

Aktivitas Anti Agregasi Platelet dan Aktivitas Antitrombosis Ekstrak Etanol Daun Cinco (*Cyclea barbata* Miers.)

(Anti Aggregation and Anti Thrombotic Activity of Ethanol Extract Cinco Leaves (*Cyclea barbata* Miers.))

MARISSA ANGELINA^{1*}, SRI HARTATI¹, INDAH DEWI¹, LIA MEILAWATI¹,
IMACULATA IWO²

¹Research Center for Chemistry Indonesia Institute Of Sciences (LIPI) Serpong
²School of pharmacy Institutes of Technology Bandung

Diterima 17 Maret 2011, Disetujui 6 Desember 2011

Abstrak: Dilakukan penelitian aktivitas anti agregasi platelet dan anti trombosis ekstrak etanol daun Cinco (*Cyclea barbata* Miers.) (Cb) secara *in vivo* pada mencit. Latar belakang dari penelitian ini karena telah dilaporkan sebelumnya bahwa Cinco mempunyai aktivitas anti agregasi secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek inhibisi ekstrak etanol daun Cb terhadap agregasi platelet serta aktivitas anti trombosis, dan juga memperpanjang waktu pendarahan dan waktu koagulasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun Cb secara signifikan dapat menghambat agregasi platelet, memperpanjang waktu pendarahan, memperpanjang waktu koagulasi, dan menghambat pembentukan trombus secara akut. Selain itu ekstrak etanol daun Cb juga memberikan perlindungan pada trombus secara signifikan dengan efek menyeluruh yang tergantung pada dosis. Semua pengukuran diatas dianalisa kebermaknaannya dengan menggunakan program ANOVA Satu Arah. Ekstrak etanol daun Cb dengan dosis rendah (150 mg/kg) memperlihatkan perpanjangan waktu pendarahan yang signifikan pada ekor mencit dibandingkan kontrol dengan efek tergantung pada dosis. Ekstrak etanol daun Cb secara signifikan memperpanjang waktu koagulasi dibandingkan terhadap kontrol dengan efek tergantung pada dosis. Ekstrak etanol daun Cb pada dosis 150 mg/kg bb dan 300 mg/kg BB signifikan menghambat agregasi dibandingkan dengan kontrol. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Cb mempunyai aktivitas anti agregasi platelet dan antitrombosis pada dosis 150 dan 300 mg/kg BB.

Kata kunci: *Cyclea barbata* Miers., anti agregasi, antitrombosis, waktu pendarahan, waktu koagulasi.

Abstract: The research about anti aggregation platelet and antithrombotic activity of ethanol extract of Cinco (*Cyclea barbata* Miers.) (Cb) leaves in mice has been conducted. The background of the research has been reported *in vitro* anti aggregation platelet and antithrombotic activity of Cb extract. The purpose of this research to know the effect of Cb extract in anti aggregation platelet, antithrombotic activity, prolonged the tail bleeding and coagulation time. The results of the present study indicate that the extract of Cb leaves significantly inhibit platelet aggregation in mice, prolonged tail bleeding time, coagulation time in mice, and thrombotic forming (acute). All of the above measurement have been analyzed significantly using One Way ANOVA programme. *Cyclea barbata* Miers. significantly prevented death due to thrombus protection whereas as in dose dependent manner. *Cyclea barbata* Miers. showed significant prolongation of the mice tail bleeding time compared to the control in low dose (150 mg/kg BW). *Cyclea barbata* Miers. significantly prolonged coagulation time compared to the control in dose dependent manner. The experiment on *in vivo* anti platelet aggregation showed that Cb (150 mg/kg BW and 300 mg/kg BW) could significantly inhibit aggregation which induced by ADP compared with control. The conclusion of this research is that the extract of Cb leaves has an anti aggregation platelet activity and antithrombotic activity in dose 150 mg/kg BW and 300 mg/kg BW.

Keywords: *Cyclea barbata* Miers., antiplatelet, antithrombotic, tail bleeding and coagulation time.

* Penulis korespondensi, Hp. 081385345964
e-mail: marissa_angelina@yahoo.com

PENDAHULUAN

PLATELET memainkan peranan penting pada pathogenesis dari pembentukan thrombus. Interaksi antara platelet dan dinding pembuluh darah berperan penting dalam perkembangan proses trombosis serta penyakit kardio-vaskular, misal: infark miokardium, stroke dan aterosklerosis⁽¹⁾.

Terjadinya kerusakan pembuluh darah, diawali dengan pembentukan agregasi platelet yang kemudian membentuk trombus pada arteri sehingga terjadi gangguan aliran darah. Trombus merupakan sumber terjadinya komplikasi tromboembolik yang menyebabkan aterosklerosis, serangan jantung, stroke⁽²⁾. Oleh karena itu pengobatan inhibisi terhadap fungsi platelet memberikan harapan terhadap pencegahan pembentukan trombus, aterosklerosis, serangan jantung, stroke, dan penyakit pada pembuluh darah⁽²⁾.

Beberapa obat anti platelet telah dievaluasi efeknya dalam mencegah muncul dan perkembangan trombosis. Aspirin merupakan salah satu obat yang digunakan dalam mencegah perkembangan trombosis. Mekanisme aspirin yaitu mencegah penggumpalnya (*clotting*) darah dengan menghambat produksi tromboxan A₂. Aspirin juga menghambat enzim siklooksigenase 1 (COX-1) yang memproduksi tromboxan A₂. Selain aspirin, ada golongan NSAIDs yang juga dapat menghambat COX-1, namun penggunaan aspirin mempunyai efek samping yaitu gangguan pada saluran gastrointestinal dan juga dapat menyebabkan pendarahan⁽³⁾.

Daun Cinco (*Cyclea barbata* Miens.) termasuk ke dalam famili *Menispermaceae*. Daun cinco di Indonesia banyak digunakan secara tradisional untuk pengobatan hipertensi, dan mempunyai aktivitas antioksidan⁽⁴⁾. Pada penelitian sebelumnya, diungkapkan daun Cinco mempunyai aktivitas anti agregasi platelet⁽⁵⁾.

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati lebih lanjut pengaruh ekstrak daun Cinco dalam aktivitas anti agregasi, antitrombosis pada hewan coba mencit.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. *Cyclea barbata* Miens. (Cb) diperoleh dari Kebun Raya Bogor (Bogor, Indonesia), asam asetil salisilat (Sigma), etanol (Merck), NaCl fisiologis, adenosin difosfat (Sigma), kolagen (Sigma), epinefrin (Sigma), CMC, aerosol, natrium sitrat (Merck), toluene, asam hidroklorat, dapar fosfat pH 7,4, dapar owren asam asetat, uretan.

Hewan Percobaan. Mencit jantan galur *Webster* (25-30 gram) diperoleh dari laboratorium hewan sekolah Farmasi ITB, diaklimatisasi selama 1 minggu pada suhu ruang.

METODE. Preparasi ekstrak tanaman. Bahan

kering sebanyak 2,5 kg diekstraksi dengan metode maserasi selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 80% pada temperatur ruang. Pelarut disaring serta dievaporasi sehingga diperoleh 456,8 g ekstrak etanol daun Cinco (*Cyclea barbata*, Miens.).

Uji aktivitas anti agregasi platelet. Efek anti agregasi platelet dilakukan dengan modifikasi metode Born (Metode Turbidi-metrik)⁽⁶⁾. Pengukuran turbiditas (kekeruhan) plasma setelah pembentukan platelet diinduksi dengan ADP yang dilarutkan dalam dapar Owren. Setelah 8 hari pemberian ekstrak Cb yang dilarutkan dengan CMC aquadest, dengan dosis berturut-turut 150, 300, dan 600 mg/bb manusia. Pada penelitian ini kontrol berupa CMC aquadest. Sedangkan pembanding yang digunakan adalah aspirin dengan dosis 50 mg/bb manusia. Darah dari hewan uji diambil dari vena orbital, kemudian ditaruh dalam wadah yang telah diisi dengan natrium sitrat 3,5 % b/v. Turbiditas plasma sebelum dan sesudah induksi dengan ADP diukur dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 600 nm dibandingkan dengan kontrol dan pembanding⁸. Data dianalisis secara statistik dengan metode *One-Way Anova*.

Aktivitas Antitrombosis. Efek antitrombosis diamati dari pembentukan trombus secara akut. Campuran epinefrin dan kolagen dengan perbandingan 1:1 digunakan untuk menginduksi pembentukan trombus yang diberikan secara injeksi melalui vena pada ekor mencit. Jumlah mencit yang mati dan paralisis dihitung sebagai manifestasi reaksi. Persentase proteksi dihitung dengan rumus sbb⁽⁶⁾:

$$[1 - (\text{kematian} + \text{paralisis}) / 6] \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek pada pendarahan pada ekor mencit. Tabel 1 menunjukkan efek ekstrak Cb terhadap waktu pendarahan yang dipelajari dengan menggunakan sistem pendarahan pada ekor mencit. Rata-rata pendarahan pada kelompok mencit kontrol 171,14±26,58 detik, ekstrak Cb dapat memperpanjang waktu pendarahan pada ekor mencit berturut-turut 248,60±47,65 detik (p < 0,01) dibandingkan dengan kontrol, 218,33±53,52 detik dibanding dengan kontrol (p < 0,1), 180,86±29,03 detik dibanding dengan kontrol (p > 0,1) pada dosis 150, 300 dan 600 mg/kg BB manusia berturut-turut. dengan aspirin sebagai pembanding

Efek pada waktu koagulasi. Efek ekstrak Cb pada waktu koagulasi dapat diamati pada Tabel 1. Rata-rata waktu koagulasi dari kelompok mencit kontrol, pada pemberian ekstrak Cb dapat memperpanjang waktu koagulasi dengan hasil rata-rata 179,00±32,31 detik, 215,29±13,02 detik, 216±37,47 detik berturut-turut

Tabel 1. Efek ekstrak daun *Cyclea barbata* ada waktu pendarahan dan waktu koagulasi plasma.

Sampel	Dosis (mg/bb manusia)	Waktu pendarahan (detik)	Waktu koagulasi (detik)
Kontrol	0	171,14±26,58	103,50±13,98
Ekstrak etanol	150	248,60±47,65 ^c	179,00±32,31 ^c
<i>Cyclea barbata</i>	300	218,33±53,52 ^a	215,29±13,02 ^c
	600	180,86±29,03	216±37,47
Aspirin	50	218,57±38,56 ^b	242,29±44,60 ^c

Uji statistik : a = p < 0,1; b = p < 0,05; c = p < 0,01 dibandingkan dengan kontrol .

Tabel 2. Efek ekstrak daun *Cyclea barbata* pada waktu agregasi.

Sampel	Dosis (mg/bb manusia)	% Agregasi platelet	% Inhibisi agregasi platelet	% Inhibisi agregasi platelet dibandingkan dengan kontrol
Kontrol	0	45,96±8,51	54,04±8,51	0
Ekstrak etanol	150	22,27±3,96	77,73±3,96 ^c	43,84
<i>Cyclea barbata</i>	300	25,20±2,98	74,80±12,98 ^c	38,42
	600	34,93±10,02	65,07±10,02	20,41
Aspirin	50	16,97±5,95	83,03±5,95 ^c	53,64

0 = tidak ada penghambatan agregasi platelet; Uji statistik: a = p < 0,1; b = p < 0,05; c = p < 0,01 dibandingkan dengan kontrol penginduksi platelet (ADP).

Tabel 3. Efek ekstrak daun *Cyclea barbata* terhadap pembentukan trombus secara akut.

Sampel	Dosis (mg/bb manusia)	% Mencit yang paralisa	% Mencit yang mati	% Proteksi terhadap proses trombosis
	0	60	0	40,0
Ekstrak etanol	150	46,7	6,7	46,6
<i>Cyclea barbata</i>	300	40,0	0	60,0
	600	60,0	0	40,0
Aspirin	50	26,7	0	73,3

untuk dosis 150, 300, and 600 mg/kg BB dibandingkan dengan kontrol (p < 0,01). Digunakan aspirin sebagai pembandingan.

Efek anti agregasi platelet. Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak Cb dapat menghambat agregasi anti platelet yang di induksi dengan ADP dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan kontrol.

Efek Cb tidak memperlihatkan efek yang tergantung dosis. Inhibisi agregasi platelet memperlihatkan hasil yang signifikan pada dosis 150 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB manusia dengan persentase inhibisi berturut-turut 43,84%, 38,42%, efek tidak bergantung pada dosis. Hasil inhibisi terhadap agregasi platelet oleh ekstrak Cb memberikan hasil yang signifikan, dimana inhibisi aspirin yang digunakan sebagai pembandingan 53,64%

Aktivitas antitrombosis. Dari data pada Tabel 3 terlihat bahwa Cb memperlihatkan efek antitrombosis dengan efek proteksi terhadap pembentukan trombus diberikan oleh ekstrak Cb dengan dosis terbesar yaitu 600 mg/kg BB. Dari data terlihat bahwa efek penghambatan terhadap pembentukan trombus tergantung pada dosis, efek lebih baik diberikan oleh

dosis yang lebih besar.

Penelitian memperlihatkan bahwa ekstrak Cb juga signifikan dalam menghambat agregasi platelet pada mencit dan juga memperpanjang waktu pendarahan mencit, waktu koagulasi dan juga pembentukan trombus secara akut. Dari hasil ini diduga bahwa aktivitas anti trombosis Cb disebabkan penghambatan agregasi platelet secara langsung pada pelepasan tromboplastin/ pembentukan trombus⁽⁹⁾.

Pada penelitian ini digunakan aspirin sebagai pembandingan, karena diduga mekanisme penghambatan ekstrak Cb sama dengan mekanisme penghambatan oleh aspirin. Aspirin adalah obat antitrombosis yang efektif penggunaannya pada kasus iskemik dan kasus stroke. Namun aspirin memiliki efek samping reaksi penggunaan obat yaitu pendarahan dan efek samping pada saluran gastrointestinal. Efek ini muncul karena aspirin menghasilkan efek anti platelet dengan mekanisme menghambat aktivitas siklooksigenase, tapi juga mempengaruhi pembuluh darah serta meningkatkan produksi prostaglandin, bahan biologis yang menghambat pembentukan thrombin pada waktu yang bersamaan, karena trombosis memainkan peranan

penting pada penyebab penyakit kardiovaskular, maka perlu dilakukan telaah lebih lanjut dalam penemuan bahan alam yang dapat mencegah agregasi platelet serta pembentukan trombus⁽⁶⁾.

SIMPULAN

Ekstrak etanol *Cyclea barbata* Miers. memperlihatkan perpanjangan waktu pendarahan yang signifikan berbeda ($p < 0,01$) dibandingkan kontrol pada dosis terendah (150 mg/kg BB). Ekstrak ini juga memperlihatkan perpanjangan waktu koagulasi dibandingkan kontrol ($p < 0,01$) dan bergantung pada dosis, serta memperlihatkan aktivitas anti agregasi platelet pada dosis 150 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,01$).

DAFTAR PUSTAKA

1. Lange A. Richard MD, and Hillis L, David MD. Antiplatelet Therapy for Ischemic Heart. N Engl J Med. 2004. 350:277-80.
2. Lawson CF, Reilly PM, Kapoor CS, Cuchiarra JA, Marco D, Tournier B, et al. Cyclooxygenase Inhibitors and the Antiplatelet Effects of Aspirin. N Engl J Med. 2001. 345:1809-15.
3. Rang HHP. et al., Pharmacology, Haemostasis and Thrombosis, Ed:3th, Livingstone Inc. USA: 1995
4. Mellinger, Carbonero, Cipriani, Gorin Lacomini M. J Nat Prod. 2005. (68):129-32.
5. Moriyama H, Iizuka T, Nagai M, Terazono M, Hoshi K, Natural Medicines. 2002. 56(5):178-83.
6. Iyobe A, Uchida M, Kamata K, Hotei Y, Kusama H, Harada H. Studies on New Platelet Aggregation Inhibitors 1. Synthesis of 7-Nitro-3, 4-dihydroquinoline-2(1H)-one Derivatives. Chem & Pharm Bull. 2001. 49.