



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e - ISSN : 2597-9531

p - ISSN : 2597-9523



Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxime Merr.*) Sebagai Antikoagulan Dengan Metode Clotting Time (Lee and White)

✉ Etiek Nurhayati, Sherin Aulia Sukma, Wahdaniah

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : etieknur@yahoo.com

Submitted : 23 September 2021; **Revised** : 8 Oktober 2021; **Accepted** : 18 November 2021

Published : 30 November 2021

Abstract

Grapefruit plant is a plant that is suspected to have content as an anticoagulant. Ethanol extract of grapefruit peel contains secondary metabolite compounds in the form of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, phenols, and essential oils. Secondary metabolite compounds of alkaloids and flavonoids function as anticoagulants by extrinsic and intrinsically inhibiting coagulation pathways through inhibition of the production of FXa, thrombin, and inhibiting PAI-1-induced TNF- α . This study aims to find out the influence of grapefruit peel extract as an anticoagulant with clotting time method. This study uses quasi experiment research design with purposive sampling techniques with concentrations of 0.5%, 1%, and 1.5% with repetitions as much as 9 times. Anticoagulant testing with clotting time methods to see the length of time it takes for blood to clot.

The average time it takes for blood to clot with concentrations of 0.5%, 1%, and 1.5% is 8 minutes, 9 minutes, and 10 minutes. Linear Regression Test obtained a significance value p value = 0,000 < α 0.05 which means H_a accepted so that it is stated there is an influence of grapefruit peel extract as an anticoagulant with clotting time method (lee and white).

Keywords : Grapefruit Peel Extract; Clotting Time; Anticoagulants

Tanaman Jeruk Bali merupakan tanaman yang diduga memiliki kandungan sebagai antikoagulan. Ekstrak etanol kulit buah jeruk bali mengandung senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, fenol, dan minyak atsiri. Senyawa metabolit sekunder alkaloid dan flavonoid memiliki fungsi sebagai antikoagulan dengan cara menghambat jalur koagulasi secara ekstrinsik dan intrinsik melalui penghambatan produksi FXa, trombin, dan menghambat TNF- α yang diinduksi oleh PAI-1. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak kulit buah jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time. Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimen semu (Quasi Experiment) dengan teknik pengambilan sampel purposive sampling dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5% dengan pengulangan sebanyak 9 kali. Pengujian antikoagulan dengan metode clotting time untuk melihat lamanya waktu yang diperlukan darah untuk membeku. Hasil pengukuran diperoleh rata-rata dari waktu yang diperlukan darah untuk membeku dengan konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5% adalah sebesar 8 menit, 9 menit, dan 10 menit. Uji Regresi Linier didapatkan nilai signifikansi p value = 0,000 < α 0,05 yang artinya H_a diterima sehingga dinyatakan ada pengaruh ekstrak kulit jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time (lee and white).

Kata Kunci : Ekstrak Kulit Jeruk Bali; Clotting Time; Antikoagulan

PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi adalah pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui keadaan darah dan komponen-komponenya (leukosit, eritrosit dan trombosit). Fungsi dari pemeriksaan laboratorium adalah menganalisis secara kuantitatif atau kualitatif, mendeteksi kelainan hematologi (anemia atau leukemia) dimana diduga ada kelainan jumlah dan fungsi dari sel-sel darah, mendeteksi penyakit pendarahan yang menunjukkan kelainan faal hemostasis. Pengujian umum yang dilakukan untuk mengetahui masalah hematologi adalah pemeriksaan darah rutin, pemeriksaan darah lengkap, pemeriksaan darah khusus dan faal hemostasis. Pemeriksaan yang sering dilakukan adalah pemeriksaan darah rutin yaitu untuk mengetahui kondisi kesehatan secara keseluruhan sekaligus mendeteksi awal penyakit sebelum pemeriksaan lanjutan (Junitasari, Sukeksi dan Santosa, 2017)

Pemeriksaan darah rutin terdiri dari beberapa tahapan pemeriksaan yang terdiri dari tahap praanalitik, tahap analitik dan tahap postanalitik merupakan tahapan yang perlu diperhatikan dalam menentukan hasil. Bahan pemeriksaan hematologi biasanya adalah darah vena atau kapiler. Sampel darah yang baik biasanya darah yang tidak membeku (Junitasari, S Salah satu cara untuk menghambat terjadinya pembekuan darah adalah dengan menambahkan zat anti pembekuan darah yang disebut dengan antikoagulan. Antikoagulan adalah zat untuk mencegah terjadinya pembekuan darah dengan jalan menghambat fungsi dari beberapa faktor pembekuan darah. Antikoagulan diperlukan untuk mencegah terbentuk dan meluasnya emboli serta untuk mencegah pembekuan darah pada proses pemeriksaan laboratorium. Melihat dari faktor fisiologis tahap koagulasi adalah tahap eksekusi atau penentu pembekuan darah dimana bekuan darah mengandung benang-benang fibrin yang dipengaruhi oleh faktor-faktor koagulasi (Rohmah, Fickri, Damasari, Azis, Wahyuni, et al., 2019)

Antikoagulan yang paling umum dan banyak digunakan untuk parameter hematologi adalah EDTA. EDTA mencegah koagulasi dengan cara mengikat atau mengkhelasi ion kalsium, sehingga EDTA memiliki kelebihan dibandingkan dengan antikoagulan yang lain, yaitu tidak mempengaruhi bentuk sel-sel darah, sehingga ideal untuk pemeriksaan hematologi (Gandasoebrata, 2010). Dalam pemakaiannya, EDTA digunakan dalam bentuk garam yaitu Natrium (Na-EDTA) atau Kalium (K-EDTA atau KEDTA). Namun penundaan pemeriksaan pada darah EDTA dapat mempengaruhi hitung jumlah trombosit, karena trombosit mudah sekali menempel antara trombosit (agregasi) atau menempel pada benda asing (adhesi).

Sehingga dapat menunjukkan jumlah trombosit yang lebih rendah karena giant trombosit dan trombosit yang saling melekat tidak terhitung (Agustin et al., 2021).

Karena adanya kekurangan dari EDTA, maka diperlukan alternatif dari bahan aktif dari alam yang memiliki fungsi serupa dengan antikoagulan. Tanaman yang diduga memiliki kandungan sebagai antikoagulan ialah tanaman Jeruk Bali. Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) merupakan jenis tanaman dengan ukuran buah yang lebih besar dibandingkan jeruk yang biasa kita temui di pasar. Metabolit sekunder yang terdapat pada kulit jeruk bali antara lain mengandung flavonoid sebanyak 1,5%, saponin sebanyak 0,02%, fenolat sebanyak 1,8%, alkaloid sebanyak 3,5% (Ani dan Abel, 2018). Beberapa manfaat dari kandungan senyawa metabolit sekunder ini berpotensi sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antikoagulan, antimikroba, antidiabetes, dan anti-tripanosoma (Mainawati, Brahmana dan Mubarrak, 2017).

Pada penelitian sebelumnya kandungan ekstrak pada kulit jeruk yang memiliki efektivitas sebagai antikoagulan yaitu ekstrak kulit jeruk purut dengan dosis 400mg/Kg BB pada hewan coba mencit (Chomah, 2010)

Senyawa yang menunjukkan efek antikoagulan adalah senyawa flavonoid (Shalehah et al., 2015). Flavonoid memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivator plasminogen jaringan (tissue plasminogen activator, t-PA). dan dapat menghambat inhibitor aktivator plasminogen (plasminogen inhibitor activator, PAI) sehingga perubahan plasminogen menjadi plasmin semakin tinggi dan jumlah plasmin meningkat (Shalehah et al., 2 Senyawa metabolit sekunder pada kulit jeruk bali dipisahkan dari simplisia dengan cara ekstraksi. Metode ekstraksi yang dipilih ialah metode maserasi, karena merupakan cara ekstraksi yang sederhana dan cepat, serta dapat menarik senyawa kimia dari sampel dengan maksimal dan pada proses ini tidak menggunakan pemanasan sehingga mencegah penguraian zat aktif yang terkandung di dalam simplisia (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2017)

Agar senyawa kimia di dalam sampel dapat terekstraksi secara menyeluruh maka dilakukan remaserasi atau pengulangan sebanyak tiga kali. Pemilihan pelarut pada umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain selektivitas, kelarutan dan titik didih. Proses ekstraksi ini menggunakan etanol karena merupakan pelarut polar yang lebih selektif, relatif tidak toksik dibandingkan dengan pelarut polar lainnya (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2017).

Salah satu metode pengujian masa pembekuan darah ialah metode Clotting Time (CT). Clotting Time

adalah lamanya waktu yang diperlukan darah untuk membeku. Metode pemeriksaan Clotting Time yaitu metode tabung (modifikasi Lee dan White), metode tabung kapiler (menurut Duke), dan metode slide. Pemeriksaan clotting time dengan menggunakan darah lengkap sebenarnya satu pemeriksaan yang kasar tetapi diharapkan mampu mewakili proses pembekuan yang terjadi di dalam tubuh secara *in vitro* (Gandasoebarta, 2010).

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang di pakai oleh peneliti adalah metode clotting time (lee and white). Alat yang dipergunakan yaitu tourniquet, spuit Sec, tabung reaksi ukuran 8 mm, mikropipet 1000 ul, stopwatch dan bahan yang di gunakan pada uji ini adalah ekstrak etanol kulit jeruk bali, sampel darah, kapas alcohol 70%, EDTA 10%, salin 0,9%. populasi dalam penelitian ini ekstrak kulit jeruk bali. Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak kulit jeruk bali dengan pelarut etanol konsentrasi 0,5%, 1%, dan 1,5%. Jumlah replikasi atau pengulangan pada masing-masing kelompok perlakuan dapat ditentukan dengan menggunakan rumus Federer, yaitu: $(t - 1) (r - 1) \geq 15$. Jadi banyaknya replikasi atau pengulangan pada setiap perlakuan adalah 9 kali, sehingga banyaknya bahan pemeriksaan adalah 27 sampel. Teknik pengumpulan data yang digunakan yaitu teknik observasi dengan mengamati dan mencatat hasil yang ditunjukkan objek peneliti.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian pengaruh ekstrak kulit jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time (lee and white) menunjukkan bahwa darah tanpa perlakuan atau darah kontrol negatif masih dalam batas nilai normal yaitu 2-6 menit.

Hal ini dikarenakan tidak adanya penambahan antikoagu maupun ekstrak sehingga menyebabkan terjadinya pembekuan darah. Pada tabung kontrol positif yang diberikan perlakuan berupa EDTA 10% tidak menunjukkan terjadinya pembekuan darah. Hal ini sesuai dengan mekanisme EDTA yang mampu mengikat ion kalsium (Ca) pada darah sehingga tidak bermuatan lagi (Ca). Ini sesuai dengan prinsip EDTA yaitu sebagai pencahal kation bivalen, karena proses itulah sehingga tidak terjadinya pembentukan pada darah (K⁺).

Pada penelitian ini digunakan ekstrak kulit jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time terhadap masa pembekuan darah menunjukkan hasil koagulasi lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif (Rohmah, Fickri, Damasari, Azis, Wah-

yuni, et al., 2019). Dari hasil skrining fitokimia diketahui bahwa ekstrak etanol kulit buah jeruk bali mengandung senyawa metabolit sekunder Flavonoid, Alkaloid, Saponin, Tanin, Fenol, dan Minyak Atsiri.

Hal ini dikarenakan tanaman jeruk bali mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid dan alkaloid. Senyawa flavonoid dan alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikoagulan. Flavonoid memiliki kemampuan untuk meningkatkan aktivator plasminogen jaringan (tissue plasminogen activator, t-PA) dan dapat menghambat inhibitor aktivator plasminogen (plasminogen inhibitor activator, PAI) sehingga perubahan plasminogen menjadi plasmin semakin tinggi dan jumlah plasmin meningkat (Shalehah et al., 2015). Sedangkan senyawa alkaloid menghambat jalur koagulasi secara ekstrinsik dan intrinsik melalui penghambatan produksi FXa, trombin, dan menghambat TNF-a yang diinduksi oleh PAI-1 (Rohmah, Fickri, Damasari, Azis, Wahyuni, et al., 2019).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, ekstrak kulit jeruk bali dengan konsentrasi 0,5% didapatkan rata-rata waktu pembekuan darah sebesar 8 menit, konsentrasi 1% sebesar 9 menit dan 1,5% sebesar 10 menit. Dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin lama waktu yang diperlukan darah untuk membeku. Namun pada replikasi keempat dari hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil waktu pembekuan pada ekstrak dengan konsentrasi 1% sebesar 9 menit lebih panjang dibandingkan dengan konsentrasi 1,5% sebesar 8 menit 30 detik, hal ini dikarenakan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan masa pembekuan darah salah satunya adalah suhu. Suhu yang sesuai untuk pemeriksaan masa pembekuan darah ialah 37°C (Arjani, Ade dan Krisna, 2015). Ketidaksesuaian suhu dapat mengakibatkan terhambatnya suatu reaksi menjadi lebih lambat dan tidak sesuai, dengan demikian masa pembekuan darah yang diperoleh pun akan cenderung lebih memanjang (Eniathi, Arjani and Kusuma, 2015).

Berdasarkan hasil uji statistik Regresi Linier diketahui bahwa ekstrak kulit buah jeruk bali dengan konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% memiliki nilai signifikansi $p \text{ value} = 0,000 < \alpha 0,05$ yang artinya H_0 diterima sehingga menunjukkan bahwa adanya pengaruh ekstrak kulit jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time (lee and white) yaitu sebesar 55%. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan pembekuan darah yaitu suhu inkubasi. Suhu yang sesuai untuk pemeriksaan masa pembekuan darah ialah 37°C (Eniathi, Arjani and Kusuma, 2015). Pada saat dilakukan penelitian suhu yang digunakan lebih rendah (suhu 25°C), oleh sebab itu waktu pembekuan yang terjadi cenderung lebih memendek.

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian dan pengolahan data yang dilakukan maka dapat disimpulkan Ekstrak etanol kulit buah jeruk bali memiliki kemampuan dalam memperpanjang masa pembekuan darah pada konsentrasi 0,5% sebesar 8 menit, konsentrasi 1% sebesar 9 menit dan pada konsentrasi 1,5% sebesar 10 menit. Hasil uji ekstrak konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% memiliki nilai signifikansi $p\text{ value}=0,000 < 0,05$ sehingga menunjukkan ada pengaruh ekstrak kulit jeruk bali sebagai antikoagulan dengan metode clotting time (lee and white).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, E. V. I. et al. (2021) Perbedaan Hitung Jumlah Trombosit Pada Darah Dengan Antikoagulan K 3 Edta Segera Diperiksa Dan Disimpan Selama 1 Jam Dan 2 Jam Pada Suhu Ruang Ac (Air Conditioner) 18-22 o C, pp. 18-22.
- Alaydrus, H. et al. (2015) Dan Mikroskopis Otak Dan Hati Pada Tikus Wistar Setelah Pemberian Warfarin Ld-50 Dan Ld-100.
- Ani, P. N. and Abel, H. C. (2018) Nutrient, phytochemical, and antinutrient composition of Citrus maxima fruit juice and peel extract, Food Science and Nutrition, 6(3), pp. 653-658. doi: 10.1002/fsn3.604.
- Arjani, L. A. M. S., Ade, L. and Krisna, W. (2015) Perbedaan Hasil Pemeriksaan Masa Pembekuan Darah Pada Suhu Kamar (25°C) Dan Suhu 37°C Pada Pasien Poliklinik Bedah RSUD Kabupaten Klungkung, (1).
- Chomah, I. (2010) Uji efek antikoagulan ekstrak etanol kulit buah jeruk purut (Citrus hystrix) Pada Mencit Jantan Galur BALB-C. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Jember, pp. 9-10.
- Endarini, L. H. (2016) Farmakognisi Dan Fitokimia. 1st edn. Jakarta. Pusdik SDM Kesehatan.
- Eniathi, N. wayan, Arjani, L. A. and Kusuma, R. (2015) Perbedaan Hasil Pemeriksaan Masa Pembekuan Darah Pada Suhu Kamar (25oC) Dan Suhu 37oC Pada Pasien Poliklinik Bedah RSUD Kabupaten Klungkung
- Gandasoebrata, R. (2010) Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta Timur, Dian Rakyat.
- Hanani, E. (2017) Analisis Fitokimia, Jakarta Penerbit Buku Kedokteran EG.
- Inayah, P. W. (2015) Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh In Viro, Universitas Jember, 3(3), p. 86.
- Julianto, T. S. (2019) Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder Dan Skrining Fitokimia. 1st edn. Yogyakarta. Universitas Islam Indonesia.
- Junitasari, D., Sukeksi, A. and Santosa, B. (2017) Perbedaan Hasil Pemeriksaan Darah Rutin pada Pemberian Antikoagulan EDTA Koovesional dengan EDTA Vacutainer. Skripsi. Repository Universitas Muhammadiyah Semarang, pp. 1-35.
- Kumoro, A. C. (2015) Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat. Yogyakarta.
- Kusharyanti, I. P. (2013) Gambaran Hasil Pemeriksaan Ppt (Plasma Prothrombin Time) Pada Plasma Sitrat Yang Disimpan Pada Suhu Ruang (25-30°C) Selama 0 Jam, 2 Jam Dan 3 Jam (Studi di Laboratorium Rumah Sakit Islam Jombang), Journal of Chemical Information and Modeling, 53(9), pp. 1689-1699.
- Lubis, A. R. N. (2015) Uji Aktivitas In Viro Antiplatelet Dan Antikoagulan Fraksi N-Hesana Kulit Batang Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.), Universitas Jember, 1, pp. 1-18.
- Mainawati, D., Brahmana, E. M. and Mubarak, J. (2017) Uji Kandungan Metabolit Sekunder Tumbuhan Obat Yang Terdapat Di Kecamatan Rambah Samo Kabupaten Rokan Hulu, Jurnal Mahasiswa Prodi Biologi UPP, pp. 1-5.
- Mandiri, T. A. (2016) Budi Daya Jeruk Pamelor. 1st edn. Surakarta Visi mandiri.
- Misnah, M. et al. (2016) Pemeriksaan Prothrombin Time Dan Activated Partial Thromboplastin Time Dengan Humaclot Va Serta Sysmex Ca 500, Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory, 18(3), p. 147. doi: 10.24293/ijcpml.v18i3.382.
- Notoatmodjo, S. (2018) Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta. PT Rineka Cipta.
- Notoatmojo, S. (2010) Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta. Rineka Cipta.

- Nuryadi et al. (2017) *Dasar-Dasar Statistika Penelitian*. Yogyakarta. Sibuku Media.
- Pratama, T., Sarihati, G. A. D. and Widhya, C. D. (2019) Perbedaan Hasil Laju Endap Darah Metode Westergren Pada Darah Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid Menggunakan Diluen Natrium, 7(2), pp. 102-109.
- Puspitasari, A. D., Suharjono, S. and Yogiarto, Y. (2019) Pengaruh Lama Pemberian Fondaparinux terhadap Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) pada Pasien Sindroma Koroner Akut, *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), p. 99. doi: 10.20473/jfiki.v5i22018.99-106.
- Qonitah, K. (2013) Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jeruk Balit (*Citrus maxima* Merr.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Pada Jerawat, *Integration of Climate Protection and Cultural Heritage: Aspects in Policy and Development Plans*. Free and Hanseatic City of Hamburg, 26(4), pp. 1-37.
- Rohmah, M. K., Fickri, D. Z., Damasari, K. P., Azis, R. and Wahyuni, K. I. (2019) Uji Aktifitas Antikoagulan Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Secara In Vitro, *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika*, 2(2), doi: 10.36932/j-pham v2i2 25.
- Rosidah and Wibowo, C. (2018) Perbedaan Antara Pemeriksaan Antikoagulan Edta Dan Heparin Terhadap Nilai Hematokrit (Het), *Jurnal Sains*, 8(16), pp. 16-21.
- Sa'adah, H. and Nurhasnawati, H. (2017) Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2), p. 149. doi: 10.51352/jim.v1i2.27.