

Potensi Ekstrak Daun Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) sebagai Antikoagulan Alami

The Potential of Nyamplung (Calophyllum inophyllum L.) Leaf Extract As A Natural Anticoagulant

Widia Rahmatullah¹ dan Resmi Aini¹

¹ DIII Teknologi Bank Darah Poltekkes Bhakti Setya Indonesia, Yogyakarta

Corresponding author: Widia Rahmatullah ; Email: rahmatullahwidia@gmail.com

Submitted: 10-06-2021

Revised: 31-07-2021

Accepted: 09-2021

ABSTRAK

Antikoagulan berfungsi mencegah pembekuan darah dengan menghambat faktor faktor yang dapat menyebabkan pembekuan darah. Antikoagulan sangat bermanfaat dalam bidang hematologi untuk menjaga spesimen agar tetap awet tanpa mempengaruhi morfologi sel darah, menghitung trombosit, pemeriksaan hemoglobin, menghitung leukosit dan penentuan golongan darah. EDTA merupakan antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan darah. Penggunaan antikoagulan dengan bahan kimia harganya sangat mahal. Perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan antikoagulan alternatif yang lebih murah. Salah satu alternatif yang bisa dilakukan adalah memanfaatkan tumbuhan yang mengandung senyawa antikoagulan. Tumbuhan nyamplung merupakan kelompok mangrove yang dapat dimanfaatkan sebagai antikoagulan. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan, masing masing 10 ulangan. Pengamatan dilakukan satu jam kemudian setelah sampel diberikan perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan sebagai berikut: tabung 1: darah kontrol (tanpa perlakuan), tabung 2 : darah + ekstrak daun *Calophyllum inophyllum* (10 ul/1 ml darah) dan tabung 3 : darah + EDTA (10 ul/1 ml darah). Parameter pengamatan meliputi pengamatan visual sampel darah, pengamatan aktivitas pembekuan darah, menghitung jumlah trombosit dan menghitung jumlah eritrosit. Hasil penelitian didapatkan jumlah trombosit pada perlakuan darah ditambahkan ekstrak daun *Calophyllum inophyllum* dengan rata rata 1.759.000 sel/mm³ menunjukkan adanya sifat antikoagulan pada tanaman ini. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa EDTA lebih efektif menghambat pembekuan darah dibandingkan dengan ekstrak daun *Calophyllum inophyllum*.

Kata kunci: daun *Calophyllum inophyllum*, antikoagulan, EDTA.

ABSTRACT

*Anticoagulants are blood clotting inhibitors by inhibiting the factors that can cause blood clotting. Anticoagulants are very useful in the field of hematology to keep the specimen preserved without affecting the morphology of blood cells, platelet counts, hemoglobin check, leukocyte count and blood group determination. EDTA is anticoagulant that is often used in blood tests. The use of chemical anticoagulants is very expensive. Research is needed to find cheaper alternatives of anticoagulants. This research was conducted using a completely randomized design with three treatments, each with 10 repetitions. Observations were made on hour later after the sample was given the following treatments: tube 1: control blood (untreated). Tube 2: blood + leaf extract *Callophyllum inophyllum*, tube 3 : blood + EDTA. Parameters for visual observation of blood samples, observation of blood clotting activity, counting the number of platelets and erythrocytes. The results showed that the number of platelets in blood treatments was added with *Callophyllum inophyllum* leaf extract with an average of 1.759.000 cells/mm³. The result indicated the presence of anticoagulant properties in this plant. The result also showed that EDTA was more effective at inhibiting blood clotting compared to *Callophyllum inophyllum* leaf extract.*

Keywords: *Callophyllum inophyllum* leaf, Anticoagulants, EDTA.

PENDAHULUAN

Antikoagulan berfungsi mencegah pembekuan darah dengan menghambat faktor-faktor yang dapat menyebabkan pembekuan

darah. Faktor koagulasi mengandung sejumlah protein yang sangat berperan dalam reaksi pembekuan darah. Faktor koagulasi dalam darah terdiri dari faktor I sampai faktor XIII.

Beberapa antikoagulan yang umum digunakan antara lain EDTA, aspirin, heparin dan warfarin. Antikoagulan juga sangat bermanfaat dalam bidang hematologi untuk menjaga spesimen agar tetap awet tanpa mempengaruhi morfologi sel darah, menghitung trombosit, pemeriksaan hemoglobin, menghitung leukosit dan penentuan golongan darah. EDTA merupakan antikoagulan yang sering digunakan dalam pemeriksaan darah. Penggunaan EDTA harus dengan dosis yang tepat. Dosis pemakaian antikoagulan EDTA kering yaitu 1-1,5 mg/ml darah, sedangkan untuk EDTA cair yaitu 10 ul/1 ml darah (Wirawan R dan Silman E, 1992). Jika dosis sedikit maka akan mengakibatkan koagulasi darah, sebaliknya jika diberikan dalam jumlah yang berlebih maka dapat mengakibatkan trombosit membesar dan eritrosit mengalami krenasi. Antikoagulan yg berasal dari bahan kimia mempunyai harga yang mahal, sehingga perlu dilakukan penelitian guna mendapatkan alternatif antikoagulan yang mempunyai harga yang lebih murah. Menurut Amritpal (2011) *Calophyllum inophyllum* mengandung senyawa metabolit sekunder yakni kumarin yang bermanfaat sebagai antiaritmia, vasodilator jantung, antikoagulan, anti nyeri, mengobati sakit tulang dan melindungi kerusakan lambung.

Mangrove merupakan tanaman yang tumbuh disekitar pantai yang sangat berfungsi untuk mencegah terjadinya abrasi pantai. Manfaat lain dari mangrove antara lain sebagai tanaman obat obatan karena mengandung senyawa aktif yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit. Permasalahannya zaman ini penelitian dan percobaan secara ilmiah mengenai fungsi tanaman mangrove sebagai obat obatan sangat rendah sekali. Untuk itu perlu dilakukan penelitian mengenai manfaat tanaman mangrove sebagai antikoagulan sehingga nilai mutu dari mangrove dapat ditingkatkan. Selain itu apabila penelitian tersebut berhasil maka akan sangat membantu meningkatkan pendapatan masyarakat disekitar mangrove. Penelitian mengenai kandungan kimia mangrove sangat penting dilakukan sehingga senyawa tersebut dapat bernilai medis dan memberi informasi penting bagi masyarakat.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui manfaat dari *Calophyllum inophyllum* sebagai antikoagulan dan

membandingkan tingkat efektivitas antikoagulan EDTA dengan *Calophyllum inophyllum*.



**Gambar 1. Morfologi nyamplung
(*Calophyllum inophyllum* L.)**

Hasil dari penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi manfaat dari tanaman mangrove sebagai antikogulan alternatif sebagai pengganti EDTA yang harganya relatif lebih mahal. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumbangan bagi ilmu hematologi khususnya memanfaatkan antikoagulan herbal dalam melakukan pemeriksaan darah. Pemanfaatan daun nyamplung bisa digunakan sebagai bahan campuran bahan pembersih noda darah karna bersifat antikoagulan sehingga memiliki nilai komersial. Hasil penelitian ini diharapkan juga dapat memberikan informasi bagi masyarakat untuk memanfaatkan tanaman mangrove dengan sebaik baiknya. Dengan mengetahui manfaat tanaman ini masyarakat menjadi lebih peduli untuk melestarikan tanaman nyamplung agar tidak punah.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan bertempat di Laboratorium Hematologi Poltekkes Bhakti Setya Indonesia Yogyakarta.

1. Bahan dan alat

Bahan: daun *Calophyllum inophyllum*, EDTA, amonium oksalat, natrium sulfat (kristal), NaCl, merkuri klorida, akuades, metanol absolut, zat warna giemsa.

Alat: kaca preparat, *cover glass*, metanol, alkohol 70%, mikroskop, tabung reaksi, rak tabung, soklet, pipet *thoma* eritrosit, kamar hitung *Improved Neubauer*.

2. Prosedur kerja

2.1 Determinasi tanaman *Calophyllum inophyllum*

Determinasi dapat dilakukan dengan mencocokkan ciri morfologis tanaman *Calophyllum inophyllum* terhadap kepustakaan dan dibuktikan oleh laboratorium anatomi dan struktur perkembangan tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada

2.2 Pembuatan serbuk daun *Calophyllum inophyllum*

Daun nyamplung dicuci dengan air kemudian dikeringkan di bawah panas matahari. Daun yang telah kering diblender hingga halus.

2.3 Penyediaan ekstrak

Serbuk kering daun nyamplung sebanyak 200 gr direndam dengan 4 Liter etanol 96% selama 5 hari. Ekstrak cair disaring menggunakan kertas kering kemudian diuapkan menggunakan rotary evaporator sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 15 gr.

2.4 Pengambilan sampel darah

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah darah vena yang dicampur dengan senyawa lain sesuai perlakuan.

2.5 Perlakuan sampel

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rancangan acak lengkap dengan 3 perlakuan, masing masing 10 ulangan. Pengamatan dilakukan 10 menit kemudian setelah sampel diberikan perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan sebagai berikut:

1. Tabung 1: darah kontrol (tanpa perlakuan);
2. Tabung 2 : darah + ekstrak daun *Calophyllum inophyllum* (10 mg/ml darah);
3. Tabung 3 : darah + EDTA (1,5 mg/ml darah) (Wirawan dkk, 1996).

3. Parameter pengamatan

3.1 Pengamatan visual sampel darah

Pengamatan dilakukan secara langsung dengan mengamati apakah sampel darah yang sudah diberi perlakuan mengalami koagulasi atau tidak.

3.2 Pengamatan aktivitas pembekuan darah

Pengamatan ini dapat dilakukan dengan melakukan teknik apusan darah tepi. Langkah pertama adalah ambil darah vena dengan spuit 3 cc. Tempatkan dalam tabung kemudian diberikan masing masing perlakuan yakni darah tidak diberikan antikoagulan, darah dengan

menambahkan EDTA, dan darah dengan penambahan ekstrak daun nyamplung. Ambil darah menggunakan mikropipet kemudian teteskan di atas gelas objek. Ambil gelas objek yang lain, kemudian posisikan tepat di depan tetesan darah tadi. Tarik gelas objek ke belakang hingga menyentuh tetesan darah hingga terbentuk hapusan darah sepanjang 3-4 cm pada kaca obyek. Taruh pada jembatan pengecatan kemudian fiksasi dengan reagen metanol absolut. Biarkan selama 2-3 menit. Genangi sediaan hapus darah dengan zat warna giemsa. Biarkan selama 20-30 menit. Bilas perlahan dengan air mengalir kemudian keringkan. Amati di bawah mikroskop dari perbesaran kecil hingga besar.

3.3 Menghitung jumlah trombosit

Perhitungan jumlah trombosit dilakukan dengan metode *Brecher – Cronkite* yakni mengencerkan darah dengan amonium oksalat yang dapat melisiskan eritrosit sehingga hanya trombosit yang tampak ketika diamati dibawah mikroskop. Trombosit yang mengalami koagulasi akan menumpuk sehingga tidak terhitung sebagai trombosit. Langkah pertama menghitung jumlah trombosit adalah pertama siapkan semua alat dan bahan kemudian ambil darah vena sebanyak 1 ml. Tempatkan dalam tabung kemudian diberikan masing masing perlakuan yakni darah tidak diberikan antikoagulan, darah dengan menambahkan EDTA, dan darah dengan penambahan ekstrak daun nyamplung. Darah vena diencerkan dengan larutan Amonium oksalat 1% kemudian dimasukkan kedalam kamar hitung hingga terisi penuh. Taruh kamar hitung pada mikroskop kemudian dihitung jumlah trombosit pada masing masing kamar hitung (persamaan 1).

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Trombosit} &= N \times Fb \times P \\ &= N \times 10 \times 100 \dots \dots \dots (1) \end{aligned}$$

Keterangan:

- N = Jumlah trombosit dalam 25 R
Fb = faktor bilik hitung (10)
P = pengenceran = 100x

3.4. Menghitung jumlah eritrosit

Menghitung jumlah eritrosit dilakukan untuk mengetahui keadaan morfologi sel darah setelah perlakuan. Langkah pertama menghitung jumlah trombosit adalah pertama siapkan semua alat dan bahan kemudian ambil

darah vena sebanyak 1 ml. Tempatkan dalam tabung kemudian diberikan masing masing perlakuan yakni darah tidak diberikan antikoagulan, darah dengan penambahan EDTA, dan darah dengan penambahan ekstrak daun nyamplung. Darah diencerkan dengan menggunakan larutan hayem. Pipet cairan (reagen + darah) dengan mikropipet kemudian dimasukkan kedalam kamar hitung hingga terisi penuh. Jumlah eritrosit dihitung dengan mikroskop menggunakan faktor konversi jumlah eritrosit per μl darah (persamaan 2).

$$\text{Jumlah eritrosit} = N \times Fb (50) \times P (200) \dots (2)$$

Keterangan:

N : jumlah eritrosit dalam 5R
Fb : faktor bilik hitung
P : pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kegiatan penelitian yang telah dilakukan antara lain mempersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Alat dan bahan yang digunakan antara lain kaca preparat, rak tabung, spuit 5 ml, sarung tangan karet, masker, timbangan, tourniquit, saringan, pipet stoma eritrosit, kamar hitung *improvet neubauer*, cover glass, amonium axalat, larutan hayem, soklet, mikroskop, daun tanaman nyamplung. Tahapan selanjutnya adalah melakukan identifikasi tanaman digunakan dengan mencocokkan ciri morfologis tanaman *Calophyllum inophyllum* terhadap kepustakaan dibuktikan oleh laboratorium Sistematika tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

Kegiatan selanjutnya adalah melakukan pengujian sesuai dengan perlakuan. Adapun perlakuan yang diberikan sebagai berikut:

1. Tabung 1: darah kontrol (tanpa perlakuan)
2. tabung 3 : darah + EDTA
3. Tabung 2 : darah + ekstrak daun *Calophyllum inophyllum*

data hasil pengujian yang telah kami lakukan adalah sebagai berikut:

1. Pengamatan visual sampel darah

Pengamatan visual sampel darah dilakukan dengan mengamati langsung apakah sampel darah yang diberikan perlakuan mengalami penggumpalan atau tidak. Hasil yang didapatkan menunjukkan pada percobaan pertama darah kontrol (tanpa antikoagulan) mengalami penggumpalan. Sementara pada

percobaan kedua yaitu darah yang ditambahkan antikoagulan EDTA tidak terjadi penggumpalan. Menurut Ringler dan Dabich, 1979 dalam Fitri dkk, 2016 menyatakan bahwa waktu koagulasi pada tikus laboratorium berkisar antara 2-5 menit. Hal ini menunjukkan bahwa darah yang tidak diberikan antikoagulan akan mengalami penggumpalan, sementara darah yang diberikan EDTA tidak akan mengalami penggumpalan. EDTA menghambat proses koagulasi dengan mengikat ion kalsium yang dibutuhkan pada proses pembekuan darah.

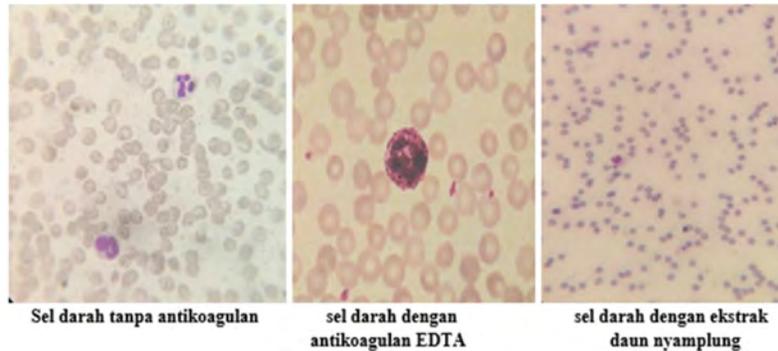
Pada perlakuan pemberian darah ditambahkan ekstrak daun nyamplung tampak darah mengalami pengendapan pada bagian bawah tabung reaksi sementara bagian atas tidak membeku. Hal ini menunjukkan bahwa daya antikoagulan ekstrak daun nyamplung kurang efektif dibandingkan dengan antikoagulan EDTA. Beberapa faktor penyebab kurang efektifnya daun nyamplung sebagai antikoagulan diantaranya penyari ekstrak yang kurang tepat serta sebaiknya ekstrak dibuat dalam bentuk sediaan sehingga bercampur dengan darah untuk meningkatkan keefektifan antikoagulan. Urbain dkk 2005 melakukan ekstraksi terhadap *Peucedanum ostruthium* menggunakan heksan didapatkan empat senyawa kumarin yakni *ostruthin*, *imperatorin*, *ostruthol* dan *oxypeucedanin hidrat*.

2. Pengamatan aktivitas pembekuan darah

Pengamatan ini dilakukan dengan melakukan hapusan darah tepi. hasil yang didapatkan pada hapusan darah tepi tanpa antikoagulan menunjukkan sel darah yang mengelompok, serta bentuk tidak teratur. Hal ini menunjukkan bahwa sel darah telah mengalami kerusakan dan darah mengalami pembekuan karena tidak adanya antikoagulan. Pada perlakuan darah yang diberikan antikoagulan EDTA tampak sel darah berbentuk bulat, tidak saling berikatan. Hal ini menunjukkan bahwa darah tidak mengalami penggumpalan. Hal yang sama di pengamatan sel trombosit pada darah ditambahkan ekstrak daun nyamplung ketika diamati dibawah mikroskop didapatkan sel yang bulat tidak mengelompok sehingga memudahkan dalam menghitung jumlah sel. Menurut Tangkery, dkk (2013) darah yang membeku akan tampak sel yang tidak terpisah satu sama lain, tampak padat berkelompok dan memiliki perifer yang

transparan (mengalami koagulasi). Sel yang tidak mengalami pembekuan akan tampak sel

yang tidak saling berkaitan, berbentuk bulat, dan tidak memiliki inti.



Gambar 2. Morfologi sel trombosit antar perlakuan

Fitokimia merupakan cara yang digunakan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder pada tanaman. Teknik yang umum digunakan di bidang fitokimia termasuk ekstraksi, isolasi, penyuluhan struktural produk alami melalui berbagai teknik kromatografi dan spektroskopi (Phillipson, 2007). Menurut studi fitokimia sebelumnya, *C. inophyllum* dikenal sebagai sumber kumarin (Ito dkk, 2003), *xanthones* (Ito dkk, 2003), *biflavonoid* (Ito dkk, 1999), *chalcone*, benzofuran dan triterpenoid (Ito dkk, 2002). kumarin telah dilaporkan menunjukkan anti-HIV dan sifat anti-kanker kemoterapi. kumarin dan turunannya juga berperan sebagai inhibitor potensial melawan proliferasi seluler pada sel karsinoma (Lacy dan O'Kennedy, 2004). Selain itu, kumarin juga ditemukan untuk menunjukkan sifat lain termasuk antikoagulan, antioksidan, antimikroba, antiviral, antiinflamasi, antimalaria dan analgesik (Sahoo, dkk, 2012). Kumarin ditemukan hampir pada setiap bagian tumbuh tumbuhan yakni pada akar, batang, daun, bunga dan buah (Robinson, 1995 dalam Borhet, dkk, 2016).

Kumarin merupakan salah satu metabolit sekunder pada tumbuhan. Senyawa kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya sebagai anti koagulan darah, antibiotik, dan ada juga yang menunjukkan aktivitas menghambat efek karsinogenik (Agustina dkk (2016) dalam Murray, 1982).Kumarin merupakan senyawa fenilpropanoid yang memiliki cincin lakton lingkaran enam dan memiliki inti 2 H-1-benzopiran-2-on dengan rumus molekul $C_9H_6O_2$. Kumarin dan turunannya banyak memiliki aktivitas biologis diantaranya dapat menstimulasi pembentukan pigmen kulit, mempengaruhi kerja enzim, antikoagulan darah, antimikroba dan menunjukkan menghambat efek karsinogen (Isnawati dkk, 2008 dalam Kusuma, 1997).

3. Menghitung jumlah trombosit

Perhitungan jumlah trombosit dilakukan dengan mengencerkan darah dengan amonium oksalat. Perhitungan jumlah trombosit pada dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Perhitungan jumlah sel trombosit pada setiap perlakuan

| Perlakuan | Jumlah trombosit ($\times 10^3$ sel/ mm^3) | | | | | | | Rerata ($\times 10^3$ sel/ mm^3) |
|--------------------------------------|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | |
| tanpa antikoagulan | 81 | 95 | 104 | 90 | 83 | 105 | 97 | 93,57 |
| dengan antikoagulan EDTA | 216 | 241 | 282 | 263 | 234 | 277 | 246 | 251,29 |
| dengan ekstrak daun nyamplung | 232 | 219 | 240 | 201 | 205 | 204 | 203 | 214,86 |

Keterangan: P = percobaan

Tabel 1 menunjukkan bahwa darah tanpa pemberian antikoagulan memiliki jumlah trombosit yang lebih kecil. Hal ini menyatakan

bahwa sel trombosit mengalami penggumpalan sehingga tidak terhitung sebagai satu sel trombosit. Menurut Sujud, dkk (2015)

penurunan jumlah trombosit yang signifikan akan berpengaruh dalam proses pembekuan darah. EDTA akan mencegah penggumpalan trombosit sehingga jumlahnya akan banyak dibandingkan dengan tidak diberi antikoagulan. Sementara perlakuan darah yang diberikan EDTA memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa EDTA merupakan antikoagulan yang lebih baik dari pemberian ekstrak daun nyamplung. Hal ini disebabkan karena kurang maksimalnya pengambilan zat aktif kumarin didalam ekstrak sebagai senyawa yang menghambat pembekuan darah.

Menurut Garcia dkk., (2016) telah melakukan ekstrak terhadap *Loricaria ferruginea* dengan menggunakan heksan menemukan empat turunan senyawa kumarin. Hal yang sama juga dilakukan oleh Szewczyk dan Bogucka mengekstrak tanaman *Prangos uloptera* untuk mengisolasi senyawa kumarin menggunakan penyari dengan perbandingan hexan: etil asetat 3:1. Arefi, dkk (2012) juga melakukan penelitian tentang isolasi zat aktif

menggunakan pelarut heksan terhadap *Ficus carica*. Hasil yang didapatkan diketahui bahwa 36 senyawa dari hasil ekstrak setelah diidentifikasi menunjukkan 90,56 % merupakan senyawa kumarin.



Gambar 3. Sel trombosit berwarna biru jika diamati dibawah mikroskop

4. Menghitung jumlah eritrosit

Perhitungan jumlah eritrosit dilakukan dengan menggunakan larutan hayem. Perhitungan jumlah eritrosit dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Perhitungan jumlah eritrosit pada setiap perlakuan

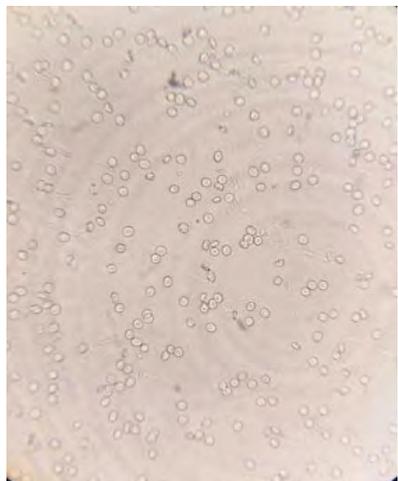
| Perlakuan | Jumlah trombosit ($\times 10^6$ sel/mm ³) | | | | | | | Rerata ($\times 10^6$ sel/mm ³) |
|-------------------------------|--|------|------|------|------|------|------|---|
| | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 | |
| tanpa antikoagulan | 3,39 | 3,91 | 3,70 | 3,64 | 3,34 | 3,49 | 3,23 | 3,53 |
| dengan antikoagulan EDTA | 4,78 | 4,80 | 4,26 | 3,70 | 4,62 | 4,51 | 4,60 | 4,47 |
| dengan ekstrak daun nyamplung | 4,84 | 4,11 | 4,35 | 4,80 | 4,01 | 4,36 | 4,21 | 4,38 |

Keterangan: P = percobaan

Perhitungan jumlah eritrosit dilakukan untuk mengetahui efektivitas antikoagulan dalam mempengaruhi daya awet darah setelah dibiarkan dilingkungan terbuka. Antikoagulan yang efektif akan mempertahankan morfologi sel darah agar tidak rusak. Pada tabel 2 didapatkan hasil bahwa jumlah sel eritrosit paling banyak ditemukan pada perlakuan darah ditambahkan EDTA dibandingkan dengan perlakuan darah dengan penambahan ekstrak daun nyamplung. Hal ini menunjukkan bahwa EDTA lebih efektif sebagai antikoagulan.

Menurut Banfi dkk (2007), *Ethylenediamine tetraacetic acid* (EDTA) adalah asam poliprotik yang mengandung empat gugus asam karboksilat dan dua kelompok amina dengan elektron pasangan tunggal yang mengikat kalsium dan beberapa ion logam lainnya. Kalsium diperlukan untuk berbagai macam reaksi enzim dari koagulasi

dan mencegah pembekuan darah. EDTA merupakan antikoagulan terbaik dalam pengujian hematologi karena dapat mempertahankan morfologi sel darah. EDTA mencegah pembentukan Ca menjadi ion Ca untuk mencegah pembekuan darah. Menurut Mikaelson (1991) larutan antikoagulan mengandung sitrat yang efisien mencegah penggumpalan darah dengan mengikat kalsium dan logam lainnya.



Gambar 4. Sel eritrosit jika diamati dibawah mikroskop

KESIMPULAN

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini yaitu jumlah trombosit pada perlakuan darah ditambahkan ekstrak daun *Calophyllum inophyllum* dengan rata rata 1.759.000 sel/mm³ menunjukkan adanya sifat antikoagulan pada tanaman ini. EDTA lebih efektif menghambat pembekuan darah dibandingkan dengan ekstrak daun *Calophyllum inophyllum*.

Adapun saran dari penelitian ini adalah daun tanaman *Calophyllum inophyllum* yang dibuat dalam bentuk ekstrak sebaiknya dibuat menjadi sediaan dengan melakukan pengeringan ekstrak. Hal ini diharapkan ekstrak akan lebih menyatu dengan darah dalam menghambat aktivitas pembekuan darah. Proses ekstraksi tanaman nyamplung sebaiknya menggunakan penyari heksan agar senyawa aktif kumarin sebagai antikoagulan didapatkan lebih maksimal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu proses penelitian ini sehingga dapat dilaksanakan dengan lancar. Tidak lupa terima kasih diucapkan penulis kepada Yayasan Bhakti Setya Indonesia yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdurrahmad, A. S. (2014). Luka, peradangan dan pemulihan. *Jurnal entropi fakultas MIPA universitas gorontalo*. 1(9): 721-840.

- Arefi, H.L., Massoud, M., Abdekwaheb, F., Mahjoub, A., & Khaked, S., (2012). Chemical composition and antibacterial activity of a hexane extract of Tunisian caprifig latex from the unripe fruit of *Ficus carica*. *Pharmaceutical Biology*. 50(4): 407 – 412
- Borhet, Agustina., Zulfira t., David F.S., Hakun, W.A., Arief W., & Setiyo ,G. (2016). Pengaruh tingkat kepolaran solvent terhadap isolasi xathone dan coumarine pada crude ekstrak daun nyamplung. *Seminar nasional maritim, sains, dan teknologi terapan volume 01*. Politeknik Perkapalan Negeri Surabaya.
- Amritpal, S.S. (2011). Herbalism, phytochemistry and ethnopharmacology. *Science publisher*
- Banfi, S. (2007). The role etylenediamine tetraacetic acid (EDTA) as in vitro anticoagulant for diagnostic surposes. *US national library of medicine national institutes of health*. 45(5):586-576.
- Fitria, L., Lia, L.I., & Indah, R.D. (2016). Pengaruh antikoagulan dan waktu penyimpanan terhadap profil hematologis tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur wistar. *Biosfera*. 33(1).
- Gan, S.Y. (2014). *Chemical constituents from the endemic plant of sarawak, Callophyllum castaneum and their antioxidant activity*. Malaysia: Faculty of science university tenku abdul Rahman.
- Garcia, G.R.M., Lothar, H., & Eric, R.R. (2016). Coumarins of *Loricaria ferruginea*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 26: 471-473.
- Hand, S.T. (1998). *Medical plants in the south pacific*. WHO regional publications western pasific series no 19.
- Isnawati, Ani., Harfia M., & Kamilatunisah. (2008). *Isolasi dan identifikasi senyawa kumarin dari tanaman Artemisia annua L*. Media Litbang Kesehatan volume XVIII No 3.
- Ito, C., Itoigawa, M., Mishina, Y., Filho, V. C., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H. & Furukawa, H., (2002). Chemical

- constituents of *Calophyllum brasiliense*. Structure elucidation of seven new xanthenes and their cancer chemopreventive activity. *Journal of Natural Product*, 65: 267-272.
- Ito, C., Itoigawa, M., Mishina, Y., Filho, V. C., Enjo, F., Tokuda, H., Nishino, H. & Furukawa, H., (2003). Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*. 2. Structure of three new coumarins and cancer chemopreventive activity of 4-substituted coumarins. *Journal of Natural Products*, 66(3): 368-371.
- Koeswardani, B. B. (2001). *Flow cytometri dan aplikasi alat hitung sel darah otomotik teknik H1 dan H3*. Malang: lab patologi klinik FK Unibraw RSUD dr. Syaiful Anwar.
- Lacy, A. & O'Kennedy, R., (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compound to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current Pharmaceutical Design*, 10: 3797-3811.
- Mikaelson. M.E. (1991). *the role of calsiium in coagulation and anticoagulation*. Cluwer Academic Publisher.
- Phillipson, J. D., (2007). Phytochemistry and pharmacognosy. *Phytochemistry*, 68: 2960-2972.
- Sahoo, S. S., Shukla, S., Nandy, S. & Sahoo, H. B., 2012. Synthesis of novel coumarin derivatives and its biological evaluations. *European Journal of Experiment Biology*, 2(4): 899-908.
- Salimin, Z. & Gunandjar. (2006). *Penggunaan EDTA sebagai mencegah timbulnya kerak pada evaporasi limbah radioaktif cair*. Batan: Pusat teknologi limbah radioaktif.
- Sujud., Ratih H., & Anik N. (2015). Perbedaan jumlah trombosit pada darah EDTA yang segar diperiksa dengan penundaan selama 1 jam di laboratorium RSJ Grhasia Yogyakarta. *Medical laboratory technology journal*. 1 (12): 91-95.
- Szewczyk, K. & Bogucka, A. *Analytical Methods for Isolation, Separation and Identification of Selected Furanocoumarins in Plant Material*. Poland: Chair and Department of Pharmaceutical Botany, Medical University of Lublin.
- Tankery, Rober.A.B., Darus.S.P., & Antonius R. (2013). Uji aktivitas antikoagulan ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum*. *Jurnal pesisir dan laut tropis*. 1(1).
- Wirawan, R. & Silman, E. (1996). *Pemeriksaan laboratorium hematology sederhana edisi ke tiga*. Jakarta: Fakultas kedokteran UI.
- Yong fui li. 2015. *Phytochemical and antioxidant studies of Calophyllum sclerophyllum*. Malaysia: Faculty of Science University Tenku Abdul Rahman.
- Zulharmita., Ummil, Kasypiah, Harrizul, & Rivai. (2013). Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun jambu biji (*Psidium guajava* l.). *Jurnal Farmasi Higea*. 5(1):120-127.