

**Uji Aktifitas Antikoagulan Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) Secara *In Vitro*****Martina Kurnia Rohmah¹, Djelang Zainuddin Fickri², Karina Putri Damasari³, Rosidi Azis⁴, Khurin In Wahyuni⁵**^{1,2,3,5}STIKES Rumah Sakit Anwar Medika, Indonesia⁴Universitas Nahdlatul Ulama Blitar, Indonesia

Email: khurinain87@gmail.com

ABSTRAK: Sistem hemostasis yang tidak seimbang akan menyebabkan kelainan patologis. Kelainan patologis yang dapat terjadi yaitu perdarahan spontan karena darah tidak dapat membeku, atau terbentuknya trombus jika koagulasi berlebihan. Salah satu obat yang digunakan untuk mengatasi kelainan tersebut adalah penggunaan obat antikoagulan. Alkaloid diketahui memiliki aktivitas antikoagulan dengan menghambat jalur koagulasi secara ekstrinsik dan intrinsik melalui penghambatan produksi Fxa, trombin dan menghambat TNF- λ yang diinduksi oleh PAI-1. Daun alpukat memiliki sejumlah kandungan alkaloid yang belum banyak diketahui efek farmakologisnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan alkaloid total ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill) sebagai antikoagulan. Penelitian ini merupakan jenis penelitian experimental control study dengan menggunakan kontrol positif (darah + heparin) dan kontrol negatif (darah + etanol). Alkaloid yang telah dipisahkan dari ekstrak etanol daun alpukat dibuat larutan dengan 3 varian konsentrasi yaitu 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml. Penelitian ini dilakukan dengan cara melihat nilai persen (%) inhibisi koagulasi yang dilihat dari nilai CT dengan metode Lee and White. Hasil analisis statistik dengan SPSS dari penelitian ini menunjukkan bahwa data berdistribusi tidak normal (Shapiro Wilk, $P < 0,05$) dan ada beda dengan kontrol positif dan negatif (Kruskal Wallis $P = 0,009$). Dari hasil analisis uji pengaruh menunjukkan bahwa pemberian alkaloid total ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1mg/ml memiliki pengaruh yang signifikan terhadap % inhibisi koagulasi yang ditunjukkan dengan nilai Fhitung = 6,694 (Fhitung > Ftabel) dan $P = 0,019$ ($P < 0,05$). Hasil uji korelasi menunjukkan bahwa hubungan antar konsentrasi bernilai positif namun hubungan tersebut dalam kategori lemah yang ditunjukkan dalam nilai koefisien korelasi 0,145 dan signifikansi sebesar 0,303. Penelitian ini telah menunjukkan bahwa ekstrak alkaloid total daun alpukat memiliki pengaruh terhadap aktivitas antikoagulan.

Kata Kunci : Alkaloid, Inhibisi, Koagulasi, Antikoagulan

ABSTRACT: Imbalance hemostasis system will effect pathological abnormalities. Pathological abnormalities that can occur are spontaneous bleeding because blood can not clot, or if excessive coagulation, it can effect trombus created. One of the drugs used to treat is anticoagulant. Alkaloids are known have anticoagulant activity by inhibit coagulation pathways extrinsically and intrinsically with inhibiting the production of FXa, thrombin and TNF- λ induced by PAI-1. Avocado leaves have some of alkaloid content that is not widely known pharmacological effects. This study purpose is to determine the role of total alkaloids extract of Avocado Leaves (*Persea americana* Mill) as an anticoagulant. This research is an experimental control study using positive (blood + heparin) and negative control (blood + ethanol). Alkaloids, that are separated from the ethanol extract of avocado leaves, are made into a solution with 3 concentrations: 0.1 mg / ml, 0.5 mg / ml and 1 mg / ml. This research conducted by looking at the percentage (%) of inhibition of coagulation that seen from the CT value by the Lee and White method. The statistical analysis results with SPSS indicated that the data are not normally distributed (Shapiro Wilk, $P < 0.05$), and there are differences with positive and negative controls (Kruskal Wallis $P = 0.009$). the results of the influence analysis test showed that total alkaloids administration of avocado leaf extract by concentrations of 0.1 mg / ml, 0.5 mg / ml and 1 mg / ml had a significant effect on% inhibition of coagulation as indicated Fcount = 6.694 (Fcount > F table) and $P = 0.019$ ($P < 0.05$). Correlation test results informed that the relationship between concentrations is positive, but it is weak category shown in the correlation coefficient of 0.145 and a significance of 0.303. This research showed that the total alkaloid extract of avocado leaves has an influence on anticoagulant activity.

Keywords: Alkaloids, Inhibition, Coagulation, Anticoagulants



PENDAHULUAN

Hemostasis merupakan proses didalam tubuh yang bertujuan untuk mempertahankan keenceran darah sehingga darah tetap mengalir dan menutup kerusakan dinding pembuluh darah sehingga mengurangi kehilangan darah pada saat terjadi luka. Hemostasis melibatkan sistem agregasi platelet, sistem koagulasi, dan sistem fibrinolisis. Agar mendapatkan sistem hemostasis yang baik maka ketiga sistem tersebut harus bekerjasama dalam suatu proses yang berkeselimbangan dan saling mengontrol (Bakta, 2006). Sistem hemostasis yang tidak seimbang akan mengakibatkan kelainan patologis. Kelainan patologis yang dapat terjadi yaitu pendarahan spontan karena darah tidak dapat membeku, atau terbentuknya trombus jika koagulasi berlebihan (Dewoto, 2007)..

Antikoagulan adalah obat yang digunakan untuk mencegah 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 atau transfusi (Dewoto, 2007). 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. Salah satu obat antikoagulan yang banyak digunakan adalah heparin. Heparin memiliki aktivitas menghambat pembentukan trombin dan mengikat kalsium yang penting dalam proses pembekuan darah. Heparin memiliki efek samping perdarahan dan dalam penggunaan jangka waktu lama dapat menyebabkan osteoporosis (Katzung, 2014).

Bahan alam dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan tradisional untuk terapi pengobatan pada gangguan hemostasis. Salah satu jenis kelompok senyawa dari bahan alam yang diketahui memiliki aktivitas antikoagulan adalah alkaloid. Mekanisme alkaloid sebagai antikoagulan ialah menghambat jalur koagulasi secara ekstrinsik dan intrinsik melalui penghambatan produksi FXa, trombin, dan menghambat TNF- α yang diinduksi oleh PAI-1 (Ku, et al., 2013). Tanaman alpukat (*Persea Americana* Mill) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat tradisional. Alpukat memiliki bermacam-macam manfaat atau khasiat. Bagian buah famili Lauraceae memiliki kandungan gizi yang tinggi, bagian daun berkhasiat untuk hipertensi dan obat ginjal (Owalabi et al, 2010). Daun alpukat (*Persea americana* Mill) sudah diteliti memiliki kandungan senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid dan polisakarida (Antia et al, 2005). Pada penelitian yang dilakukan (Ganiyu, 2016) didapatkan 33 jenis senyawa alkaloid yang terkandung didalam daun



Artikel Penelitian

alpukat diantaranya adalah Theophylline, Caffeine, dan Atropin. Sebagaimana telah diketahui bahwa alkaloid memiliki aktivitas sebagai antikoagulan, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peranan isolat alkaloid total Daun alpukat sebagai antikoagulan secara in-vitro.

Penelitian ini dilakukan dengan metode Lee-White. Metode Lee-White digunakan untuk menentukan massa pembekuan darah yang diamati secara visual seperti cair, kental, sangat kental dan beku. Darah yang digunakan adalah darah yang didapatkan dari 5 orang wanita dengan kriteria berat badan tidak lebih dari 70 kg, usia 20-25 tahun dan dalam keadaan sehat.

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Terpadu dan Labrotarium Biomedik STIKES Rumah Sakit Anwar Medika yang teletak di di Jln. Bypass Krian KM 33, Sidoarjo – Jawa Timur pada bulan Maret – Juni 2019..

Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun Alpukat (*Persea americana mill folium*) yang di dapatkan dari Materia Medika Batu Malang. Etanol 96%, Asam Sulfat, HCL 2N, Etil Asetat dan aquades. Bahan yang digunakan untuk uji adanya alkaloid pada ekstrak yaitu digunakan pereaksi Mayer, pereaksi Dreagendorf, pereaksi Wagner. Bahan untuk pengambilan sampel darah antara lain Heparin 5000 IU dan alcohol swab. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass, labu ukur, corong pisah, labu ukur, tabung reaksi, micropipet, batang pengaduk, plat tetes, pipet volume, satu set rotary evaporator, neraca analitik botol vial, vortex, aluminium foil dan kertas saring. Alat pengambilan darah, pipet volume, tabung non EDTA, Tourniquet dan alcohol swab.

METODE KERJA

HASIL PENELITIAN

Persiapan Bahan Uji Berupa Isolat Daun Alpukat

a. Pembuatan Serbuk simplisia Daun Alpukat

Sampel berupa serbuk daun Alpukat (*Persea americana mill folium*) didapatkan dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Materia Medika, Jawa Timur. b. Ekstraksi Daun Alpukat, Kemudian maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh Ekstrak kental etanol daun alpukat. c. Isolasi Alkaloid total daun Alpukat Ditimbang 5 gram ekstrak dilarutkan 25 ml etil asetat dan 25 ml etanol, kemudian ditambahkan HCL 2N sampai pH 2, ditambahkan kloroform 25 ml dan aquades sebanyak 7,5 ml dan dimasukkan dalam corong pisah dan dipartisi selama 30 menit.



Setelah dipartisi ditambah kloroform sebanyak 50 ml kemudian dipartisi lagi hingga terbentuk 2 lapisan. Setelah terbentuk 2 lapisan diambil fase atas yang terdapat alkaloid.

Fase atas dituang ke dalam beaker glass kemudian ditambahkan NH_4OH IN hingga mencapai pH 12-13 ditambahkan kloroform 75 ml dimasukkan kedalam corong pisah dan dipartisi selama 30 menit. Hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bawah atau fase kloroform diambil dan diuapkan di waterbath pada suhu 60°C hingga diperoleh isolat alkaloid.

d. Uji Fitokimia Alkaloid

0,5 gram ekstrak etanol ditambahkan HCL 2N sampai pH 2 kemudian ditambahkan kloroform dan aquades dikocok hingga terbentuk 2 lapisan, lapisan atas diuji dengan peraksi wagner, mayer dan dragendorf. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung adanya alkaloid. Pada reaksi dragendorf akan terbentuk endapan merah, pada pereaksi mayer akan terbentuk endapan putih dan pereaksi wagner akan terbentuk endapan coklat (Harbone, 1987)

e. Uji Fitokimia Flavonoid. Beberapa mL ekstrak alkaloid total rimpang lengkuas merah, ditambahkan dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 5 menit, kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 g serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Harborne, 1987).

f. Uji Fitokimia Saponin

Beberapa mL ekstrak alkaloid total rimpang lengkuas merah, ditambahkan:

Pada tahap ekstraksi sampel berupa serbuk halus daun alpukat diekstraksi dengan cara serbuk daun alpukat sebanyak 400 gr di maserasi menggunakan pelarut etanol 96% etanol. Tahap Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, setiap 24 jam dilakukan penyaringan dan dimaserasi kembali. dengan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1 N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil selama kurang lebih 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harborne, 1987).

g. Uji Fitokimia Tanin

Beberapa mL ekstrak alkaloid total rimpang lengkuas merah, ditambahkan dengan 10 tetes FeCl_3 10%. Ekstrak positif mengandung tanin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Harborne, 1987) h. Penetapan Kadar Alkaloid total

Ekstrak kloroform – methanol dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat kemudian dipekatkan dan setelah itu ekstrak ditimbang bobotnya (Y). Ekstrak air – basa diuapkan lalu diekstraksi dengan methanol dan diupkan kembali. Setelah itu dipekatkan dan ditimbang (z).



Preparasi Perlakuan

a. Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan untuk antikoagulan adalah darah dengan penambahan etanol.

b. Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan adalah heparin dengan konsentrasi 100 IU/ml. Sediaan larutan heparin 5000 IU di pipet sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades dan dicampur sampai homogen (Nourma, 2015).

c. Pembuatan Sampel Isolat Alkaloid

Konsentrasi sampel isolat alkaloid total yang digunakan antara lain 0,1mg/ml, 0,5mg/ml dan 1mg/ml. Pembuatan variasi larutan isolat alkaloid dimulai dengan menimbang sebanyak 10 mg kemudian dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 ml. pada pembuatan larutan dengan konsentrasi 0,5 mg/ml diambil sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan etanol ad 10 ml. pada pembuatan larutan dengan konsentrasi 0,1 mg/ml diambil 2 ml dari konsentrasi 0,5 mg/ml kemudian ditambahkan etanol ad 10ml.

d. Preparasi Sampel Darah

Preparasi sampel *whole blood* diambil dari vena sebanyak 1 ml menggunakan spuit steril ukuran 22, *tourniquet*, dan alkohol swab. Darah yang telah diambil dimasukan kedalam tabung vacutiner sesuai dengan yang dibutuhkan. Sampel darah didapatkan dari 5 orang wanita dengan kriteria berat badan tidak lebih dari 70 kg, usia 20-25 tahun dan dalam keadaan sehat.

e. Prosedur Perlakuan Uji Antikoagulan

Pengamatan antikoagulan dilakukan dengan metode Lee White. Metode ini digunakan untuk menentukan masa pembekuan darah yang diamati secara *in vitro*. Adapun prosedur penelitian adalah tabung vacutiner diberi larutan sampel sebanyak 100 µl dan pada tabung yang diberi heparin sebanyak 100µl. Ditambahkan darah sebanyak 1 ml dan di stopwatch setelah diberi darah. Setealah itu didiamkan selama 3 menit dengan posisi tegak. Angkat tabung lalu miringkan. Setelah itu di catat waktu CT setiap 30 detik sekali. Kemudian dihitung % inhibisi koagulasi

Analisis Data

Data % Inhibisi yang mewakili aktivitas antikoagulan di uji secara stastitik menggunakan SPSS 20. Data di uji normalitasnya menggunakan analisis *Shapiro – Wilk*. Jika didapatkan data yang normal dan homogen maka data yang diperoleh merupakan jenis data parametric. Sebaliknya jika data yang diperoleh tidak normal dan tidak homogen maka data merupakan jenis data non parametric. Pada data parametric, analisis pengaruh ekstrak daun alpukat dengan kontrol dilakukan menggunakan uji



Anova *One Way*. Anova dengan tingkat kepercayaan 95 % ($p < 0,05$) kemudian diuji lanjut dengan uji Least Significant Different (LSD) untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara signifikan. Ada tidaknya perbedaan dilihat dari nilai F_{hitung} yang dibandingkan dengan F_{tabel} . Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka H_0 diterima yaitu terdapat perbedaan antar perlakuan. Signifikansi perbedaan dapat dilihat dari nilai $P(Sig)$. Jika $P < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan antar perlakuan.

Pada data non parametric dilakukan uji Kruskal Wallis dan kemudian dilanjutkan Uji Mann Whitney. Uji statistika berikutnya adalah uji pengaruh kadar alkaloid total terhadap adanya aktivitas penghambatan (inhibisi) koagulasi dibandingkan dengan kontrol negatif. Untuk data parametrik dan non parametrik menggunakan analisis data regresi linier dengan melihat nilai F_{hitung} dan nilai signifikansi ($P < 0,05$). Jika $F_{hitung} > F_{tabel}$ dan nilai $P < 0,05$ maka terdapat pengaruh yang signifikan antar variabel terikat dibandingkan dengan kontrol negatif. Nilai R digunakan untuk melihat kebermaknaan atau kekuatan pengaruh sedangkan persamaan $Y = bx + a$ digunakan untuk memprediksi pengaruh variabel bebas dan variabel terikat. Setelah dilakukan uji pengaruh selanjutnya dilakukan uji korelasi atau hubungan antar konsentrasi alkaloid total ekstrak daun alpukat terhadap persen inhibisi koagulasi dengan melihat nilai p dan r .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Identifikasi Tanaman

Tumbuhan yang digunakan untuk penelitian skripsi ini adalah daun alpukat yang di dapatkan dari UPT Materia Medica Batu Malang, Jawa Timur. Hasil identifikasi yang telah dilakukan oleh Balai Materia Medica menyebutkan bahwa daun alpukat mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol, quersetin, dan gula alkohol persiiit

Hasil Ekstraksi Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat

Sampel yang digunakan adalah berupa serbuk kering daun alpukat sebanyak 400 gram kemudian serbuk tersebut dilakukan proses ekstraksi yang dilakukan di Unit Lembaga Penelitian Universitas Airlangga dan didapatkan ekstrak etanol daun alpukat sebanyak 10,100 gram dan diperoleh nilai rendemen sebesar 2,52%. Ekstrak daun alpukat sebanyak 5 gram dilakukan pemisahan kembali dengan metode ekstraksi asam basa untuk mendapatkan alkaloid total. Setelah dilakukan proses pemisahan alkaloid total diperoleh isolat alkaloid total sebanyak 190 mg dengan nilai rendemen sebesar 3,8 %. Hasil alkaloid total yang didapatkan dari 400 gram serbuk secara keseluruhan yaitu sebesar 7,6 %. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia pada alkaloid total ekstrak daun alpukat. Hasil uji fitokimia alkaloid total ekstrak daun alpukat dapat dilihat pada **Tabel 1**.



Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat

Uji		Hasil
Alkaloid	Mayer	+
	Wagner	+
	Dragendrof	+
Flavonoid		-
Saponin		-
Tanin		-

Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat

Hasil yang didapatkan dari uji aktivitas antikoagulan alkaloid total ekstrak daun alpukat dapat dilihat pada **Tabel 4.2 Gambar 4.1** Hasil dari uji Shapiro Wilk didapatkan bahwa data berdistribusi tidak normal ($P < 0,05$) dengan nilai $P = 1,000; 1,000; 0,525; 0,050; 0,001$ pada tiap kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, konsentrasi 0,1 mg/ml, konsentrasi 0,5 gml, dan konsentrasi 1mg/ml. Uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,003 yang menunjukkan ada perbedaaan yang signifikan.

Dalam penelitian ini untuk uji aktivitas masih menggunakan alkaloid total dan belum di identifikasi senyawa alkaloid didalamnya. Berdasarkan literatur bahwa dalam daun alpukat terdapat 33 jenis senyawa alkaloid dan termasuk dalam golongan alkaloid piridin, indool dan tropana (Ganiyu,2006) yang diduga memiliki aktivitas sebagai antikoagulan dengan menghambat proses polimerisasi (Ku *et al*, 2016).

Tabel 2 dan Gambar 1 menunjukkan bahwa rata rata terbesar terdapat pada kelompok kontrol positif sebesar 100. Pada kelompok konsentrasi alkaloid total ekstrak daun alpukat, memiliki pengaruh daya hambat aktivitas antikoagulan terbesar ditemukan pada konsentrasi 0,5mg/ml yaitu sebesar 29,946. Rata rata daya hambat pada konsentrasi 0,1 mg/ml sebesar 17,482 dan pada konsentrasi 1 mg/ml memiliki rata rata daya hambat sebesar 23,45. Tabel 2 menunjukkan nilai dari hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* menunjukkan $P > 0,05$ tetapi pada konsentrasi 1 mg/ml menunjukkan nilai $P < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa data perlakuan dan kontrol berdistribusi tidak normal. Sehingga data tersebut termasuk data non parametrik setelah uji normalitas dilakukan dilanjutkan uji beda Kruskal Wallis dengan taraf signifikansi 95%. Berdasarkan hasil uji Kruskal Wallis diperoleh nilai sigifikansi sebesar 0,001 $P < 0,05$ sehingga H_0 diterima yang artinya “Ada Perbedaan persentase inhibisi koagulai pada pemberian alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) secara *in vitro*.”



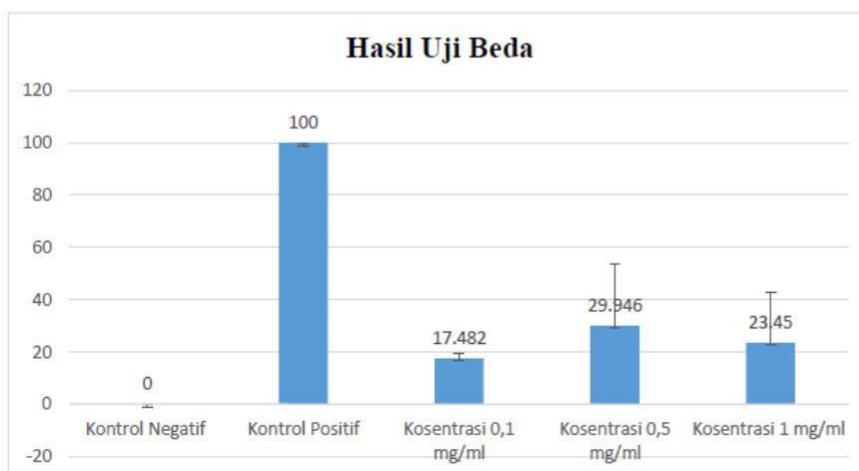
Tabel 4.2 Hasil Analisis Normalitas Perbedaa Rata- Rata Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat Berdasarkan Konsentrasi dan Kontrol Terhadap % Inhibisi Koagulasi

No	Perlakuan	Mean±SD	Sig
1	Kontrol Negatif	0,00± 0,00	1,000
2	Kontrol Positif	100,00 ± 0,00	1,000
3	Kosentrasi 0,1 mg/ml	17,48 ± 1,83	0,525
4	Kosentrasi 0,5 mg/ml	29,95 ± 23,96	0,050
5	Kosentrasi 1 mg/ml	23,45 ± 19,56	0,001

*Shapiro Wilt Test: $P = 0,001$ ($p < 0,05$); ditribusi data tidak normal

*Kruskall Wallis: $P = 0,003$ ($p < 0,05$; ada perbedaan yang signifikan

$F_{hitung} = 6,694$, $F_{tabel} = 4,41$ ($F_{hitung} > F_{tabel}$)



Gambar 4.1 Efek Aktivitas Antikoagulan Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat Terhadap Waktu Penggumpalan Darah Secara In Vitro.

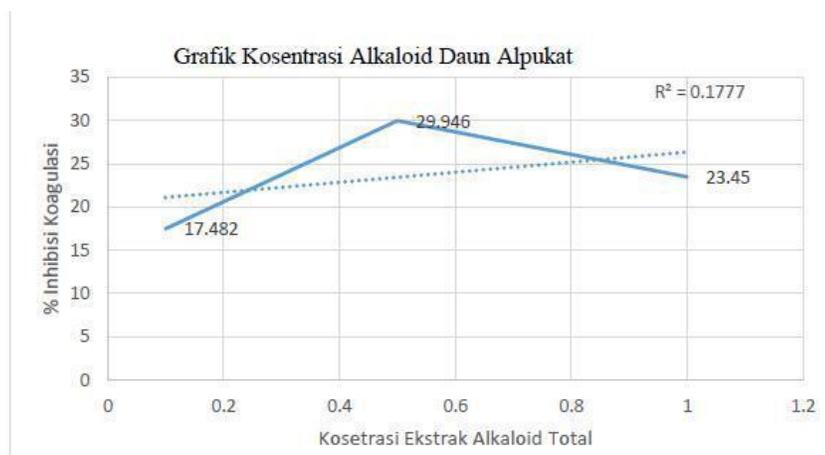
Hasil Uji Pengaruh Aktivitas Antikoagulan Kosentrasi Alkaloid Total Ekstrak Daun Alpukat Terhadap % Inhibisi Koagulasi dibandingkan dengan Kontrol Negatif

Berdasarkan hasil uji regresi diketahui bahwa alkaloid total ekstrak daun alpukat dengan kosentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml memiliki pengaruh yang signifikan tehaadap persen inhbisi koagulasi. Berdasarkan hasil dari uji regresi linier diperoleh nilai Fhitung sebesar 6,694 dan Ftabel sebesar 4,41 ($F_{hitung} > F_{tabel}$) sehingga dapat dinyatakan ada pengaruh pada pemberian alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea Americana Mill*) dengan kosentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml terhadap persentase inhibisi koagulasu secara *in vitro* dengan nilai signifikansi $P < 0,05$ yang artinya ada pengaruh yang signifikan. Berdasarkan nilai Fhitung dan signifikansi maka H_a diterima dan H_o ditolak yang artinya “ ada pengaruh pemberian isolat alkaloid



total ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml terhadap % inhibisi koagulasi secara *in vitro*". Grafik persamaan regresi alkaloid total ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 0,1mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml terhadap kontrol negatif ditunjukkan pada **Gambar 2**

Adapun kebermaknaan pengaruh dari alkaloid total ekstrak daun alpukat terhadap persen inhibisi koagulasi yaitu berpengaruh dengan kategori sedang yang dengan nilai (R) sebesar 0,521 dengan persamaan regresi $y = 8,281x - 2,984$



Gambar 2 Hasil Uji Pengaruh Kosentrasi Alkaloid Toatal Ekstrak Daun Alpukat terhadap Persen Inhibisi Koagulasi dibandingkan dengan Kontrol Negatif

Hasil Uji Korelasi Antar Kosentrasi Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat terhadap persen inhibisi koagulasi

Berdasarkan hasil uji korelasi diperoleh bahwa hubungan antar konsentrasi bernilai positif hubungan tersebut dalam kategori lemah yang ditunjukkan dalam nilai koefisien korelasi 0,145 dan signifikansi sebesar 0,303 yang ditunjukkan pada **Gambar 3**. Analisis statistik dan grafik yang ditunjukkan pada **Gambar 3** dapat diketahui bahwa hubungan antar konsentrasi alkaloid total ekstrak daun alpukat terhadap persen inhibisi koagulasi pada rentang konsentrasi 0,1 mg/ml - 0,5 mg/ml terlihat peningkatan aktivitas tetapi terjadi penurunan aktivitas pada rentang konsentrasi 0,5 mg/ml - 1mg/ml.



Gambar 3 Hasil Uji Korelasi antar Kosentrasi Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat Terhadap Persen Inhibisi Koagulasi



Hasil yang didapatkan pada uji aktivitas berupa waktu CT terhadap persen inhibisi koagulasi pada rata rata konsentrasi alkaloid total ekstrak daun alpukat menunjukkan waktu koagulasi lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kontrol positif waktu koagulasi lebih lama dibandingkan dengan kontrol negatif hal ini menunjukkan bahwa alkaloid total ekstrak daun alpukat dapat memperpanjang waktu koagulasi.

Dari penelitian ini parameter yang diamati adalah persen inhibisi koagulasi. Persen inhibisi koagulasi diamati untuk melihat pengaruh ekstrak alkaloid total daun alpukat terhadap proses pembekuan darah. Dari hasil yang didapat pada uji regresi linier nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ hal ini menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan pada pemberian alkaloid total daun alpukat ($P < 0,05$) dan pada uji regresi alkaloid total ekstrak daun alpukat memiliki pengaruh sedang terhadap proses inhibisi koagulasi. Dari hasil uji korelasi diperoleh hubungan yang lemah antar konsentrasi. Pada penelitian sebelumnya ekstrak alkaloid total dapat menghambat agregasi trombosis yang diinduksi trombin dalam rentang IC_{50} 0,175 (Zhang et al, 2016). Pada penelitian ini pada rentang konsentrasi 0,1 -0,5 mg/ml terjadi peningkatan aktivitas tetapi pada rentang konsentrasi 0,5- 1 mg/ml terjadi penurunan aktivitas.

Potensi antikoagulan yang dimiliki oleh alkaloid total ekstrak daun alpukat, diduga karena adanya senyawa aktif dari golongan alkaloid yang terkandung didalamnya. (Ku et al, 2016) menyatakan bahwa senyawa fitokimia golongan alkaloid dapat dimanfaatkan sebagai antikoagulasi. Sementara itu menurut (Ganiyu dkk, 2006) menyebutkan bahwa daun alpukat mengandung alkaloid indool, piridin dan tropana. Alkaloid berpotensi sebagai sumber obat yang berlimpah dan berefek farmakologis yang beragam. Sifat fisika- kimia yang bersifat semipolar dan mampu berinteraksi dengan membran sel. Kontribusi atom amina N didalam struktur memberikan efektivitas interaksi kimiawi dengan reseptor (Syarifudin, 2014). Senyawa alkaloid sendiri bekerja menghambat atau memperpanjang aktivitas thrombin dan faktor Xa serta menghambat polimerisasi fibrin menjadi thrombin. Alkaloid juga memperpanjang proses CT (Clotting Time) (Ku et al., 2016). Alkaloid jenis piridin, indool dan tropana memiliki keidentikan atom amina N dengan obat Heparin terlihat bahwa dalam heparin terdapat gugus farmakoforo yaitu gugus amina N dalam rantai glikosaminoglikan dimana gugus amina dalam senyawa heparin memberikan interaksi kimiawi dengan reseptor untuk memberikan aktivitas antikoagulan. Glikosaminoglikan (GAG) dapat membentuk ikatan dengan beberapa faktor pembekuan darah seperti antitrombin III dan protein protease C (Lozzo, 2001). Serta ditunjang dengan adanya gugus haptofor seperti O, OH dan COOH sehingga memiliki aktifitas kuat dan membentuk ikatan kompleks sebagai antikoagulan.



Struktur alkaloid piridin, indool dan tropana dapat dilihat juga memiliki kasamaan spesifisitas gugus farmakofor yaitu gugus amina N yang bertanggung jawab berikatan dengan reseptor sedangkan adanya gugus yang lain akan mempengaruhi kekuatan ikatannya. Pada hasil pengujian aktivitas antikoagulan pada rentang konsentrasi 0,1 -0,5 mg/ml terjadi peningkatan aktivitas tetapi pada rentang konsentrasi 0,5-1 mg/ml terjadi penurunan aktivitas. Pada penelitian ini ekstrak yang digunakan adalah alkaloid total sehingga tidak diketahui senyawa alkaloid apa yang memiliki aktivitas sebagai antikoagulan. Seluruh pengujian dilakukan menggunakan metode *in vitro*, sehingga perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antikoagulan yang dimiliki alkaloid total ekstrak daun alpukat.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa

1. Alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) memiliki aktivitas sebagai antikoagulan
2. Alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml memiliki pengaruh terhadap nilai % inhibisi koagulasi. Pada penelitian ini alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill) dengan konsentrasi 0,5 mg/ml memberikan pengaruh antikoagulan yang paling maksimal .
3. Hasil uji korelasi pearson menunjukkan pada rentang konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml dan 1 mg/ml memiliki hubungan yang saling berkaitan tetapi bersifat lemah

. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait identifikasi jenis jenis senyawa pada alkaloid total ekstrak daun alpukat (*Persea americana* Mill).
2. Perlu penambahan perlakuan untuk melihat tren hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan persen inhibisi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang terkait dengan penelitian ini. Ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada pihak STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo yang memberikan fasilitas untuk menunjang pelaksanaan penelitian ini.



DAFTAR PUSTAKA

1. Antia, BS. Je Okokon. dan PA Okon. 2005. *Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of Persea americana Mill.* Research Letter, Volume 37, Issue 5, Page 325-326
2. Bakta, I. M. 2006. *Hematologi Klinik Ringkas.* Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
3. Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Edisi 4, terjemahan Kosasih P dan Soediro L.* Bandung: Institut Teknologi Bandung
4. Katzung, B. G. 2014. *Farmakologi Dasar dan Klinik.* Edisi 8. Jakarta: Salemba Medika.
5. Ku, S., Lee, I., Kim, J. A., & Bae, J. 2013. Fitoterapia Antithrombotic Activities Of Pellitorine In Vitro And In Vivo. *Fitoterapia, 91*, 1–8.
6. Lozzo RV, Antonio JD.2001. *Heparen Sulfate Proteglycans: Beavy Bitters In The Angiogenesis Arena.* Journal Clinical Investigation 10 ; 349-55
7. Nourma, A. R. 2015. Uji Aktivitas *in vitro.* Antiplatelet dan Antikoagulan Fraksi N-Heksan Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). *Skripsi.* Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember