan yang membantu dalam proses penghentian perdarahan, antara lain flavonoid, saponin, dan tanin. Salah satu tumbuhan yang mempunyai ketiga zat tersebut adalah Alga Cokelat.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk meneliti ngetahui ruh anti perdarahan alga coklat *Sargassum binderi* terhadap luka potong ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*).

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Subjek yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 25 ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*) yang sehat dan dibagi menjadi lima kelompok. Kelompok pertama sebagai kontrol negatif (*aquadest*), kelompok kedua sebagai kontrol positif (feracrylum 1%), dan kelompok ketiga, keempat dan kelima adalah kelompok perlakuan yang diberikan (ekstrak alga cokelat *Sargassum* 7.5%, 5% dan 2.5%), ekor tikus dipotong 3mm dari ujung ekor kemudian bahan diaplikasikan pada luka potong ekor, darah yang keluar diteteskan pada kertas serap sampai perdarahan berhenti. Setelah itu waktu perdarahan dihitung dan dilakukan analisis data uji statistik ANOVA untuk data berdistribusi normal dan homogen kemudian dilanjutkan menggunakan uji Duncan.

Hasil: Terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan kelompok ekstrak *sargassum* pada konsentrasi florotanin 2.5%, florotanin 5% dan florotanin 7.5%.

Kesimpulan: Senyawa florotanin dari ekstrak *Sargassum binderi* telah terbukti memiliki potensi antiperdarahan yang signifikan pada konsentrasi terendah 2.5%, sementara tidak terdapat perbedaan efektivitas antiperdarahan yang signifikan antara konsentrasi Feracrylum 1% dan florotanin 2.5%. Penelitian ini menunjukkan bahwa florotanin pada konsentrasi terendah 2.5% memiliki implikasi yang menjanjikan dalam pengembangan terapi hemostasis.

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

ABSTRACT

PAULA NESTY BANO. **EFFECTIVENESS OF PHLOROTANNIN COMPOUNDS FROM THE EXTRACT OF BROWN ALGAE *Sargassum binderi* AS ANTI HEMORRHAGE AGENT IN MALE RATS (*Rattus norvegicus*): IN VIVO STUDY** (supervised by Prof. drg. M. Ruslin M.Kes., Ph.D., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D and drg. Yossy Yoanita Ariestiana, M.KG., Sp.B.M.M., Subsp.Ortognat-D (K)).

Background: Complications are often encountered in dental practice, and several complications can occur during or after tooth extraction procedures. Excessive bleeding following tooth extraction is the most common complication. To minimize the potential side effects of medications, natural alternatives are needed. In several studies, we often find substances in plants that aid in the cessation of bleeding, including flavonoids, saponins, and tannins. One of the plants that possesses all three substances is Brown Algae.

Objective: This research aims to investigate the potential of phlorotannins compounds found in brown algae *Sargassum binderi* as an anti hemorrhage agent. Thus, providing a better understanding of the potential for new therapy based on natural compounds in addressing bleeding issues.

Method: This study employed an experimental design with a post-test only control group. The subjects consisted of 25 healthy male rats (*Rattus norvegicus*) divided into five groups. The first group served as the negative control (distilled water), the second as the positive control (1% Feracrylum), and the third, fourth, and fifth groups as treatment groups receiving brown algae extract (*Sargassum* 7.5%, 5%, and 2.5%, respectively). The rats' tails were cut 3mm from the tip, and the material was applied to the tail cut wounds. Blood was then dripped onto absorbent paper until bleeding stopped. Subsequently, the bleeding time was recorded, and data analysis was conducted using ANOVA for normally distributed and homogeneous data followed by the Duncan test.

Results: Significant differences were observed between the positive control and the *Sargassum* extract groups at concentrations of 2.5% florotanin, 5% florotanin, and 7.5% florotanin.

Conclusion: The phlorotannins compound from *Sargassum binderi* extract has demonstrated significant antihemorrhagic potential at the lowest concentration of 2.5% while no significant difference in antihemorrhagic effectiveness was found between 1% Feracrylum and 2.5% florotanin. This study underscores the promising implications of using florotanin at the lowest concentration of 2.5% for the development of hemostasis therapy.

Keywords: anti-hemorrhage, bleeding time, brown algae, phlorotannin, *Sargassum binderi*

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
LEMBAR SEMINAR HASIL PENELITIAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS.....	v
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vii
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN DAN ISTILAH	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
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
1.3.3 Tujuan Jangka Panjang.....	2
1.4 Manfaat	2
1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu	2

1.4.2 Manfaat Penelitian	3
1.5 Tinjauan Teori	3
1.6 Makroalga	3
1.6.1 Alga Cokelat	4
1.6.2 Identifikasi Sargassum	5
1.6.3 Senyawa Bioaktif Sargassum	7
1.7 Tanin	7
1.7.1 Florotanin pada Alga Cokelat	8
1.8 Hemostasis	9
1.8.1 Etiologi Pembekuan Darah	10
1.8.2 Pemeriksaan Faal Hemostasis	12
BAB II KERANGKA TEORI DAN KONSEP	14
2.1 Kerangka Teori	14
2.2 Kerangka Konsep	15
2.3 Hipotesis Penelitian	16
2.4 Teknik dan Besar Sampel	16
2.5 Kriteria Sampel	16
2.5.1 Kriteria Inklusi	16
2.5.2 Kriteria eksklusi	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.2.1 Waktu Penelitian	18
3.2.2 Tempat Penelitian	18

3.3 Variabel dan Defenisi Operasional Penelitian	18
3.3.1 Variabel Penelitian.....	18
3.3.2 Definisi Operasional Penelitian.....	18
3.4 Alat dan Bahan	19
3.4.1 Alat.....	19
3.4.2 Bahan.....	19
3.5 Prosedur Penelitian	20
3.5.1 Persiapan Hewan Uji	20
3.6 Pengolahan Ekstrak <i>Sargassum binderi</i>	20
3.6.1 Pengambilan sampel	20
3.6.2 Identifikasi Sampel	20
3.6.3 Pembuatan Simplisia dan ekstraksi	20
3.7 Uji Analisis teknik FT-IR pada Florotanin	21
3.8 Persiapan Bahan Uji Perhitungan Waktu Perdarahan	22
3.9 Uji Waktu Perdarahan	22
3.10 Prosedur Penelitian	22
3.11 Analisis Data	23
3.12 Masalah Etika.....	23
3.13 Alur Penelitian	23
BAB I V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Hasil Uji FT-IR pada Florotanin.....	26
4.2 Hasil Uji Efektifitas Antiperdarahan Florotanin	26
4.3 Analisis Data	27

4.3.1 Intraclass Correlation Coefficient.....	28
4.3.2 Analisis Perbandingan	28
4.4 Pembahasan	30
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
DAFTAR LAMPIRAN	37
<i>CURRICULUM VITAE</i>	61

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
Tabel 1	Klasifikasi tanin ke dalam tiga kelompok besar	8
Tabel 2	Karakteristik grup fungsional berdasarkan puncak gelombang	26
Tabel 3	Distribusi rerata dan standar deviasi waktu perdarahan pada setiap kelompok penelitian	27
Tabel 4	ICC Observer Waktu Efek Antiperdarahan Alga Cokelat <i>Sargassum Binderi</i>	28
Tabel 5	Perbandingan Hasil Waktu Efek Antiperdarahan Alga Cokelat <i>Sargassum binderi</i> dari Sudut Pandang Observer dan Inter Observer	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
Gambar	1 <i>Sargassum Sp.</i>	5
Gambar	2 <i>Sargassum binderi</i> dari perairan pesisir Pantai Desa Punaga	6
Gambar	3 <i>Sargassum binderi</i> Sonder	6
Gambar	4 Struktur florotanin	9
Gambar	5 Hemostasis yang dimediasi oleh platelet	11
Gambar	6 Adesi dan Agregasi Platelet	12
Gambar	7 Kerangka Teori	14
Gambar	8 Kerangka Konsep	15
Gambar	9 Alur penelitian	24
Gambar	10 Spektum uji FT-IR ekstrak florotanin <i>Sargassum binderi</i>	25
Gambar	11 Rata-rata waktu henti perdarahan	29

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.	Analisis Data Menggunakan SPSS 27	41
Lampiran 6.	a. Pengambilan sampel <i>Sargassum binderi</i> bersama tim peneliti di Pulau Punaga, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan	52
	b. Pengeringan sampel pada <i>oven Herbs Dryer</i> di Laboratorium Biofarmaka Farmasi Unhas	52
	c. Sampel yang telah dikeringkan	53
	d. Pencacahan simplisia sampel alga cokelat	53
	e. Proses Pencampuran dengan Pelarut Etanol 70%	54
	f. Proses Pencampuran dengan <i>Magnetic Stirrer</i>	54
	g. Filtrat Hasil Ekstraks	55
	h. Proses Filtrasi dengan Kertas Saring	55
	i. Proses Rotary Evaporator dan Hasilnya	56
	j. Proses Sentrifugasi	56
	k. Pemisahan Fraksi Etil Asetat dan Etanol dengan Corong Pisah	57
	l. Proses Rotary Evaporator Fraksi Etil Asetat dan Hasilnya	58
	m. Proses <i>freeze-dryer</i>	58
	n. Adaptasi Hewan Uji di Laboratorium	59
	o. Pembuatan Bahan Uji	59
	p. Bahan uji florotanin dibagi menjadi 2.5%, 5% dan 7.5%	60
	q. Aplikasi bahan uji	60

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.
b/v	Berat/volume.
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 ₂ , dari asam arakidonat, sebagai respon dari mediator pro-inflamasi
Defekasi	Pembuangan kotoran; pembuangan tinja dari rektum.
Diversity	keberagaman dari banyak latar belakang
DIC	Disseminated Intravascular Coagulation
Eukariotik	Sel yang memiliki membrane inti
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 vivo</i>	Eksperimen yang menggunakan keseluruhan 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
TXA ₂	Tromboxane A ₂

Tannin	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 merupakan negara yang kaya akan sumber daya alam dan memiliki wilayah laut yang sangat luas. Sekitar 78% dari wilayah Indonesia merupakan laut, dan negara ini juga merupakan negara kepulauan dengan wilayah pemanfaatan rumput laut yang luas (11.109 km²). Beberapa studi menunjukkan bahwa tumbuhan laut seperti alga memiliki komponen-komponen bioaktif yang memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan atau agen terapeutik (Ruslin *et al.*, 2018).

Indonesia memiliki sekitar 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut di seluruh dunia berdasarkan ekspedisi Laut Sibolga oleh Van Bosse pada tahun 1899-1900. Sebagai wilayah tropis, perairan Indonesia memiliki sekitar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut dunia. Kelas alga merah (Rhodophyceae) merupakan yang paling beragam dengan sekitar 452 jenis di perairan Indonesia, diikuti oleh 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 *et al.*, 2017).

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 (Asmawati *et al.*, 2016). Penelitian senyawa tannin dari alga tanin ternyata memiliki aktifitas antiperdarahan dan meningkatkan egresi trombosit pada *Padina Sp* (Fauzi *et al.*, 2018).

Algae cokelat *Sargassum Sp.* dapat ditemukan dengan mudah dan melimpah di perairan Selat Makassar Sulawesi Selatan. Alga cokelat jenis ini tumbuh liar dan kadang menjadi hama bagi alga yang lain. Saat ini masyarakat belum membudidayakan, karena disamping permintaan pasar yang masih kurang, teknik pengolahan dan manfaat belum diketahui masyarakat. *Sargassum Sp.* memiliki nilai ekonomis dan berpotensi untuk dijadikan bahan dasar obat dalam bidang kedokteran gigi. Alga cokelat 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 cokelat sebagai florotanin . Tanin adalah zat yang diekstrak dari polifenol tumbuhan alga yang dapat mengontrol perdarahan. 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.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis bermaksud untuk melakukan penelitian mengenai senyawa florotanin yang berperan dalam proses antiperdarahan sehingga dapat dikembangkan menjadi bahan yang memiliki efek terapeutik yang bernilai ekonomis dan dapat digunakan masyarakat secara luas.

1.2 Rumusan Masalah

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

- Apakah ada efek antiperdarahan alga cokelat *Sargassum binderi* terhadap luka potong ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*)?
- Apakah ada perbedaan signifikan efek anti perdarahan antara Uji florotanin pada *Sargassum binderi* dengan kontrol positif (feracrylum 1 %)?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas antiperdarahan senyawa bioaktif florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* yang diambil dari perairan Selat Makassar.

1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui Efektivitas senyawa florotanin pada ekstrak alga cokelat *Sargassum binderi* sebagai agen antiperdarahan pada potong ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*).

- Untuk mengetahui pengaruh dosis ekstrak florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi*, sebagai antiperdarahan pada hewan uji tikus jantan (*Rattus norvegicus*)
- Untuk menghasilkan formula antiperdarahan dengan bahan dasar senyawa bioaktif alga cokelat *Sargassum binderi* dari perairan Selat Makassar yang dapat dimanfaatkan dalam tata laksana bidang kedokteran gigi

1.3.3 Tujuan Jangka Panjang

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

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Pengembangan Ilmu

- Memberikan dan menambah pengetahuan ilmiah tentang pemanfaatan tumbuhan alga cokelat *Sargassum binderi* di bidang medis khususnya untuk penggunaan sebagai antiperdarahan.
- Menjadi bahan pertimbangan dalam penyusunan penelitian pemanfaatan bahan aktif

lain pada tumbuhan alga cokelat.

- c. Menjadi salah satu acuan yang bisa digunakan untuk memperkaya ilmu pengetahuan pada umumnya dan dibidang kedokteran gigi bedah mulut dan maksilofasial pada khususnya.

1.4.2 Manfaat penelitian

- a. Untuk memberdayakan masyarakat petani rumput laut dengan pembudidayaan alga cokelat *Sargassum binderi*
- b. Meningkatkan nilai tambah alga cokelat Indonesia utamanya jenis *Sargassum binderi* asal Selat Makassar untuk menjadi salah satu bahan baku pembuatan obat kumur dalam bidang kedokteran gigi.
- c. Menghasilkan hak paten (HKI) obat kumur dalam bidang kedokteran gigi yang berbahan dasar lokal yakni alga cokelat jenis *Sargassum binderi* dari Perairan Selat Makassar.
- d. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan data atau informasi tambahan terhadap kemajuan penelitian alga cokelat di Indonesi

1.5 Tinjauan Teori

1.5.1 Makroalga

Indonesia merupakan negara yang mempunyai wilayah laut yang sangat luas, dan sekitar dua pertiga luas wilayahnya negara terdiri dari lautan. Alga merupakan salah satu sumber daya hayati yang melimpah di perairan Indonesia, yaitu sekitar 8,6% dari total biota yang ada di laut. Alga cokelat merupakan salah satu sumber daya alam laut yang sangat melimpah dan umumnya digunakan sebagai bahan baku industri pangan, kosmetika, dan obat-obatan (Tajrin *et al.*, 2020).

Alga merupakan salah satu tumbuhan laut yang tergolong dalam makroalga benthic yang banyak hidup melekat di dasar perairan (Morais *et al.*, 2021). 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 cokelat (*Phaeophyta*), dan alga pirang (*Chrysophyta*). Alga telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sumber makanan dengan mengkonsumsinya secara langsung, dan diproses menjadi berbagai pangan olahan. Dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan sumberdaya hayati laut yang sangat potensial untuk dikembangkan karena memiliki nilai ekonomis tinggi adalah alga laut, yang juga dikenal dimasyarakat dengan nama rumput laut (*seaweed*) (Morais *et al.*, 2021).

Pemanfaatan alga telah lama dilakukan 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. Alga 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 (Salehi, Sharifi-Rad, *et al.*, 2019).

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 (Wariz, Asfar and Fauzi, 2016; Øverland, Mydland and Skrede, 2019; Salehi, Sharifi-Rad, *et al.*, 2019).

Makroalga merupakan 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 (Øverland, Mydland and Skrede, 2019), (Ruslin *et al.*, 2018). Bahkan 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 (Pakidi *et al.*, 2017).

Makroalga atau rumput laut merupakan organisme fotoautotrofik multiseluler yang selain menjadi produsen utama juga berperan penting dalam penataan dan pemeliharaan ekosistem laut, selain menyediakan tempat perlindungan bagi berbagai spesies laut. Sedangkan mikroalga adalah organisme mikroskopis fotosintetik (prokariotik atau eukariotik) yang tumbuh di berbagai habitat perairan, termasuk kolam, sungai, danau, lautan, air limbah, dan bahkan tanah yang lembab. Mikroalga adalah sumber daya hayati yang bernilai ekonomis, terbarukan dan berkelanjutan yang dimanfaatkan di berbagai bidang (Pakidi *et al.*, 2017), (Saraswati *et al.*, 2019; Rachidi *et al.*, 2020).

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 (Øverland, Mydland and Skrede, 2019). Alga cokelat, khususnya *Sargassum Sp.*, telah diketahui memiliki banyak manfaat di bidang kesehatan. *Sargassum Sp.* merupakan rumput laut yang termasuk dalam kelas *Phaeophyceae* dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae* (Pakidi *et al.*, 2017).

Di 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. *Sargassum* merupakan tumbuhan 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 uji tikus obesitas. 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 (Salehi, Sharifi-Rad, *et al.*, 2019; Saraswati *et al.*, 2019; Fraga-Corral *et al.*, 2021).

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. histrix*, *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)



Gambar 1. *Sargassum Sp.*
Sumber. Dokumentasi pribadi, tahun 2022

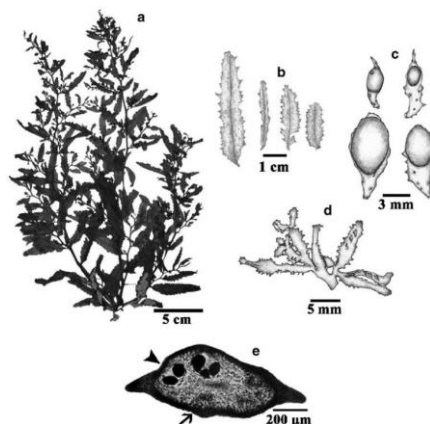
1.6.1 Identifikasi *Sargassum*

Sargassum sangat terdiferensiasi dengan variasi fenotipe berdasarkan faktor lingkungan dan kondisi lokal Menurut Wong *et al.* (2004), terdapat lebih dari 400 spesies *Sargassum*, yang dideskripsikan menggunakan karakter morfologi (Wong, Gan and Phang, 2004). Sampel yang diambil dari perairan Pantai Punaga, Kabupaten Takalar kemudian diidentifikasi sebagai *Sargassum binderi* Mattio L, *et al.* (2013) menyebutkan bahwa tipe lokal *Sargassum binderi* di Indonesia adalah *S. binderi* Sonder ex. J. Agardh (Mattio *et al.*, 2013).



Gambar 2. *Sargassum binderi* dari perairan pesisir Pantai Desa Punaga, Kabupaten Takalar.
Sumber: Dokumentasi pribadi, tahun 2022

Melalui penelitian oleh (Noiraksar and Ajisaka, 2014) di perairan teluk Thailand yang mendeskripsikan karakteristik *Sargassum binderi* Sonder, yaitu memiliki *holdfast* diskoid diameter hingga 12 mm. Batang terete diameter sampai 3 mm, panjang 1 cm, menghasilkan 6-8 cabang primer tersusun spiral. Cabang-cabang primer, halus, panjangnya mencapai 46 cm dan lebar 5 mm. Daun besar, berbentuk lanset, sederhana, dengan dasar asimetris, panjang hingga 77 mm dan lebar 16mm, dengan apeks membulat hingga agak lancip, pada tepi terdapat gigi kecil, dan cryptostomata kecil tersebar pada daun. Cabang sekunder tersusun rapi, agak padat, panjangnya mencapai 40cm dan interval percabangan sekitar 3.8cm. Daun lanset hinggalinier, panjang hingga 64mm dan lebar 15mm, tepi bergerigi, pelepah menghilang di dekat apeks, cryptostomata kecil tersebar (Gambar. 3b). Vesikel berbentuk bulat hingga elips, panjangnya mencapai 10 mm, lebar hingga 6mm dan tebal 5 mm, tangkai rata (Gambar. 3c). Tumbuhan berumah satu (*monoecious*), dengan reseptakel berkelamin dua, berbentuk pipih, panjang hingga 18 mm dan lebar 2 mm, tepi bergerigi, tersusun berjajar (Gambar. 3 d,e) (Noiraksar and Ajisaka, 2014).



Gambar 3. *Sargassum binderi* Sonder. a. Thalusi; b. Daun; c. Vesikel; d. Reseptakel androgini, e. Potongan melintang konseptakel jantan (panah) dan konseptakel betina (kepala panah). Sumber: (Noiraksar and Ajisaka, 2014).

1.6.2 Senyawa Bioaktif *Sargassum*

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 Sp.* meliputi florotanin, terpenoid, chromene, derivat tetraprenyltoluquinol, fukosantin, fukoidan, alginat, asam fenolat, katekin, kuersetin, fukosterol, stigmasterol, β - sitosterol, feofitin A, dan sulfoquinovosyldiacylglycerol. Florotanin, fukosantin, fukoidan, alginat, fukosterol, meroditerpenoid dan gentisic acid adalah senyawa bioaktif dominan dalam *Sargassum binderi* Meroditerpenoid merupakan senyawa bioaktif khas dalam *Sargassum binderi*, yang tidak diproduksi oleh genus rumput laut lainnya (Rohim *et al.*, 2019).

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 (Panche, Diwan and Chandra, 2016; Pakidi *et al.*, 2017; Salehi, Sharifi-Rad, *et al.*, 2019).

1.7 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).

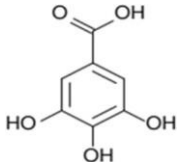
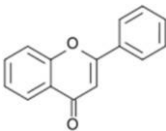
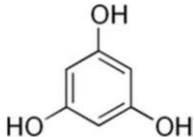
Istilah "tanin" digunakan secara luas pada senyawa polifenol besar yang mengandung hidroksil dan gugus lain yang sesuai (seperti karboksil) untuk membentuk kompleks yang kuat dengan berbagai makromolekul. Tanin adalah senyawa fenolik yang tersusun dari kelompok oligomer dan polimer yang sangat beragam 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 coklat muda seperti bubuk, serpihan atau spons. Tanin ditemukan hampir di semua tumbuhan dan di semua iklim di seluruh dunia (Bule *et al.*, 2020).

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, pada tabel 1 pembagiannya berdasarkan struktur kimia unit fungsionalnya yaitu: (Øverland, Mydland and Skrede, 2019), (Fraga-Corral *et al.*, 2021), (Bule *et al.*, 2020), (Li *et al.*, 2017)

- a. Tanin terhidrolisis yang dikategorikan menjadi gallotannin dan ellagitannin, merupakan jenis tanin yang paling sederhana di antara tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis ditemukan di polong biji, kulit kayu, kayu, daun, buah-buahan, dan sebagainya.
- b. Tanin terkondensasi (non- hidrolisis) juga dikenal sebagai proanthocyanidin, lebih kompleks dan oleh karena itu belum 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-trihidrobzena), banyak ditemukan pada alga cokelat genus *Ascophyllum*, *Fucus*, dan *Sargassum*.

Tabel 1. Klasifikasi tanin ke dalam tiga kelompok besar. Tanin kondensasi, tanin hidrolisis dan Florotanin.

			
Unit	Asam Galat	Flavon	Floroglukinol
Klas/ Polimer	Tanin terhidrolisis	Tanin terkondensasi	Florotanin
Sumber	Tumbuhan	Tumbuhan	Alga cokelat

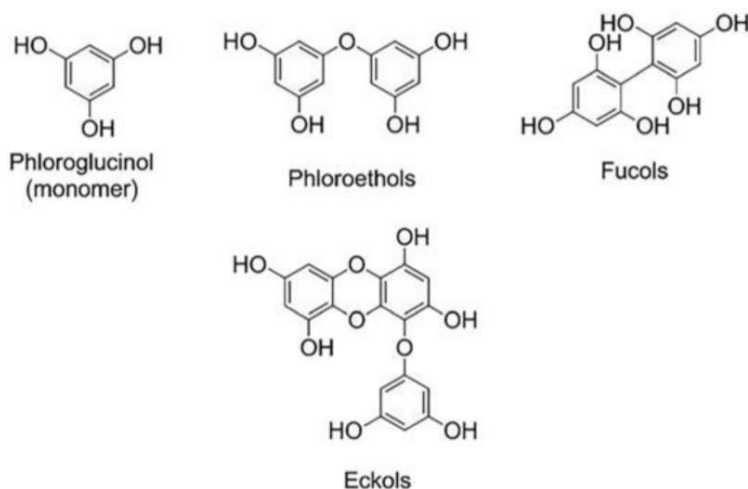
Sumber: Ford L, Theodoridou K, Sheldrake GN, Walsh PJ. A critical review of analytical methods used for the chemical characterisation and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. *Phytochemical Analysis*. 2019;30(6):587-599.(Ford *et al.*, 2019)

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. Florotanin adalah struktur polimer dari monomer floriglucinol (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 4) sedangkan floreoethol secara khusus memiliki ikatan eter melalui oksigen fenolik. Klasifikasi florotanin dibagi berdasarkan ikatan antar unit floriglucinol, 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 floriglucinol 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. 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 an 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 *et al.* melaporkan kandungan florotanin pada beberapa famili *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 4. Struktur florotanin

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)

1.8 Hemostasis

Hemostasis merupakan suatu mekanisme lokal tubuh yang terjadi secara spontan berfungsi untuk mencegah kehilangan darah yang berlebihan ketika terjadi trauma atau luka. Sistem hemostasis pada dasarnya terbentuk dari tiga kompartemen hemostasis yang sangat penting dan sangat berkaitan yaitu trombosit, protein darah, dan jaring-jaring fibrin pembuluh darah (McCormick, Moore and Meechan, 2014; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017) .

Faal hemostasis ialah suatu fungsi tubuh yang bertujuan untuk mempertahankan keenceran darah sehingga darah tetap mengalir dalam pembuluh darah dan menutup kerusakan dinding pembuluh darah sehingga mengurangi kehilangan darah pada saat terjadinya kerusakan pembuluh darah. Faal hemostasis melibatkan empat sistem, antara lain sistem vaskuler, sistem trombosit, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis. Untuk mendapatkan faal hemostasis yang baik, maka keempat sistem tersebut harus bekerja sama dalam suatu proses yang berkeseimbangan dan saling mengontrol. Kelebihan atau kekurangan suatu komponen akan menyebabkan kelainan. Kelebihan fungsi hemostasis akan menyebabkan thrombosis, sedangkan kekurangan faal hemostasis akan menyebabkan perdarahan (*hemorrhagic diathesis*) faal hemostatik untuk dapat berjalan normal memerlukan tiga langkah yaitu (Smith, Travers and Morrissey, 2016; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017; Verheugt, 2019; Marcińczyk *et al.*, 2022):

Langkah I: Hemostasis primer, yaitu pembentukan "*primary platelet plug*". Hal ini akan terjadi jika terdapat deskuamasi dan luka kecil pada pembuluh darah. Hemostasis primer melibatkan tunika intima pembuluh darah dan trombosit. Luka akan

menginduksi terjadinya vasokonstriksi dan sumbat trombosit. Hemostasis primer ini bersifat cepat dan tidak tahan lama. Karena itu, jika hemostasis primer belum cukup untuk mengkompensasi luka, maka akan berlanjut menuju hemostasis sekunder. Pemeriksaan faal hemostasis untuk melihat proses ini adalah dengan pemeriksaan *bleeding time*.

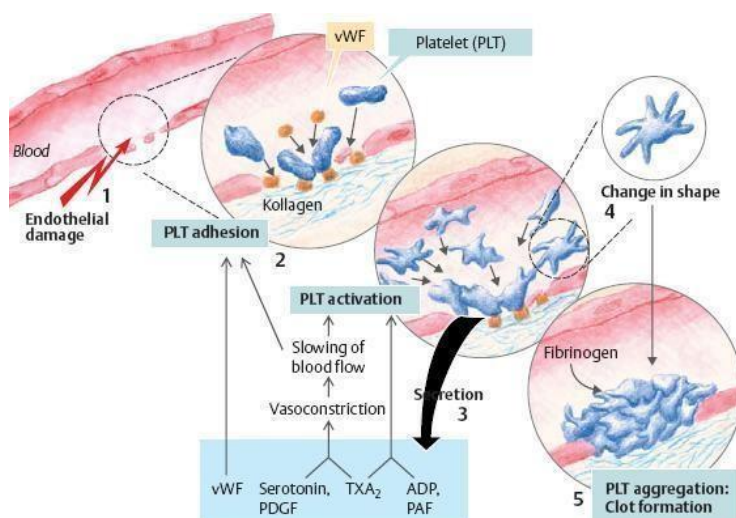
Langkah II: Hemostasis sekunder, yaitu pembentukan *stable hemostatic plug* (*platelet +fibrin plug*). Hemostasis ini terjadi bila terdapat luka yang besar pada pembuluh darah atau jaringan lain, sehingga vasokonstriksi dan sumbat trombosit belum cukup untuk mengkompensasi luka ini. Hemostasis sekunder melibatkan trombosit dan faktor koagulasi serta mencakup pembentukan jaring-jaring fibrin. Hemostasis sekunder ini bersifat *delayed and long-term response*. Jika proses ini sudah cukup untuk menutup luka, maka proses berlanjut ke hemostasis tersier. Pemeriksaan faal hemostasis untuk melihat proses ini adalah dengan pemeriksaan *clotting time*.

Langkah III: Hemostasis tersier, bertujuan untuk mengontrol agar aktivitas koagulasi tidak berlebihan. Hemostasis tersier melibatkan sistem fibrinolisis. Fibrinolisis yang menyebabkan lisis dari fibrin setelah dinding vaskuler mengalami reparasi sempurna sehingga pembuluh darah kembali paten.

1.8.1 Etiologi Pembekuan Darah

Pada saat terjadi perdarahan, secara alami tubuh akan merespon dengan mekanisme hemostatik 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 *thrombosis* dan *emboli*. Pada saat terjadi trauma, platelet, faktor pembekuan darah dalam plasma, dan dinding pembuluh darah berinteraksi untuk menutup kebocoran pada pembuluh darah (Gale, 2011; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017).

Pembuluh darah yang rusak akan berkonstriksi melepaskan endotelin dan platelet akan beragregasi pada situs luka dan menarik platelet lain untuk menutup bocoran dengan sumbatan platelet. Waktu yang diperlukan untuk menutup luka tersebut disebut waktu perdarahan yang berkisar pada 2-4 menit. Selanjutnya, sistem koagulasi akan memproduksi fibrin yang saling berikatan silang yang membentuk bekuan fibrin atau trombus yang memperkuat proses penutupan luka (McCormick, Moore and Meechan, 2014). Proses rekanalisasi pembuluh darah dapat dilakukan melalui fibrinolisis. Pada saat terjadi trauma pada sel endotelial, platelet merupakan sel darah yang melekat pada serat kolagen subendotelial yang dijembatani oleh *Von Willebrand Factor* (VWF) yang dibentuk oleh sel endotelial dan bersirkulasi dalam kompleks plasma dengan factor VIII. Kompleks glycoprotein GP Ib/ IX pada platelet merupakan reseptor VWF (Gambar 5) (Gale, 2011).

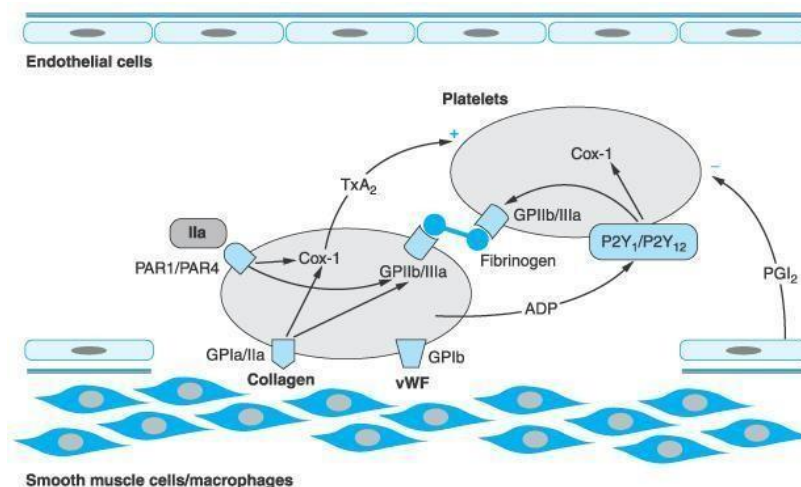


Gambar 5. Hemostasis yang dimediasi oleh platelet

Sumber: Despopoulos, A dan Silbernagl, S. 2023 Collor Atlas of Physiology. 5th Edition. New York: Stuttgart (Silbernagl and Despopoulos, 2008).

Proses adesi akan mengaktifasi pletelet dan mulai melepaskan senyawa yang meningkatkan daya adesi pletelet. Serotonin, platelet derived growth factor (PDGF) dan tromboxane A₂ (TXA₂) meningkatkan vasokonstriksi. Vasokonstriksi dan kontraksi pletelet akan memperlambat aliran darah. Mediator yang dilepaskan oleh pletelet meningkatkan aktivasi pletelet sehingga menarik dan mengaktifasi lebih banyak pletelet, hal ini menyebabkan bentuk dari pletelet teraktifasi berubah drastis (Gale, 2011; Periyah MH, Halim AS and Saad AZM, 2017).

Platelet diskoid berubah menjadi sferik dan menghasilkan pseudopodia yang saling terjalin antar platelet. Agregasi platelet ini ditingkatkan oleh trombin (IIA) yang berikatan dengan reseptor yang diaktifasi oleh protease (PAR 1 dan PAR 4) dan distabilisasi oleh GP IIb/IIIa yang diekspresikan pada permukaan platelet, yang mengarah pada ikatan fibrinogen dan agregasi platelet. Reseptor P2Y₁ dan P2Y₁₂ merupakan reseptor untuk ADP dan ketika terstimulasi akan mengaktifasi GP IIb/IIIa dan COX 1 yang meningkatkan sekresi dan daya adesi platelet sehingga memudahkan untuk berikatan dengan fibronectin subendotelial. Platelet diskoid berubah menjadi sferik dan menghasilkan pseudopodia yang saling terjalin antar platelet. Agregasi platelet ini ditingkatkan oleh trombin (IIA) yang berikatan dengan reseptor yang diaktifasi oleh protease (PAR 1 dan PAR 4) dan distabilisasi oleh GP IIb/IIIa yang diekspresikan pada permukaan platelet, yang mengarah pada ikatan fibrinogen dan agregasi platelet. Reseptor P2Y₁ dan P2Y₁₂ merupakan reseptor untuk ADP dan ketika terstimulasi akan mengaktifasi GP IIb/IIIa dan COX 1 yang meningkatkan sekresi dan daya adesi platelet sehingga memudahkan untuk berikatan dengan fibronectin subendotelial. Tromboksan A₂ (TXA₂) merupakan produk dari COX 1 yang mengaktifasi agregasi platelet sedangkan PGI₂ atau prostasiklin dihasilkan oleh sel endotelial untuk menghambat aktivasi agregasi platelet (Brunton, Lazo and Parker, 2006).



Gambar 6 . Adesi dan Agregasi Platelet

Sumber: Brunton, L.L 2006. The Pharmacological Basis Therapeutics. 11th Edition New York: Mc Grew Hill (Brunton, Lazo and Parker, 2006).

1.8.2 Pemeriksaan Faal Hemostatis

a. Waktu Perdarahan

Waktu saat mulai terjadinya perdarahan hingga terbentuk sumbat trombosit dan vasokonstriksi pembuluh darah sehingga darah berhenti mengalir, disebut sebagai waktu perdarahan (*bleeding time*). Waktu perdarahan normal pada manusia sekitar 2 sampai 7 menit. Pengukuran waktu perdarahan untuk mengetahui respon vaskuler terhadap hemostasis atau kemampuan pembuluh darah untuk kontraksi dan retraksi serta peran sumbatan fibrin pada daerah luka.

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 hemostatik (Verheugt, 2019). Pemeriksaan *bleeding time* dapat dilakukan dengan metode Ivy, yaitu dilakukan insisi dengan lanset sepanjang 10 mm dan kedalaman 1 mm di lengan bawah kemudian setiap 30 detik darah dihapus dengan kertas filter sampai perdarahan berhenti atau dengan metode Duke dengan cara yang sama insisi di lokasi cuping telinga sedalam 3-4 mm atau pemotongan 3 mm dari ekor tikus (Sogut *et al.*, 2015).

Menurut Gillespie, *bleeding time* memanjang pada gangguan fungsi trombosit atau jumlah trombosit dibawah $100.000/\text{mm}^3$. Pemanjangan *bleeding time* menunjukkan adanya defek hemostasis, termasuk didalamnya trombositopenia, gangguan fungsi trombosit hereditas, 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, *beta-blockers*, alkohol, antibiotika) dan hipofibrinogenemia (Gillespie *et al.*, 2018).

b. Waktu Pembekuan

Waktu pembekuan (*Clotting time*) digunakan untuk menilai faktor-faktor pembekuan darah, khususnya faktor pembentuk tromboplastin dan faktor trombosit, serta kadar fibrinogen. Metode yang paling sering digunakan yaitu dengan cara menempatkan darah dalam tabung gelas reaksi, kemudian menggoyangkan atau memiringkan tabung tersebut setiap 10 detik sampai terbentuk bekuan atau dapat pula menggunakan pipa kapiler yang dipatahkan untuk melihat terbentuknya benang- benang fibrin pada proses pembekuan darah (Epstein, 2015). Waktu pembekuan normal pada hewan uji tergantung dari jenis hewan uji yang dipakai dan besar volume darah yang digunakan dalam pemeriksaan (Smith, Travers and Morrissey, 2016).

1.8.3 Florotanin dan hemostasis

Florotanin adalah kelompok senyawa polifenol yang ditemukan dalam alga cokelat, khususnya dalam genus *Sargassum sp.* (Shrestha, Zhang and Smid, 2021). Senyawa ini merupakan metabolit sekunder yang disintesis oleh alga cokelat sebagai respons terhadap kondisi lingkungan dan ancaman seperti sinar Ultraviolet, patogen, atau herbivora. Florotanin memiliki potensi farmakologis yang luas, termasuk sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antimikroba, dan dalam konteks ini diyakini perannya dalam hemostasis atau penghentian perdarahan (Gheda *et al.*, 2021). Florotanin sebagai senyawa bioaktif, diyakini mempengaruhi beberapa mekanisme hemostasis melalui beberapa cara (Zheng, Zhao and Guo, 2022):

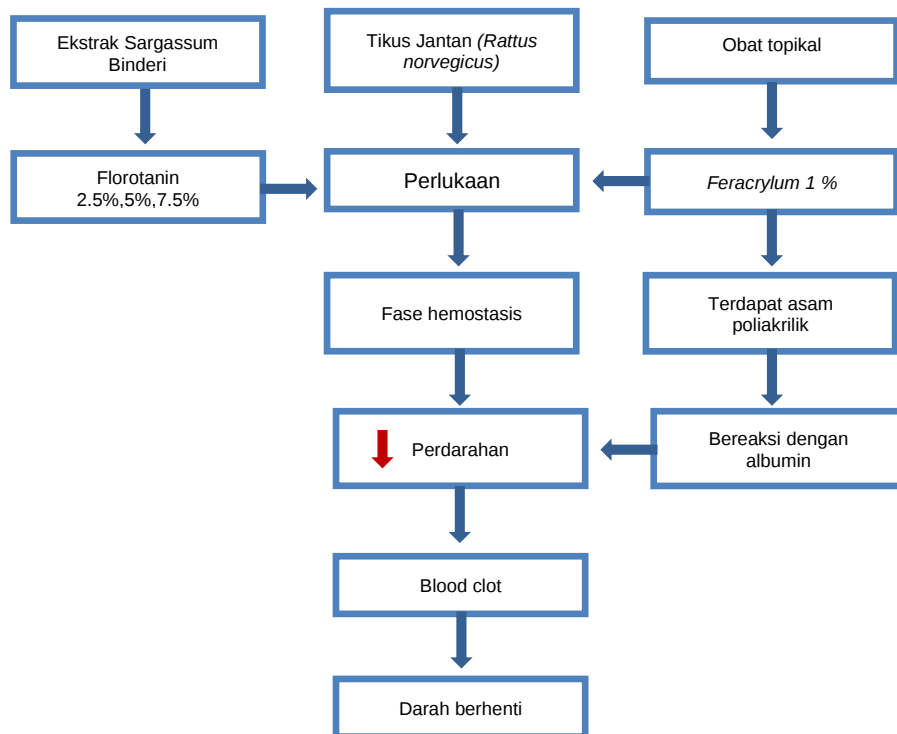
- a. Efek Pro-Koagulan: florotanin memiliki kemampuan untuk meningkatkan agregasi trombosit. Agregasi trombosit adalah langkah penting dalam pembentukan sumbat hemostatik primer. Phlorotannin dapat berinteraksi dengan reseptor pada trombosit dan memfasilitasi proses agregasi ini, yang merupakan langkah awal dalam menghentikan perdarahan.
- b. Penghambatan Enzim Proteolitik: Hemostasis juga dipengaruhi oleh aktivitas proteolitik yang menguraikan faktor-faktor pembekuan darah. florotanin telah terbukti dapat menghambat enzim-enzim tertentu, seperti metalloproteinase, yang berperan dalam penguraian protein matriks ekstraseluler. Dengan menghambat enzim ini, florotanin membantu menjaga integritas jaringan dan mencegah perdarahan berlebihan.
- c. Sifat Antioksidan: Aktivitas antioksidan dari florotanin juga membantu melindungi sel-sel dan jaringan dari kerusakan oksidatif yang dapat memperburuk perdarahan atau memperpanjang proses penyembuhan. Sifat antioksidan ini juga berperan penting dalam mengurangi inflamasi, yang sering kali terkait dengan cedera jaringan dan perdarahan.

BAB II

KERANGKA TEORI DAN KONSEP

2.1 Kerangka Teori

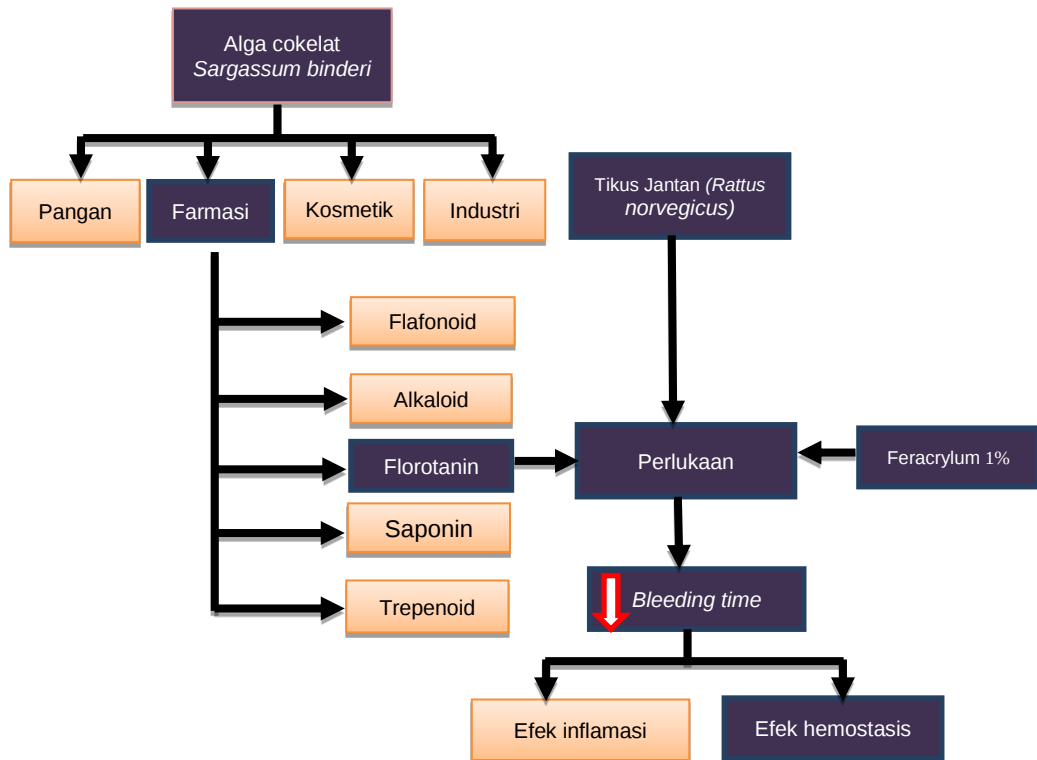
Sebagai tumbuhan perairan alga cokelat *Sargassum binderi* merupakan tumbuhan yang hidup disekitar perairan pantai. Kualitas dan kuantitas senyawa bioaktif yang terkandung pada alga cokelat *Sargassum binderi* sangat dipengaruhi oleh beberapa parameter berupa kondisi fisika laut (suhu, intensitas cahaya, arus), kimia laut (oksigen terlarut, pH, salinitas) dan fisiologi (usia dan varian) dari tumbuhan itu sendiri. Ekstrak florotanin dari alga cokelat *Sargassum binderi* Kemudian digunakan sebagai bahan topikal pada percobaan hitung waktu perdarahan pada potong ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*). Pengamatan kemudian dilakukan untuk mengetahui efek antiperdarahan yang terjadi pasca pemberian bahan uji. Pengamatan dilakukan oleh tiga orang dalam waktu yang bersamaan setelah dilakukan perlakuan pada hewan.



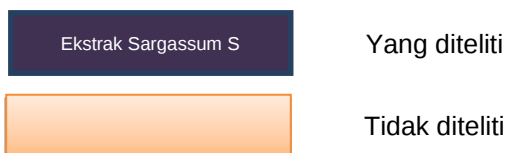
Gambar 7. Kerangka Teori

2.2 Kerangka Konsep

Alga coklat *Sargassum binderi* selama ini telah diketahui memiliki banyak manfaat dan luas digunakan sebagai bahan pangan, di bidang farmasi, kosmetik dan industri secara umum. Penelitian ini memfokuskan tujuan terutama pada bidang farmasi, melalui uji efektifitas antiperdarahan bahan bioaktif florotanin pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) untuk melihat efektifitas senyawa florotanin sebagai agen antiperdarahan dibandingkan dengan bahan pengujian lainnya.



Keterangan:



Gambar 8. Kerangka Konsep

2.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

- a. Terjadi penurunan waktu perdarahan yang signifikan pasca pemberian ekstrak florotanin dengan konsentrasi 7.5%, 5% dan 2.5% pada luka potong ekor tikus jantan (*Rattus norvegicus*)
- b. Tidak terdapat perbedaan signifikan pada efektivitas antiperdarahan antara florotanin dan Feracrylum 1%. pada luka potong ekor tikus Jantan (*Rattus norvegicus*).

2.4 Teknik dan Besar Sampel dalam Penelitian

Penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling* untuk pengambilan sampel dan *simple random* untuk pengelompokan hewan uji. Besar sampel penelitian yang digunakan dihitung menggunakan rumus Federer. Rumus Federer digunakan untuk menentukan jumlah pengulangan atau jumlah sampel/hewan uji agar data yang diperoleh valid. Rumus Federer adalah sebagai berikut:

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:

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

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 15+4$$

$$4n \geq 19$$

$$n = 4.75; n \approx 5$$

Dari perhitungan rumus Federer didapatkan jumlah 5 tikus jantan (*Rattus norvegicus*) 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

- a. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*).
- b. Tidak memiliki cacat fisik.
- c. Berat badan 150-200 gram.
- d. Umur sekitar 3-4 bulan.
- e. Sampel *Sargassum binderi* yang diambil merupakan sampel segar dan masih melekat pada substrat tempat tumbuh.

2.5.2 Kriteria Eksklusi

- a. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) sakit saat penelitian.
- b. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) mati saat penelitian.
- c. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) stress atau tidak mau makan saat penelitian.
- d. Tikus jantan (*Rattus norvegicus*) tidak dapat beradaptasi dengan lingkungan penelitian.