

Efek Anti-Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) pada Mencit

(Anti-Platelet Aggregation Effect from Ethanol Extract of Salam Leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) on Mice)

RIKA SARI DEWI^{1*}, NI MADE DWI SANDHIUTAMI¹, SULISTYO RAHARJO²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia

2

Diterima 15 Desember 2016, Disetujui 10 Februari 2017

Abstrak: Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) memiliki kandungan flavonoid, minyak atsiri dan asam fenolat yang berkhasiat menghambat agregasi platelet yang diinduksi ADP (Adenosin difosfat), asam arakidonat, epinefrin, trombin, kolagen dan mempengaruhi aktivitas enzim ektonukleotidase sehingga dapat digunakan sebagai obat anti-platelet. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol 70% daun salam memiliki efek anti-agregasi platelet serta peningkatan dosisnya memiliki kemampuan meningkatkan efek anti-agregasi platelet. Penelitian ini dilakukan pada 5 kelompok mencit yang terdiri dari masing-masing 5 mencit, yaitu: kelompok kontrol positif, kontrol normal, ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300, 450) mg/kg BB, masing-masing kelompok diberikan secara per oral satu kali sehari selama 8 hari dan dilakukan pengukuran parameter pada hari ke-0 dan hari ke-9. Hasil uji efek anti-agregasi platelet menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300, 450) mg/kg BB menunjukkan efek memperpanjang waktu pendarahan, waktu koagulasi serta memperbesar penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP. Dari hasil pengukuran parameter waktu pendarahan, waktu koagulasi dan penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP bahwa ekstrak etanol dosis 150, 300 dan 450 mg/kg BB daun salam memiliki efek anti-agregasi platelet dan peningkatan dari dosis dapat meningkatkan efek anti-agregasi platelet.

Kata kunci: daun salam, waktu pendarahan, waktu koagulasi, pengukuran serapan plasma.

Abstract: Salam leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) contains flavonoids, volatile oil and phenolic acid that can inhibiting platelet aggregation induced by ADP (adenosine diphosphate), arachidonic acid, epinephrine, thrombin, collagen and affecting the activity enzyme ectonucleotidase so it can be used as anti-platelet drug. The purpose of this study was to investigated 70% ethanol extract of salam leaves have anti-platelet aggregation effect and increase of dose can also increase anti-platelet aggregation. This study was performed in 5 groups, each group consisted of 5 mice there were: groups of positive control, normal control, 70% ethanol extract leaves doses (150, 300, 450) mg/kg, each group is given orally once daily during 8 days and measurements of parameters at day-0 and day-9th. The results of this study was 70% ethanol extract of leaves of salam leaves doses (150,300, 450) mg/kgBW showed the effects prolong bleeding time, coagulation time, enhance the decreased plasma absorbance after the addition of ADP. From the measurement parameter bleeding time, coagulation time and measurement decreased plasma absorbance after the addition of ADP that 70% ethanol extract of salam leaves doses 150, 300 and 450 mg/kgBW have anti-platelet aggregation effect and increase of dose was able to increase the effect anti-platelet aggregation.

Keywords: salam leaves, bleeding time, coagulation time, measurement plasma absorbance.

* Penulis korespondensi, Hp. 081221709700
e-mail: rika.dewi@univpancasila.ac.id

PENDAHULUAN

AGREGASI platelet merupakan bagian terpenting pada respon hemostasis cedera vaskular untuk mencegah kehilangan darah. Sewaktu-waktu pembuluh darah mengalami kerusakan, platelet membentuk sumbatan setelah adanya konstiksi pembuluh kemudian pembentukan bekuan sebagai hasil pembekuan darah, dengan pertumbuhan akhir dari jaringan fibrosa ke dalam bekuan darah menuju lubang di pembuluh secara permanen. Bentuk bekuan darah yang abnormal seperti trombus dan embolus akan membentuk massa yang dapat menyumbat pembuluh darah sehingga terjadi gangguan aliran darah yang menyebabkan berbagai penyakit seperti stroke dan infark miokard bahkan kematian⁽¹⁾. Penemuan obat-obat antiplatelet diharapkan dapat menyediakan obat baru dengan mekanisme dan target obat yang potensial serta aman bagi manusia⁽²⁾.

Tanaman obat banyak digunakan untuk mengatasi masalah antiplatelet. Beberapa kandungan pada tanaman obat yang memiliki efektivitas sebagai antiplatelet yaitu ekstrak minyak cengkeh yang mengandung eugenol dengan dosis 50–100 mg/kg pada hewan coba kelinci⁽³⁾. Daun salam merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri eugenol, flavonoid kuersetin dan asam fenolat asam kafeat⁽⁴⁾, sehingga dapat digunakan dalam pengobatan anti-platelet. Penelitian ini menggunakan ekstrak etanol 70% daun salam karena merupakan penyari yang selektif dan efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antiplatelet pada mencit dan melihat pengaruh bahan uji terhadap proses pembentukan sumbat hemostatik sementara, sumbat hemostatik sekunder dan aktivitas platelet sebelum dan setelah penambahan ADP (adenosin difosfat).

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.), kertas saring, tissue, etanol 70%, *aquadest*, NaCl 0,9%, pereaksi ADP (adenosin difosfat), clopidogrel dan tween 80. Hewan uji yang digunakan adalah mencit dengan jenis kelamin jantan dengan galur DDY berumur 2–3 bulan dengan bobot 25–35 g.

Alat. *Spuut* 1,0 mL, jarum oral (sonde), lancet steril/silet, kandang mencit, *holder*, timbangan mencit, neraca analitik, maserator/*stirer*, vakum *rotavapor*, spektrofotometer UV-Vis, inkubator, alat *sentrifuge*, tabung *sentrifuge* (*eppendorf*), mikropipet, batang pegaduk, kapas, alat - alat gelas, blender.

METODE. Pembuatan Ekstrak. Serbuk simplisia daun salam yang sebelumnya telah dideterminasi di Herbarium Bogoriens-LIPI Bogor diremaserasi sebanyak 5 kali menggunakan etanol 70% menggunakan mesin maserasi, lalu didiamkan selama 24 jam. Ekstrak disaring dengan corong *buchner* yang dilapisi kertas saring *whatman* sehingga diperoleh filtrat dan ampas. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40–50 °C, kemudian dihitung rendemen dari ekstrak.

Persiapan Hewan Coba. Hewan coba yang digunakan adalah mencit dengan jenis kelamin jantan galur DDY berumur 2–3 bulan dengan bobot 25–35 g, sebanyak 25 ekor, sebelum digunakan sebagai percobaan semua mencit dipelihara terlebih dahulu ±1 minggu untuk penyesuaian lingkungan, mengontrol kesehatan, berat badan serta menyeragamkan makanan.

Pembuatan Suspensi Clopidogrel. Ditimbang, dihaluskan tablet clopidogrel dengan digerus dilumpang, serbuk clopidogrel yang sudah dihaluskan ditimbang sebesar 131 mg dan dispersikan dengan sebagian larutan *aquadest* dan 1% Tween 80 pada labu tentukur 100 mL kemudian dikocok hingga terlarut, kemudian ditambahkan dengan sisa larutan *aquadest* dan 1% tween 80 hingga tanda⁽⁵⁾.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol 70% Daun Salam. Ditimbang ekstrak etanol 70% daun salam 1000 mg, kemudian ditambahkan dengan larutan *aquadest* dan 1% Tween 80 pada labu tentukur 100 mL kemudian dikocok hingga terlarut, kemudian ditambahkan larutan *aquadest* dan 1% Tween 80 hingga tanda. Didapatkan larutan suspensi ekstrak etanol daun salam dengan 1% Tween 80 dengan konsentrasi 1%⁽⁵⁾. Penggunaan kontrol normal menggunakan larutan *aquadest* dan 1% Tween 80 dan juga ditambahkan larutan *aquadest* dengan 1% Tween 80 pada kontrol normal clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) dan ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300 dan 450 mg/kg BB). Pada penelitian ini digunakan sampel uji ekstrak etanol 70% daun salam yang mengandung minyak atsiri, sehingga dibutuhkan penambahan Tween 80 suatu pendispersi dan penstabil untuk minyak atsiri yang ada pada ekstrak etanol 70% daun salam⁽⁶⁾.

Uji Efek Antiagregasi Platelet. Mencit dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit. Pengujian dilakukan dengan masing-masing kelompok dosis, dapat dilihat pada Tabel 1. Sediaan diberikan per oral pada mencit menggunakan jarum oral (sonde). Pemberian satu hari sekali selama 8 hari berturut-turut. Parameter yang digunakan yaitu waktu pendarahan, waktu koagulasi dan penurunan serapan plasma

setelah penambahan ADP (adenosin difosfat) yang diukur pada hari ke-0 dan ke-9. Hasil pengujian diolah secara statistik menggunakan uji ANAVA (Analisis Varians) satu arah dengan taraf kepercayaan 95% dilanjutkan dengan BNT (Beda Nyata Terkecil) dan uji t-berpasangan (*t-paired*).

Penentuan Waktu Pendarahan. Mencit dimasukkan ke dalam *holder*, ekor mencit dibersihkan perlahan dengan alkohol 70% atau etanol 70%, kemudian ekor mencit dilukai dengan jarak 2 cm dari pangkal ekor mencit yang dilukai dengan kedalaman luka maksimal 2 mm, darah yang keluar diserap pada kertas saring. Interval waktu antara timbulnya tetes pertama darah hingga darah berhenti mengalir adalah waktu pendarahan, diperoleh data waktu pendarahan dari lima kelompok selanjutnya dievaluasi secara statistik.

Penentuan Waktu Koagulasi. Sampel darah diperoleh dari vena sinus orbital dibagian mata yang diambil dengan pipa kapiler, darah yang keluar diserap dengan pipa kapiler. Pipa kapiler yang berisi darah dipatahkan sepanjang 0,5 cm, setiap interval 15 detik hingga teramati pembentukan benang fibrin pada bagian yang dipatahkan, waktu yang diperlukan untuk terbentuknya benang fibrin adalah waktu koagulasi, diperoleh data waktu koagulasi dari lima kelompok selanjutnya waktu koagulasi dievaluasi secara statistik.

Pengukuran Penurunan Serapan Plasma Setelah Penambahan ADP (Adenosin difosfat). Sampel darah diperoleh dari vena sinus orbital dibagian mata, darah yang keluar ditampung dengan tabung *eppendorf* yang sebelumnya ditambahkan dengan natrium sitrat 3,18% kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit, diperoleh plasma darah kemudian plasma darah diambil sebanyak 250 μ L lalu ditambah natrium klorida 0,9% sebanyak 3 mL kemudian diukur serapan plasma dengan Spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Serapan plasma diukur kembali setelah diberikan 30 μ L ADP 5 μ M sebagai penginduksi agregasi platelet dan inkubasi selama 20 menit dalam inkubator suhu 37 °C. Pengukuran serapan plasma dihitung dengan menghitung *persentase* selisih serapan plasma sebelum dan setelah pemberian penginduksi agregasi platelet ADP (adenosin difosfat). Diperoleh data % penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP dari lima kelompok dihitung selanjutnya dievaluasi secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak. Dari hasil maserasi serbuk simplisia daun salam menggunakan pelarut etanol

70% didapatkan hasil rendemen yang dapat dilihat pada Tabel 2. **Penentuan Waktu Pendarahan.** Dari data waktu pendarahan hari ke-0 maupun hari ke-9 masing - masing dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* ($p=0,41$ dan $p=0,15$) dan uji homogenitas dengan uji *Levene's* ($p=0,20$ dan $p=0,11$) didapatkan hasil analisis menunjukkan kelompok data memiliki distribusi data normal ($p>0,05$) dan data menunjukkan homogen ($p>0,05$). Analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi waktu pendarahan hari ke-0 sebesar $p=0,55$ ($p>0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu pendarahan hari ke-0 pada semua kelompok tidak berbeda makna.

Hasil pengukuran kelompok data waktu pendarahan hari ke-9 memiliki distribusi data normal dan homogen kemudian analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi waktu pendarahan hari ke-9 sebesar $p=0,00$ ($p<0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu pendarahan hari ke-9 pada semua kelompok terdapat perbedaan bermakna, untuk mengetahui kelompok-kelompok yang berbeda dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata (BNT).

Dari hasil uji BNT menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), ekstrak etanol 70% daun salam (150, 300 dan 450) mg/kg BB mampu meningkatkan waktu pendarahan pada mencit secara bermakna $p=0,00$; 0,00; 0,00; dan 0,00 ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol normal larutan *aquadest* dan 1% Tween 80. Pada kelompok ekstrak etanol 70% daun salam (150 dan 300) mg/kg terhadap waktu pendarahan diperoleh hasil yang berbeda makna $p=0,00$ dan 0,00 ($p<0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 70% daun salam (150 dan 300) mg/kg BB, kurang efektif bila dibandingkan dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB).

Pada kelompok ekstrak etanol 70% daun salam 450 mg/kg BB diperoleh hasil yang berbeda makna $p=0,00$ ($p>0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 70% daun salam 450 mg/kg BB, lebih efektif bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) dalam meningkatkan waktu pendarahan (Tabel 3).

Penentuan Waktu Koagulasi. Dari data waktu koagulasi hari ke-0 maupun hari ke-9 masing-masing dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* ($p=0,66$ dan $p=0,06$) dan uji homogenitas dengan uji *Levene's* ($p=0,24$ dan $p=1,00$) di dapatkan hasil analisis menunjukkan kelompok data memiliki distribusi data normal ($p>0,05$) dan data menunjukkan

Tabel 1. Perlakuan kelompok uji efek anti-agregasi platelet.

Kelompok	Perlakuan
I	Kontrol (+) clopidogrel 75 mg/kg BB
II	Kontrol normal larutan aquadest + 0,1% tween 80
III	Ekstrak etanol 70% daun salam dosis 150 mg/kg BB
IV	Ekstrak etanol 70% daun salam dosis 300 mg/kg BB
V	Ekstrak etanol 70% daun salam dosis 450 mg/kg BB

Keterangan : tiap kelompok ada lima ekor mencit.

homogen ($p > 0,05$). Kelompok data waktu koagulasi hari ke-0 memiliki distribusi data normal dan homogen, kemudian analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi waktu koagulasi hari ke-0 sebesar $p = 0,586$ ($p > 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu koagulasi hari ke-0 pada semua kelompok tidak berbeda makna.

Hasil pengukuran kelompok data waktu koagulasi hari ke-9 memiliki distribusi data normal dan homogen, kemudian analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi waktu koagulasi hari ke-9 sebesar $p = 0,000$ ($p < 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu koagulasi hari ke-9 pada semua kelompok terdapat perbedaan bermakna, untuk mengetahui kelompok-kelompok yang berbeda dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata (BNT).

Dari uji BNT menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300 dan 450) mg/kg BB mampu meningkatkan waktu koagulasi pada mencit secara bermakna $p = 0,00; 0,00; 0,00$ dan $0,00$ ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol normalnya (larutan *aquadest* dengan 1% Tween 80). Pada kelompok ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150 dan 300) mg/kg BB terhadap waktu koagulasi diperoleh hasil yang berbeda makna $p = 0,00$ dan $0,00$ ($p < 0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan kelompok ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150 dan 300) mg/kg BB, kurang efektif bila dibandingkan dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB).

Pada kelompok ekstrak etanol 70% daun salam dosis 450 mg/kg BB diperoleh hasil yang tidak terdapat perbedaan makna $p = 0,062$ ($p > 0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 70% daun salam dosis 450 mg/kg BB, dapat dikatakan sebanding dengan kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) dalam meningkatkan waktu koagulasi (Tabel 4).

Hasil Pengukuran Penurunan Serapan Plasma Setelah Penambahan ADP.

Dari data penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada pengukuran hari ke-0 maupun hari ke-9 masing-masing dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* ($p = 0,66$ dan $p = 0,72$) dan uji homogenitas dengan uji *Levene's* ($p = 0,316$ dan $p = 0,32$) di dapatkan hasil analisis menunjukkan kelompok data memiliki distribusi data normal ($p > 0,05$) dan data menunjukkan homogen ($p > 0,05$). Kelompok data penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada hari ke-0 memiliki distribusi data normal dan homogen kemudian analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada pengukuran hari ke-0 sebesar $p = 0,99$ ($p > 0,05$).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada pengukuran hari ke-0 pada semua kelompok tidak berbeda makna. Hasil pengukuran kelompok data pada hari ke-9 memiliki distribusi data normal dan homogen kemudian analisis dilanjutkan untuk menguji kemaknaannya dengan uji ANAVA satu arah dan diperoleh nilai signifikansi data penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada hari ke-9 sebesar $p = 0,00$ ($p < 0,05$), hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada hari ke-9 pada semua kelompok terdapat perbedaan bermakna untuk mengetahui kelompok-kelompok yang berbeda dilakukan uji lanjut dengan uji beda nyata (BNT).

Dari uji BNT menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300 dan 450) mg/kg BB mampu memperbesar penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP secara bermakna $p = 0,00; 0,00; 0,00$ dan $0,00$ ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol normalnya (larutan *aquadest* dengan 1% Tween 80). Pada ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150 dan 300) mg/kg BB terhadap pembesaran penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP diperoleh hasil yang berbeda makna $p = 0,00$ dan $0,00$ ($p < 0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150 dan 300) mg/kg BB, kurang efektif bila dibandingkan dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB).

Tabel 2. Nilai rendemen ekstrak etanol 70% daun salam.

Serbuk simplisia daun	Bobot ekstrak	Rendemen ekstrak
604,7	63,0	10,41

Tabel 3. Rata-rata waktu pendarahan (detik) mencit.

Kelompok perlakuan	rata - rata waktu pendarahan (detik) hari ke-0	rata - rata waktu pendarahan (detik) hari ke-9
Kontrol positif	52,55 ± 1,00	199,43 ± 1,46
Kontrol normal	54,94 ± 3,42	52,47 ± 1,39
Ekstrak dosis (150 mg/kg BB)	53,27 ± 2,39	104,98 ± 1,23
Ekstrak dosis (300 mg/kg BB)	53,64 ± 2,20	134,39 ± 2,76
Ekstrak dosis (450 mg/kg BB)	53,12 ± 1,57	211,74 ± 1,18

Pada kelompok ekstrak etanol 70% daun salam dosis 450 mg/kg BB diperoleh hasil yang berbeda makna $p=0,01$ ($p<0,05$) dengan kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB), hal ini menunjukkan bahwa kemampuan ekstrak etanol 70% daun salam dosis 450 mg/kg BB, lebih efektif bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) dalam memperbesar penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP (Tabel 5).

Peningkatan waktu pendarahan pada kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) diakibatkan dari mekanisme kerja dari clopidogrel yang menyebabkan penghambatan reseptor P2Y12 secara *irreversibel* pada platelet sehingga respon ADP (adenosin difosfat) untuk agregasi platelet berkurang. Mekanisme yang mendasari efek peningkatan waktu pendarahan pada pemberian ekstrak etanol 70% daun salam diperkirakan diperantarai oleh mekanisme kerja dari kandungan senyawa yang ada pada daun salam minyak atsiri eugenol, flavonoid kuersetin dan asam fenolat asam kafeat. Minyak atsiri eugenol mampu menghambat agregasi platelet yang diinduksi asam arakidonat, epinefrin, thrombin, faktor pengaktif platelet, adenosin difosfat (ADP) dan kolagen^(7,8).

Flavonoid kuersetin mampu menghambat agonis penginduksi aktivasi platelet melalui inhibisi dari aktivasi PI3K (*Phosphoinositide-3 Kinase*)/Akt diikuti dengan peningkatan cAMP (*cyclic adenosine monophosphate*) dan stimulasi VASP (*Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein*) yang diikuti menekan ERK2, JNK1 dan fosforilasi MAPK p38⁽⁹⁾. Asam fenolat asam kafeat mampu menghambat pergerakan Calcium (Ca^{2+}) intraseluler platelet, menghambat agregasi platelet yang diinduksi kolagen dan TXA2⁽¹⁰⁾. Peningkatan dosis senyawa minyak atsiri eugenol, flavonoid kuersetin dan asam fenolat asam kafeat mampu meningkatkan penghambatan agregasi platelet^(7,8,9,10). Hal ini juga sesuai dengan penelitian

Tabel 4. Rata-rata waktu koagulasi (detik) mencit.

Kelompok perlakuan	rata - rata waktu koagulasi (detik) hari ke-0	rata - rata waktu koagulasi (detik) hari ke-9
Kontrol positif	69,01 ± 2,09	182,38 ± 1,76
Kontrol normal	66,44 ± 3,92	66,45 ± 1,76
Ekstrak dosis (150 mg/kg BB)	67,70 ± 2,82	92,86 ± 1,52
Ekstrak dosis (300 mg/kg BB)	66,55 ± 2,62	106,87 ± 1,59
Ekstrak dosis (450 mg/kg BB)	66,18 ± 3,67	182,91 ± 1,64

pada ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dosis 50 mg/kg BB yang menunjukkan peningkatan waktu pendarahan pada mencit secara bermakna $p=0,009$ ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Pada penelitian ekstrak etanol rimpang jahe merah kesamaan efek yang ditunjukkan dengan daun salam serta kandungan yang terdapat pada jahe merah yaitu flavonoid kuersetin^(11,12,13).

Penelitian lain menggunakan ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) didapatkan hasil rerata waktu pendarahan ekstrak etanol rimpang kunyit 100 mg/kg BB menunjukkan peningkatan waktu pendarahan pada mencit secara bermakna $p=0,000$ ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Pada penelitian ekstrak etanol rimpang kunyit pula terdapat kesamaan efek yang ditunjukkan sama dengan daun salam serta kandungan yang terdapat pada kunyit yaitu flavonoid kuersetin dan minyak atsiri eugenol. Menurut penelitian efek yang dihasilkan oleh kunyit dapat berpengaruh kepada hambatan sintesis tromboksan A2 dan sintesis enzim prostaglandin dan siklooksigenase yang berperan pada agregasi platelet⁽¹²⁾.

Peningkatan waktu koagulasi pada kelompok kontrol positif clopidogrel dosis (75 mg/kg BB) diperkirakan karena dihilangkannya aktivitas prokoagulan faktor jaringan dihubungkan dengan hilangnya *P-selectin* plasma. Mekanisme yang mendasari efek pemanjangan waktu koagulasi pada pemberian ekstrak etanol 70% daun salam diperkirakan diperantarai oleh mekanisme kerja dari kandungan senyawa yang ada pada daun salam minyak atsiri eugenol, flavonoid kuersetin dan asam fenolat asam kafeat. Mekanisme kerja dari minyak atsiri eugenol yang melakukan penghambatan trombin sebagai pusat dari pembekuan darah, mengurangi aktivitas trombin mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin untuk merakit menjadi jaringan serabut yang lebih besar.

Flavonoid kuersetin mampu menstimulasi *Tissue plasminogen activator* (t-PA) yang dihambat Trombin, *Tissue plasminogen activator* diproduksi oleh sel pembuluh endotel, merubah plasminogen menjadi plasmin yang mendegradasi fibrin. Asam fenolat asam

Tabel 5. Rata-rata penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP (%) mencit.

Kelompok perlakuan	Rata - rata penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP (%) hari ke-0	Rata - rata penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP (%) hari ke-9
Kontrol positif	34,31 ± 0,62	16,35 ± 0,91
Kontrol normal	34,34 ± 1,45	34,29 ± 1,06
Ekstrak dosis (150 mg/kg BB)	34,42 ± 0,96	26,20 ± 1,97
Ekstrak dosis (300 mg/kg BB)	34,37 ± 0,57	20,56 ± 1,15
Ekstrak dosis (450 mg/kg BB)	34,57 ± 0,82	14,03 ± 0,41

kafeat menghambat hidrolisis ATP yang penting untuk mengurangi tingkat ADP ekstraselular, meningkatkan hidrolisis ADP pada platelet karena platelet mengatur status koagulasi platelet dengan mengurangi ADP ekstra seluler, yang merupakan agonis utama dari agregasi platelet. Penelitian lain menyebutkan pada ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dosis 50 mg/kg BB yang menunjukkan peningkatan waktu koagulasi pada mencit secara bermakna $p=0,035$ ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal.

Pada penelitian ekstrak etanol rimpang jahe merah dan ekstrak etanol rimpang kunyit menunjukkan peningkatan waktu koagulasi pada mencit tidak bermakna bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Pada penelitian tersebut kesamaan efek yang ditunjukkan sama dengan daun salam serta kandungan yaitu flavonoid kuersetin dan minyak atsiri eugenol, menurut penelitian efek yang dihasilkan dapat berpengaruh kepada hambatan sintesis tromboksan A2 dan sintesis enzim prostaglandin dan siklooksigenase yang berperan pada agregasi platelet yang selanjutnya membentuk suatu enzim yang menyebabkan perubahan fibrinogen sirkulasi menjadi fibrin, fibrin tumbuh menutup permukaan sumbatan platelet^(11,12,13).

Pada rerata penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP ekstrak etanol 70% daun salam dosis (150, 300, 450) mg/kg BB mampu memperbesar penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP pada mencit secara bermakna $p=0,00$; $0,00$; dan $0,00$ ($p<0,05$) bila dibanding dengan kontrol normal, sesuai dengan penelitian pada ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dosis 50 mg/kg BB yang menunjukkan pembesaran penurunan serapan plasma pada mencit secara bermakna $p=0,020$ ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Pada penelitian ekstrak etanol rimpang jahe merah kesamaan efek yang ditunjukkan sama dengan daun salam serta kandungan yang terdapat pada jahe merah yaitu flavonoid kuersetin, menurut penelitian efek yang dihasilkan oleh jahe merah dapat berpengaruh kepada hambatan sintesis tromboksan A2 yang berperan pada agregasi platelet^(11,12,13).

Pada rerata penurunan serapan plasma setelah penambahan ADP ekstrak etanol rimpang kunyit 100 mg/kg BB menunjukkan pembesaran penurunan serapan plasma pada mencit secara bermakna $p=0,021$ ($p<0,05$) bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Pada penelitian ekstrak etanol rimpang kunyit kesamaan efek yang ditunjukkan sama dengan daun salam serta kandungan yang terdapat pada kunyit flavonoid kuersetin dan minyak atsiri eugenol, menurut penelitian efek yang dihasilkan oleh kunyit dapat berpengaruh kepada hambatan sintesis tromboksan A2

dan sintesis enzim prostaglandin dan siklooksigenase yang berperan pada agregasi platelet⁽¹²⁾.

SIMPULAN

Ekstrak etanol 70% dosis 150, 300 dan 450 mg/kg BB memberikan efek anti-agregasi platelet dan peningkatan dosisnya mampu meningkatkan efek anti-agregasi platelet terhadap proses sumbat hemostatik primer dengan meningkatkan waktu pendarahan, terhadap proses sumbat hemostatik sekunder dengan meningkatkan waktu koagulasi, terhadap aktivitas platelet sebelum dan setelah penambahan ADP (adenosin difosfat).

DAFTAR PUSTAKA

1. Underwood JCE. Patologi umum dan sistematik. Editor Bahasa Indonesia Sarjadi. Ed 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1999.
2. Offermans, Stefan. Activation of platelet function through G protein-coupled receptors. *Circulation Research* 2006;99:1293–1304.
3. Saeed SA, Gilani AH. Antithrombotic activity of clove oil. *Journal Pakistan Medical Association*. 1994;44:112.
4. Syamsul hidayat, Sugati Sri, Hutapea, Ria Johnny. Inventaris tanaman obat Indonesia I. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan; 1991. 238.
5. Setyawati R. Uji aktivitas antiplatelet & trombolitik ekstrak etanol kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) *in vitro* [skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2015.
6. Carson CF and Riley TV. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 1995;78: 264–9.
7. Saeed SA, Simjee RU, Shamim G, Gilani AH. Eugenol: a dual inhibitor of platelet- activating factor and arachidonic acid metabolism. *Phytomedicine*. 1995. 2(1):23-8.
8. Chen SJ, Wang MH, Chen IJ. Antiplatelet and calcium inhibitory properties of eugenol and sodium eugenol acetate. *Gen Pharmac*. 1996;27(4):629-33.
9. Oh WJ, Endale M, Park SC, Cho YJ, Rhee MH. Dual roles of quercetin in platelet phosphoinositide-3 kinase and MAP kinases inhibition and cAMP-dependent vasodilator – stimulated phosphoprotein stimulation. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*. 2012:1-10.
10. Wright Bemice, Moraes LA, Kemp CF, Mullen William, Crozier Alan, Lovegrove JA, et al. A structural basis for the inhibition of collagen-stimulated platelet function by quercetin and structurally related flavonoids. *British Pharmacology Journal*. 2010;159:1312-25. doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00632.x.

11. YS Elin, IS Joseph, F Nurul. Efek antiagregasi platelet ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val) dan kombinasinya pada mencit jantan galur Swiss Webster. JKM. 2008.7:1-18.
12. KC Srivastava, T Mustafa. Spices: Antiplatelet activity and prostanoid metabolism. In: Prostaglandins leukotrienes and essential fatty acids: Reviews. 1989. 38:255-66.
13. Ghasemzadeh A, Jaafar HZE, Rahmat A. Variation of the phytochemical constituents and antioxidant activities of *Zingiber officinale* var. rubrum Theilade associated with different drying methods and polyphenol oxidase activity. Molecules. 2016;21:780.
14. Samudra A. Karakterisasi ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum* Wight) dari tiga tempat tumbuh Indonesia [Skripsi]. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi UIN Syarif Hidayatullah Jakarta; 2014.
15. Sukandar EY, Sigit JI, Fitriani, Nurul. Efek antiagregasi platelet ekstrak air bulbus bawang putih (*Allium sativum* L.), ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan kombinasinya pada mencit jantan galur Swiss Webster. Majalah Farmasi Indonesia. 2008.19(1):1-11.
16. Gresele P, Fuster V, Lopez JA, Page CP, Vermylen J, editor. Platelets in hematologic & cardiovascular disorder. New York : Cambridge press; 2008. 87:293-5.