

**UJI AKTIVITAS EKTRAK ETANOL 96% RIMPANG
LENGKUAS MERAH (*Alpinia Purpurata Rhizoma*)
SEBAGAI ANTIKOAGULAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

Untuk Memenuhi Persyaratan
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi



Oleh:

Zanu Rama Lehana

16020201085

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA**

2020

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL 96% RIMPANG
LENGKUAS MERAH (*Alpinia Purpurata Rhizoma*) SEBAGAI
ANTIKOAGULAN SECARA IN VITRO**

SKRIPSI
diajukan oleh:

Zanu Rama Lehana
16020201085

Sidoarjo, 30 Juli 2020
telah dipertahankan di depan tim penguji
dan dinyatakan memenuhi syarat,

Menyetujui,

Dosen Pembimbing I



Martina Kunia Rohmah, S.Si., M.Biomed
NIDN. 07010489022

Dosen Pembimbing II



apt. Arista Wahyu Ningsih, M.Si
NIDN. 0727038805

Dosen Penguji I



apt. Djelang Zainuddin Fickri, M. Farm.Klin
NIDN. 07220108701

Dosen Penguji II




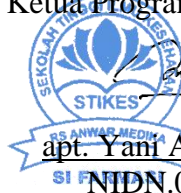
apt. Yani Ambari, M.Farm
NIDN. 07030187005

Ditetapkan di : Sidoarjo

Tanggal : 16 September 2020

Mengetahui,

Ketua Program Studi S1 Farmasi

apt. Yani Ambari, M.Farm.
NIDN.07030187005

PERNYATAAN ORISINAL SKRIPSI

Saya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : ZANU RAMA LEHANA
Tempat & Tanggal Lahir : Mojokerto, 25 Januari 1997
Alamat : Dusun Kenongo RT 05/ RW01, Desa Mlirip,
Kecamatan Jetis, Kabupaten Mojokerto
Nomor Induk Mahasiswa : 16020201085
Program Studi : S1-FARMASI
Angkatan : 2016
Nomor Telp. Rumah : -
Nomor HP : 089677003526

Dengan ini saya menyatakan yang sebenarnya:

1. Bahwa naskah skripsi ini benar-benar orisinal, dan baru, dibuat oleh saya sendiri;
2. Bahwa saya tidak menjiplak karya ilmiah milik orang lain;
3. Bahwa naskah ini sepengetahuan saya belum ada yang membuat atau telah dipublikasikan atau pernah ditulis dan / atau diterbitkan oleh orang lain;
4. Bahwa setiap pendapat orang lain yang saya kutip, selalu saya cantumkan sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila pernyataan saya tidak benar dan dikemudian hari ternyata ada pihak lain yang mengklaim sebagai tulisannya yang saya jiplak, maka saya akan mempertanggungjawabkan sendiri tanpa melibatkan dosen pembimbing dan/ ataupun Program Studi S1-Farmasi STIKES Rumah Sakit Anwar Medika.

Sidoarjo, 14 September 2020

Yang menyatakan,



ZANU RAMA LEHANA

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan limpahan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS EKTRAK ETANOL 96% RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia Purpurata Rhizoma*) SEBAGAI ANTIKOAGULAN SECARA *IN VITRO***” dapat diselesaikan. Skripsi ini untuk memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang Farmasi di STIKes Rumah Sakit Anwar Medika.

Proposal Skripsi ini dapat diselesaikan atas bimbingan, pengarahan, dan bantuan banyak pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua, ayahanda tercinta Bapak Soleh dan ibunda tersayang Ibu Umiana yang telah memberikan dukungan baik moril maupun materil serta doa yang tiada henti-hentinya kepada penulis.
2. Prof. Dr. H. Achmad Syaharani, Apt., MS selaku Guru Besar STIKes Rumah Sakit Anwar Medika.
3. Dr. Abd. Syakur, M.Pd selaku Ketua STIKes Rumah Sakit Anwar Medika.
4. Ibu Yani Ambari, S. Farm., M.Farm., Apt selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi.
5. Ibu Martina Kurnia Rohmah, S Si., M Biomed selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dalam penyelesaian skripsi ini.
6. Ibu Arista Wahyu Ningsih, S Farm, M Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan dalam penyelesaian skripsi ini.
7. Ibu Acievrinda selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan pengarahan dan bimbingan selama masa perkuliahan.
8. Seluruh jajaran Dosen dan Tenaga Kependidikan STIKes Rumah Sakit Anwar Medika yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.
9. Rekan Rima Via Angraini yang telah memberi semangat untuk mengerjakan skripsi
10. Teman-Teman S1 Farmasi angkatan 2016 yang telah senantiasa memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penulisan Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu saran dan kritik dari pembaca sangat diharapkan. Semoga proposal skripsi ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan. Semoga Allah SWT memberikan pahala yang berlipat ganda kepada semua pihak yang bermanfaat bagi penulis, masyarakat, dan pengetahuan. Amin.

Sidoarjo, 14 September 2020

Penulis

UJI AKTIVITAS ANTIKOAGULAN EKSTRAK ETANOL 96% RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) SECARA *IN VITRO*

ABSTRAK

Hemostasis merupakan salah satu faktor yang dapat meningkatkan resiko penyakit kardiovaskular dan stroke iskemia. Salah satu obat yang digunakan untuk mengatasi hal ini adalah penggunaan antikoagulan yang dapat menghambat koagulasi untuk mengurangi bekuan dan sumbatan dalam pembekuan darah. Heparin merupakan salah satu obat antikoagulan yang memiliki kelemahan berupa resistensi yang justru dapat meningkatkan resiko penyakit Stroke Iskemia. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi bahan alam berupa Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) sebagai antikoagulan. Penelitian ini merupakan jenis penelitian experimental control study dengan menggunakan kontrol negatif (darah + placebo) dan kontrol positif (darah +heparin). Ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah lalu dibuat dengan 3 variasi konsentrasi yaitu 0,1, 0,2, dan 0,3 mg/ml. Penelitian dilakukan dengan cara melihat persen (%) inhibisi koagulasi yang dilihat dari nilai Clotting Time (CT) dengan Metode Lee and White dan APTT serta PT. Hasil analisis statistik dengan SPSS menunjukkan bahwa data berdistribusi normal (Shapiro Wilk, $p > 0,05$) dan ada beda dengan kontrol negatif dan positif (One way Anova, $F_{hitung\ CT} = 2066$; $F_{hitung\ APTT} = 4,202$; ; $F_{hitung\ PT} = 5,504$ dan $p = 0,000$). Analisis pengaruh (Regresi linier) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 96% 0,1, 0,2, dan 0,3 mg/ml memiliki pengaruh yang signifikan terhadap % inhibisi koagulasi yang ditunjukkan dengan nilai ($F_{hitung} > F_{tabel}$) dan $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Dengan uji korelasi Pearson diketahui bahwa terhadap pola hubungan yang berlawanan antara konsentrasi alkaloid total 0,1, 0,2, dan 0,3 mg/ml yang artinya makin tinggi konsentrasi etanol 96%, maka makin rendah % inhibisi koagulasi. Penelitian ini telah membuktikan bahwa terhadap aktivitas antikoagulan yang signifikan dari ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah secara *in vitro*. Perlu ada penelitian lebih lanjut untuk melihat jalur koagulasi yang dipengaruhi, uji aktivitas fraksi alkaloid total, dan aktivitas antikoagulan alkaloid total rimpang lengkuas merah secara *in vivo*.

Kata Kunci: Ekstrak, Inhibisi, Koagulasi, Antikoagulan, aPTT dan PT

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN ORISINAL SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	Error! Bookmark not defined.
ABSTRAK	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN	x
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Hipotesis Masalah	5
1.4 Tujuan Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II	8
2.1 Hemostasis	8
2.2 Pembekuan Darah (Koagulasi).....	9
2.4 Jalur Intrinsik.....	11
2.5 Jalur Ekstrinsik.....	12
2.6 Jalur Bersama	12
BAB III	20
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	20
3.2 Jenis Penelitian.....	21
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	21
3.5 Metode Kerja.....	22
3.6 Penjaringan Subjek.....	25
3.7 Prosedur Perlakuan Pengambilan Sampel Darah Pasien.....	25
3.8 Analisis Data	27
BAB IV	29
4.1 Hasil Identifikasi Tumbuhan.....	29
4.2 Hasil Ekstrak Etanol 96% dan Uji Fitokimia Rimpang Lengkuas Merah 29	
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan Berdasarkan Nilai CT	30
4.4 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai APTT	32

4.5 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT	33
BAB V	35
BAB VI	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme Koagulasi	9
Gambar 2.2	Struktur Kimia Heparin	13
Gambar 2.3	Struktur Kimia Warfarin.....	14
Gambar 2.4	Tanaman Lengkuas Merah	15
Gambar 2.5	Struktur Dasar Alkaloid.....	16
Gambar 2.6	Mekanisme Alkaloid sebagai Antikoagulan.....	17
Gambar 3.1	Kerangka Konsep Penelitian	20
Gambar 4.1	Grafik Persentase Inhibisi Koagulasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Terhadap Waktu Penggumpalan Darah Secara InVitro.....	29
Gambar 4.2	Grafik Pengaruh Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Dengan Konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, Dan 0,3 mg/ml.....	32
Gambar 4.3	Grafik Hasil Analisis Uji Hubungan Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai CT.....	33
Gambar 4.4	Grafik Waktu Koagulasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai APTT Secara In Vitro.....	34
Gambar 4.5	Grafik Waktu Koagulasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT Secara In Vitro.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Faktor pembekuan darah.....	10
Tabel 3.1 Standar Nilai Normal Pengukuran Kondisi Fisik Subjek Penelitian.....	23
Tabel 3.2 Tabel Analisis Data.....	24
Tabel 4.1 Uji Fitokimia Hasil Ekstraksi Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah.....	28
Tabel 4.2 Hasil Rata-Rata Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Terhadap % Inhibisi Koagulasi Berdasarkan Nilai CT.....	29
Tabel 4.3 Hasil Analisis Uji Normalitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai CT.....	31
Tabel 4.4 Hasil Analisis Uji LSD Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai CT.....	33
Tabel 4.5 Hasil Analisis Uji Normalitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai APTT.....	35
Tabel 4.6 Hasil Analisis Uji LSD Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai APTT.....	35
Tabel 4.7 Hasil Analisis Uji Normalitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT.....	36
Tabel 4.8 Hasil Analisis Uji Beda <i>Oneway Anova Test</i> Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT.....	36
Tabel 4.9 Hasil Analisis Uji LSD Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT.....	37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1

DAFTAR SINGKATAN

ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
aPTT	: <i>activated Partial Thromboplastin Time</i>
AT-III	: <i>Anti Trombin-III</i>
HMWK	: <i>high molecular weight kininogen</i>
HUVEC	: <i>human umbilical vein endothelial cell</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
Ion Ca ²⁺	: <i>Ion Kalsium</i>
Kaskade	: <i>Reaksi Berangkai</i>
LSD	: <i>least significantly difference</i>
PAI-1	: <i>Plasmin Activator Inhibitor-1</i>
PK	: <i>Prekallikrein</i>
PL	: <i>Phospholipid</i>
PT	: <i>Prothrombin Time</i>
TF	: <i>Tissue factor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Faktor-α</i>
TX-A ₂	: <i>Tromboksen yang teraktivasi</i>
TPA	: <i>Tissue Plasminogen Activator</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hemostasis merupakan suatu proses yang kompleks untuk mengontrol perdarahan yang bertujuan untuk mempertahankan keenceran darah agar tetap mengalir dalam pembuluh darah (Bowman dan Rand, 2008). Dalam proses ini pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi untuk menghentikan darah yang keluar, proses hemostasis meliputi pembentukan (agregasi platelet), proses pembekuan darah (koagulasi), dan lisis bekuan (fibrinolisis). Sistem agregasi platelet, koagulasi, fibrinolisis terjadi secara alami dalam kondisi normal tubuh apabila terjadi luka (Murray *et al.*, 2003).

Salah satu sistem yang berperan di dalam hemostasis adalah tahap koagulasi. Tahap koagulasi ada dua yaitu jalur ekstrinsik dan jalur intristik. Jalur ekstrinsik memerlukan faktor-faktor III, IV, dan VII untuk mengaktivasi faktor X. Faktor X aktif bersama faktor V aktif (diaktivasi trombin), Ca^{2+} , dan fosfolipid mengaktivasi protrombin menjadi trombin. Trombin bersama Ca^{2+} mengubah fibrinogen menjadi fibrin yang berupa monomer. Fibrin monomer ini oleh faktor XIII aktif (diaktivasi oleh trombin bersama Ca^{2+}) diubah menjadi fibrin padat yang berupa polimer (Rosmiati dan Gan, 2007). Faktor jaringan tidak terdapat di dalam darah, maka faktor ini merupakan faktor ekstrinsik koagulasi, dengan demikian disebut juga koagulasi jalur ekstrinsik (Baldy, 2005). Jalur intrinsik diawali dengan keluarnya plasma atau kolagen melalui pembuluh yang rusak, sedangkan jalur ekstrinsik merupakan jalur yang diprakarsai oleh masuknya tromboplastin jaringan kedalam sirkulasi darah (Kiswari R, 2014). Pada jalur intrinsik, faktor-faktor XII, XI, dan IX harus diaktivasi secara berurutan sebelum faktor X dapat diaktivasi. Zat-zat lain juga sangat diperlukan seperti prakalikein (proenzim berubah menjadi kallikrein, enzim aktif yangterlibat dalam proses pembekuan dan pengaturan tekanan darah) serta HMWK (*High Molecular Weight Kininogen - Fitzgerald Factor*) serta ion kalsium. Sejumlah kondisi yang dapat menyebabkan hiperkoagulasi melalui jalur ini antara lain mutasi pada gen Prothrombin (Bani-Hani, 2014), peningkatan jumlah fibrinogen akibat disfungsi fibrinogen (dysfibrinogenemia) (Hayes, 2002), Sindrome Antiphospholipid Antibody,

Peningkatan Faktor VIII, gangguan *Tissue Plasminogen Activator (TPA)*, dan peningkatan *Plasmin Activator Inhibitor-1 (PAI-1)* (Thomas, 2001). Adanya gangguan seperti penyakit Diabetes Mellitus juga dapat mengganggu hemostasis yang mengarah pada hiperkoagulasi sebab meningkatkan kadar insulin dan glukosa darah menyebabkan peningkatan aktivitas Faktor VII, XI, dan XII (Carr, 2001). Jalur ekstrinsik dan intrinsik akan bertemu pada jalur bersama (Baldy, 2005). Pada akhirnya dua jalur tersebut akan menyatu pada jalur bersama dimana faktor IX yang aktif dan faktor VII yang aktif dibantu dengan faktor VIII, fosfolipid dan ion Ca^{2+} akan mengaktifkan faktor X (Kiswari R, 2014).

Ketidakeimbangan sistem hemostasis akan mengakibatkan kelainan patologis. Kelainan patologis yang dapat terjadi yaitu berupa peningkatan aktivitas pembekuan darah yang menimbulkan terbentuknya trombus (sumbatan) (Dewoto, 2007). Trombus merupakan gumpalan darah yang terbentuk pada dinding pembuluh darah dan berfungsi sebagai sumbat hemostatik pada saat terjadi luka atau kerusakan jaringan. Trombus terdiri dari platelet yang teragregasi dan benang fibrin. Trombus dapat terbentuk pada vena, arteri dan jantung (Bain, 2012). Meningkatnya aktivitas pembekuan darah (thrombosis) yang dipicu oleh hiperagregasi, hiperkoagulasi dan kegagalan lisis bekuan menyebabkan peningkatan jumlah trombus dan menimbulkan adanya sumbatan (Dewoto, 2007). Adanya trombus (sumbatan) akan memicu penyakit seperti infark miokard (serangan jantung) (Grice *et al.*, 2009), Stroke Iskemia (jumlah darah dalam otak berkurang akibat sumbatan) (Hanson, 2012), Penyakit vaskular, atherosklerosis (Lioudaki dan Ganotakis, 2010), Gagal Ginjal Kronis (Lutz *et al.*, 2014), Atrial Fibrilasi (irama denyut jantung yang tidak normal) (Isnanta *et al.*, 2008).

Pemicu terjadinya hiperkoagulasi yang menyebabkan adanya peningkatan trombus (thrombosis) dan sumbatan dapat disebabkan oleh faktor internal maupun eksternal. Faktor internal biasanya berkaitan dengan gangguan genetik dan fisiologi seseorang, sedangkan faktor eksternal dapat berasal dari kondisi klinis akibat penyakit lain. Faktor internal pemicu hiperkoagulasi antara lain: mutasi pada gen Prothrombin (Bani-Hani, 2014), peningkatan jumlah fibrinogen akibat disfungsi fibrinogen (dysfibrinogenemia) (Hayes, 2002), Sindrome Antiphospholipid Antibody, Peningkatan Faktor VIII, gangguan *Tissue Plasminogen Activator (TPA)*, dan peningkatan *Plasmin Activator Inhibitor-1 (PAI-1)* (Thomas, 2001).

Faktor eksternal dapat dipicu oleh kanker (Mirshasi *et al.*, 2015), Diabetes Mellitus (Carr, 2001), Obesitas (Blokhin dan Lentz, 2013), Trombosis (Bick *et al.*, 1998), Trombositemia (Durachim, 2018).

Salah satu terapi pengobatan untuk mengatasi peningkatan pembekuan darah yaitu dengan menggunakan obat-obatan antitrombosis yang meliputi antiplatelet, antikoagulan, dan trombolitik (Gross dan Weitz, 2009). Obat yang banyak digunakan untuk mengatasi gangguan hemostasis adalah golongan Antikoagulan. Obat golongan antikoagulan adalah zat-zat yang dapat mencegah pembekuan darah dan digunakan pada keadaan pembekuan darah meningkat. Sehingga antikoagulan dapat digunakan sebagai salah satu agen dalam tatalaksana terapi penyakit kardiovaskular diantaranya menggunakan antikoagulan (Ikawati, 2011).

Antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah yang umum digunakan di klinik ataupun laboratorium. Antikoagulan diperlukan untuk mencegah meluasnya trombus dan emboli serta untuk mencegah bekunya darah pada pemeriksaan laboratorium atau transfusi (Tangkery, 2013). Salah satu obat antikoagulan yang sering digunakan adalah heparin. Heparin bekerja sebagai inhibitor faktor Xa yang menghambat proses pembekuan yang dapat digunakan sebagai agen antikoagulan (Black *et al.*, 2013), dan heparin berperan sebagai antikoagulan yang berikatan dengan faktor IX dan XI, namun interaksi yang paling berperan adalah dengan plasma antitrombin dan faktor III (Murray *et al.*, 2003).

Beberapa evaluasi menunjukkan bahwa heparin memiliki efek samping pembentukan hematoma jika pemberian melalui subkutan dan dapat menimbulkan perdarahan berlebihan pada pasien dengan penyakit hemofilia dan iskemik stroke (Katzung, 2014). Pengguna heparin jangka panjang juga menyebabkan perdarahan besar sebanyak 4 % dan lebih dari 14 % membutuhkan transfusi darah (Moscucci *et al.*, 2003). Resistensi yang terjadi pada obat Heparin dapat meningkatkan resiko kejadian Stroke Iskemia berulang bahkan kematian pada pasien. Resistensi pada Heparin terjadi karena adanya peningkatan konsentrasi Faktor VIII. Kelemahan efek samping terapi heparin yang telah dipaparkan dapat menjadi dasar pencarian alternatif obat baru yang dapat memperpanjang waktu pembekuan darah (Georgiadis *et al.*, 2010).

Berdasarkan efek samping di atas perlu dilakukan eksplorasi terkait dengan kandidat obat alternatif antikoagulan. Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) Famili Zingiberaceae yang memiliki kandungan senyawa alkaloid (Manohara *et al.*, 2004). Jenis alkaloid yang terkandung dalam rimpang lengkuas merah adalah alkaloid piperin (Untoro, 2016). Rimpang lengkuas merah terbukti memperpanjang *Clotting Time* (CT) menggunakan ekstrak alkaloid pada rentang konsentrasi 0,1 mg/ml-1 mg/ml, serta memiliki nilai yang optimal pada konsentrasi 0,1 mg/ml yang signifikan (Angraini, 2019). Fitokimia rimpang lengkuas merah memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, saponin, tannin, flavonoida, minyak atsiri, galangol, galangin, kaemferida, alpinia, kariofilenol dan kariofilena oksida (Materia Medika, 2018). alkaloid isokuinolin (Artanta, 2018), alkaloid pellitorine (Ku *et al.*, 2013). Seperti, alkaloid pellitorine dan piperin yang telah terbukti memiliki aktivitas antikoagulan dengan memperpanjang proses *Clotting Time* (CT) melalui pencegahan polimerisasi benang fibrin (Lee *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2018) dapat memperpanjang proses *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) (Ku *et al.*, 2013). Uji aktivitas antikoagulan secara *in vitro* dilakukan dengan menentukan waktu pembekuan yang meliputi *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) (Ulfa *et al.*, 2014). Pemeriksaan *activated partial thromboplastin time* (aPTT) ini ditujukan untuk mengetahui adanya defisiensi faktor pembekuan atau adanya inhibitor dalam jalur intrinsik. Pemeriksaan (PT) *prothrombin time* merupakan pemeriksaan skrining terhadap kelainan dalam lintasan ekstrinsik yaitu terhadap faktor VII, X, V, dan II. Pemeriksaan ini juga mendeteksi kadar fibrinogen yang rendah (<100 mg/dl) (Mantik, 2004).

Penelitian ini memerlukan bantuan tenaga medis yaitu analisis kesehatan tersertifikasi untuk mengambil darah. Uji aktivitas Antikoagulan dilakukan secara *in vitro* dengan perlakuan masing-masing kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak alkaloid total rimpang lengkuas merah dengan dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml. Data hasil penelitian akan di uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu secara statistik untuk menentukan jenis data (parametrik atau non parametrik). Analisis data dilakukan dengan melihat perbedaan pengaruh dan korelasi, konsentrasi ekstrak alkaloid total rimpang lengkuas merah terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin*

time (PT). Penelitian ini diharapkan untuk pengembangan obat antikoagulan dari bahan alam yang dapat mengatasi masalah gangguan pembekuan darah secara spesifik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini Antara lain:

- a. Apakah ada perbedaan aktivitas pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* secara *in vitro*?
- b. Apakah ada hubungan antar konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT) dan *prothrombin time* secara *in vitro* ?

1.3 Hipotesis Masalah

Berdasarkan rumusan masalah penelitian diatas, maka hipotesis yang diperoleh yaitu:

Hipotesis 1

H.₀ : Tidak ada perbedaan aktivitas pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro* ?

H.₁ : Ada perbedaan pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro* ?

Hipotesis 2

- Ha.0 : Tidak ada hubungan aktivitas pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro* ?
- H.1 : Ada hubungan pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro* ?

1.4 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui perbedaan pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) dengan konsentrasi konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml dengan kontrol positif dan negatif terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro*.
- b. Untuk mengetahui ada tidaknya hubungan pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) antar konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro*.
- c. Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) antar konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian di atas, maka manfaat yang diharapkan dapat diperoleh yaitu:

a. Aspek Akademik

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi awal tentang aktivitas antikoagulan ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) secara *in vitro*.

b. Aspek Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan masyarakat sebagai bahan obat dari bahan alam Indonesia dalam pencegahan penyakit yang berkaitan dengan Pembekuan darah seperti Hipertensi, Penyakit Kardiovaskular, Stroke, dan Ginjal akibat adanya trombus dalam sistem sirkulasi darah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hemostasis

Hemostasis adalah keadaan alami fisiologis manusia untuk menghentikan pendarahan pada luka yang berfungsi sebagai menjaga keenceran darah, sehingga darah tetap mengalir di pembuluh darah dengan baik, serta membentuk thrombus sementara pada dinding pembuluh darah yang mengalami kerusakan. Hemostasis ada 3 mekanisme yaitu Agregasi trombosit, Koagulasi (Pembekuan Darah) dan Fibrinolisis (Lisis bekuan) (Durachim,2018).

Hemostasis terdiri dari 3 mekanisme antara lain:

(1) Agregasi trombosit

Saat terjadi luka, agregat platelet akan terlepas dan menempel pada bagian yang rusak. Platelet akan berikatan dengan kolagen kemudian akan diaktifkan oleh trombin. Pada tempat yang sama terbentuk koagulasi untuk memperkuat ikatan yang juga dapat diperkuat melalui pelepasan ADP yang berasal dari aktivasi platelet. Pada pengaktifan, trombosit akan berubah bentuk dengan adanya fibrinogen, trombosit kemudian melakukan proses agregasi untuk membentuk sumbat hemostatik ataupun trombus.

(2) Koagulasi (Pembekuan darah)

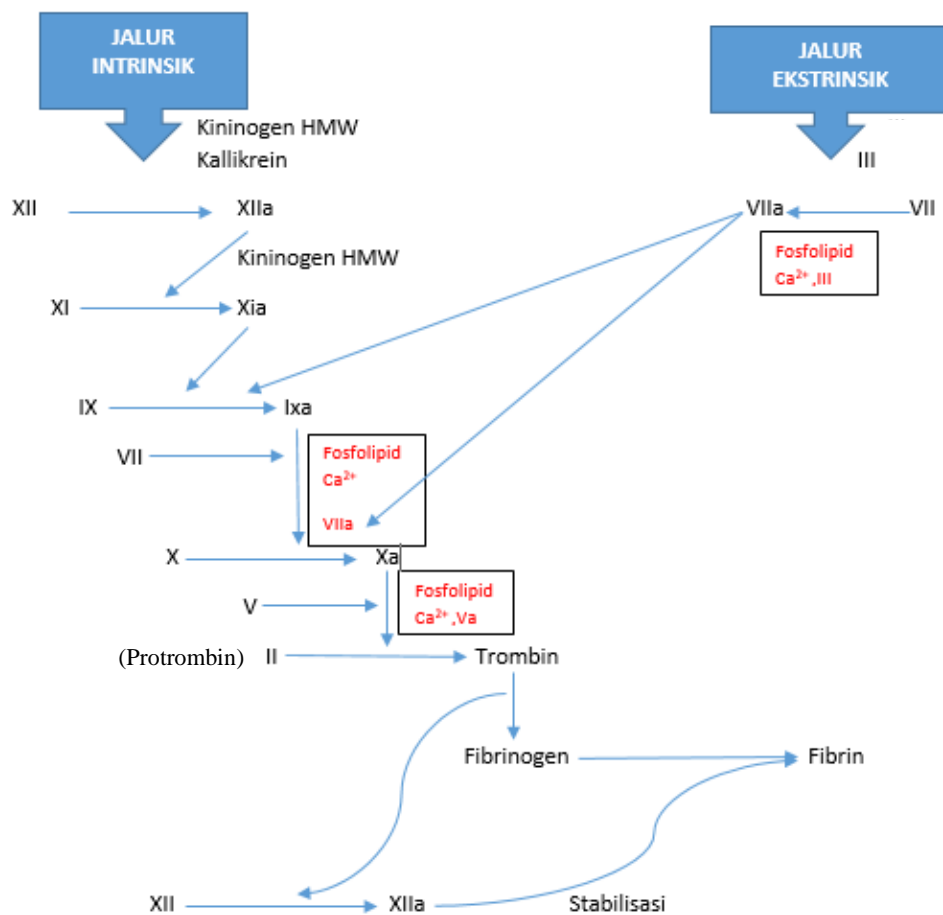
Pembentukan benang-benang fibrin yang mengikat agregat platelet akan membuat sumbat hemostatik atau trombus yang lebih kuat menjadi lebih stabil.

(3) Fibrinolisis (Lisis bekuan)

Fibrinolisis merupakan proses penghancuran (lisis) bekuan yang mengandung polimer fibrin. Proses fibrinolisis dipancarkan oleh plasmin. Plasmin akan melarutkan sebagian atau keseluruhan sumbatan hemostatik yang terbentuk (Nourma, 2015).

2.2 Pembekuan Darah (Koagulasi)

Pembekuan darah terjadi melalui interaksi faktor pembekuan darah dengan reaksi proteolitik yang berurutan atau berangkai (*coagulation cascade*). Pembekuan darah memiliki reaksi mendasar yaitu perubahan protein plasma berupa faktor pembekuan darah menjadi fibrin (Ganong, 2008). Inisiasi proses koagulasi dapat terjadi melalui salah satu dari dua jalur, yaitu jalur ekstrinsik dan jalur intrinsik. Terlepas dari jalur mana yang merupakan proses awal, dua jalur tersebut akan menyatu menjadi jalur bersama yang merupakan jalur akhir. Berikut ini merupakan jalur pembekuan darah yang melibatkan berbagai faktor pembekuan darah seperti pada **Gambar 2.1** berikut:



Gambar 2.1 Mekanisme Koagulasi Darah (Lubis, 2015)

Pada setiap tahap, satu faktor pembekuan darah mengalami proteolysis dan menjadi protease yang aktif. Protein yang terbentuk mengakibatkan faktor pembekuan berikutnya sampai akhir terbentuknya suatu bekuan fibrin yang memadat (Gunawan, 2007). Sebagian besar faktor pembekuan darah merupakan prekursor enzim proteolitik yang diketahui dengan zymogen dan bersirkulasi dalam keadaan tidak aktif. Sebagian besar prokoagulan dan antikoagulan diproduksi oleh hati kecuali faktor III, IV dan VIII (Palta *et al.*, 2014).

Sampai saat ini terdapat 20 faktor pembekuan darah. Berikut ini merupakan daftar faktor pembekuan darah dijelaskan pada **Tabel 2.1**

Tabel 2.1 Faktor Pembekuan Darah (Palta et al., 2014)

NOMOR FAKTOR PEMBEKUAN	NAMA FAKTOR PEMBEKUAN DARAH	FUNGSI	MASA HIDUP (JAM)	KONSENTRASI DALAM PLASMA (MG/L)
I	Fibrinogen	Pembentuk bekuan (<i>clot</i>)	90	3000
II	Protrombin	Aktivasi faktor I, V, VII, VIII, XI, XIII, protein C dan trombosit	65	100
III	TF (<i>tissue Faktor</i>)	Co faktor VIIa	-	-
IV	Calcium	Memfasilitasi ikatan faktor koagulasi pada phospholipid pada	-	-
V	Proacclerin (Faktor Labil)	Co faktor kompleks X-protrombinase	15	10
VI	Tidak ditetapkan			
VII	Prokonvertin (Faktor stabil)	Mengaktifkan faktor IX dan X	5	0.5
VIII	Faktor Antihemofilia A	Co faktor kompleks IX-tenase	10	0.1
IX	Faktor Antihemofilia B (Faktor Christmas)	Mengaktifkanfaktor X , membentuk kompleks tenase dengan faktor VIII	25	5
X	Faktor Stuart-Prower	Membentuk kompleks protrombinase dengan faktor V dan mengaktifkan faktor II	40	10
XI	Plasma thromboplastin	Mengaktifkan faktor IX	45	5
XII	Faktor Hageman	Mengaktifkan faktor XI, VII, dan prekallikerin	-	-
XIII	Faktor penstabil fibrin	Pembentuk anyaman fibrin	200	30
XIV	Prekallikerin (F Fletcher)	Serin protease zymogen	35	-
XV	HMWK (<i>High Molecul Weight Kininogen</i>) – (F Fitzgerald)	Co Faktor	150	-
XVI	VWF	Berikatan dengan VIII, memediasai adhesi platelet	12	10 µg/ml
XVII	Antitrombin III	Menghambat IIa, Xa dan protease lain	72	0.15 – 0.2 mg/ml
XVIII	Heparin coFaktor II	Menghambat IIa	60	-
XIX	Protease C	Menginaktivasi Va dan VIIIa	0.4	-

Sebagian besar faktor pembekuan darah merupakan prekursor enzim proteolitik yang diketahui dengan zymogen dan bersirkulasi dalam keadaan tidak aktif. Sebagian besar prokoagulan dan antikoagulan diproduksi oleh hati kecuali Faktor III, IV dan VIII (Palta *et al.*, 2014). Proses pembekuan darah terdiri dari 3 tahap yaitu 1) aktivasi tromboplastin, 2) pembentukan trombin dari protrombin dan 3) pembentukan fibrin dari fibrinogen. Pembentukan tromboplastin, yaitu aktivitas yang mengubah protrombin menjadi trombin, dapat berlangsung melalui dua jalan, yaitu dengan mekanisme intrinsik dan mekanisme ekstrinsik yang masing-masing memerlukan factor pembekuan.

2.4 Jalur Intrinsik

Jalur ini disebut intrinsik karena menggunakan faktor-faktor yang terdapat dalam sistem vaskuler atau plasma. Pada jalur intrinsik membutuhkan reaksi kaskade (berangkai), dimana pengaktifan satu faktor akan mengakibatkan pengaktifan bentuk penerus berikutnya. Pada jalur ini melibatkan aktivasi faktor Faktor XII (Faktor Hageman/ Serine Protease), XI (Plasma Tromboplastin), IX (Christmas Factor), Faktor VIII, Platelet Phospholipid (PL) kemudian masuk ke dalam jalur bersama. Faktor-faktor ini yang akan mengaktifkan faktor X aktif dengan bantuan faktor VIII, fosfolipid dan ion Ca^{2+} (Kiswari R, 2014).

Berbagai faktor yang menyebabkan aktivasi jalur intrinsik biasanya berkaitan dengan aktivasi berbagai faktor pembekuan darah pada jalur ini yaitu Faktor XII, XI, IX, VIII dan Platelet Phospholipid. Adanya peningkatan aktivitas pada jalur ini menyebabkan hiperkoagulasi dan thrombosis. Dalam rangkaian ini terdapat reaksi cascade (berangkai), pengaktifan salah satu prokoagulan akan mengakibatkan pengaktifan bentuk penerus berikutnya. Jalur intrinsik diawali dengan keluarnya plasma atau kolagen melalui pembuluh yang rusak dan mengenai kulit (D'Hiru, 2013). Jalur intrinsik melibatkan aktivasi faktor kontak prekallikrein, HMKW, faktor XII, dan faktor XI. Faktor-faktor ini berinteraksi pada permukaan untuk mengaktifkan faktor IX menjadi faktor IXa. Faktor IXa bereaksi dengan faktor VIII, fosfolipid, dan ion Ca^{2+} untuk membuat faktor X menjadi faktor Xa. Bersama faktor V, faktor Xa mengaktifkan protrombin (Faktor II) menjadi trombin. Yang selanjutnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Dalam jalur intrinsik, faktor

jaringan tidak berperan sebagai pemicu melainkan digunakan dalam perlekatan trombosit pada kolagen (Kiswari R, 2014).

2.5 Jalur Ekstrinsik

Pada mekanisme ekstrinsik, memerlukan Faktor-Faktor III, IV, dan VII untuk mengaktivasi Faktor X. Faktor X aktif bersama Faktor V aktif (diaktivasi trombin), Ca^{2+} dan fosfolipid mengaktivasi protrombin menjadi trombin. Selanjutnya trombin bersama Ca^{2+} mengubah fibrinogen menjadi fibrin yang berupa monomer. Fibrin monomer ini oleh Faktor XIII aktif (diaktivasi oleh trombin bersama Ca^{2+} diubah menjadi fibrin padat yang berupa polimer (Rosmiati dan Gan, 2007). Faktor jaringan tidak terdapat di dalam darah, maka faktor ini merupakan faktor ekstrinsik koagulasi, dengan demikian disebut juga koagulasi jalur ekstrinsik (Baldy, 2005).

2.6 Jalur Bersama

Pada jalur bersama yang menyebabkan aktivasi Faktor X adalah jalur intrinsik, disebut demikian karena rangkaian ini menggunakan Faktor-Faktor yang terdapat di dalam system vaskular plasma. Dalam rangkaian ini, terjadi reaksi kaskade, aktivasi satu prokoagulan menyebabkan aktivasi bentuk pengganti. Jalur intrinsik diawali dengan plasma yang keluar terkena dengan kulit atau kolagen di dalam pembuluh darah yang rusak. Faktor jaringan tidak diperlukan, tetapi yang berperan adalah trombosit yang melakat pada kolagen. Pada jalur intrinsik, Faktor-Faktor XII, XI, dan IX harus diaktivasi secara berurutan sebelum Faktor X dapat diaktivasi. Zat-zat lain juga sangat diperlukan seperti prakalikein dan HMWK (High Molecular Weight Kininogen – Fitzgerald Faktor) serta ion kalsium. Dari hal ini, koagulasi dapat terjadi yang dinamakan jalur bersama, yaitu aktivasi Faktor X terjadi akibat reaksi jalur ekstrinsik dan intrinsik. Pembentukan fibrin berlangsung jika Faktor X aktif dibantu oleh fosfolipid dan trombosit yang diaktivasi, memecah protrombin, membentuk trombin. Selanjutnya trombin memecahkan fibrinogen menjadi fibrin. Fibrin ini awalnya merupakan jeli yang dapat larut, distabilkan oleh Faktor XIII aktif, dan mengalami polimerisasi menjadi jaringan fibrin yang kuat dan menangkap trombosit dan sel-sel darah. Untaian fibrin kemudian memendek

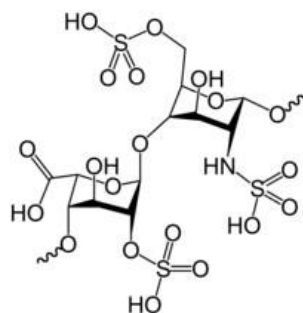
mendekatkan tepi-tepi dinding pembuluh darah yang cedera dan menutup daerah tersebut (Baldy, 2005).

2.7.1 Obat Antikoagulan

Obat Antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan jalan menghambat pembekuan atau fungsi beberapa faktor pembekuan darah. Jenis-jenis obat antikoagulan terdiri dari warfarin disebut antikoagulan oral karena tidak seperti heparin yang diberikan secara suntikan. Warfarin secara umum diberikan sebagai garam natrium (Katzung, 2014).

2.7.1 Heparin

Heparin merupakan suatu glikosaminoglikan yang ditemukan pada granula sekresi sel-sel mast dan banyak terdapat di paru-paru. Dalam keadaan normal, heparin tidak dapat dideteksi dalam darah. Efek antikoagulan heparin timbul karena ikatannya dengan AT-III (Anti Trombin III). AT-III berfungsi menghambat protease faktor pembekuan termasuk faktor IIa (trombin), Xa dan IXa, dengan cara membentuk kompleks yang stabil dengan protease faktor pembekuan. Struktur kimia heparin ditunjukkan pada **Gambar 2.2** heparin memiliki berat molekul 5.000 – 30.000 dan memiliki afinitas kuat dengan antitrombin dan menghambat nyata pembekuan darah (Dewoto, 2007).



Gambar 2.2 Struktur Kimia Heparin (Dewoto, 2007).

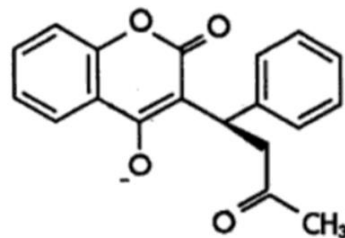
Heparin bekerja singkat dan harus diberikan secara injeksi. Efek antikoagulannya membutuhkan antitrombin III, suatu inhibitor protease dalam darah yang membentuk kompleks 1:1 dengan trombin. Heparin meningkatkan kecepatan pembentukan kompleks 1:1000 kali lipat, menyebabkan inaktivasi

trombin yang hampir instan (Neal, 2006). Pemberian secara subkutan dapat diberikan dengan dosis 5000 unit setiap 812 jam. Karena bahaya pembentukan hematoma pada tempat penyuntikan, Heparin jangan pernah diberikan secara intramuscular. Heparin dikontraindikasikan pada pasien-pasien yang hipersensitif pada obat tersebut, pasien dengan perdarahan aktif atau dengan hemophilia dan trombositopenia. Kerja antikoagulan yang berlebihan dari Heparin diatasi dengan penghentian pemakaian obat tersebut. Jika perdarahan terjadi, pemberian suatu antagonis seperti protamin sulfat yang diindikasikan. Protamin merupakan suatu peptida yang sangat basa yang dikombinasikan dengan Heparin sebagai suatu pasangan ion untuk membentuk suatu kompleks stabil tanpa aktivitas antikoagulan (Katzung, 2014).

2.7.2 Warfarin

Warfarin adalah obat antikoagulan rute oral yang bekerja dengan menghambat sintesis faktor pembekuan, sehingga mencegah terjadinya pembekuan darah. Warfarin sering di berikan pada pasien dengan resiko terbentuknya bekuan darah yang dapat daat menyebabkan tromboemboli, seperti pada penyakit kardiovaskular dan pasien dengan resiko stroke (Olson, *et al.*, 2009)

Efek samping penggunaan obat warfarin yaitu pendarahan. Efek pendarahan dapat meningkat dengan faktor resiko usia lanjut, penyakit ginjal kronis, kanker, disfungsi hati, hipertensi arteri, riwayat stroke, penyalahgunaan alkohol dan penggunaan secara bersamaan dengan obat antiplatelet (Harter, *et al.*, 2015).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Warfarin (Cairns, 2004).

2.8.1 Lengkuas Merah

Lengkuas merah merupakan jenis tumbuhan umbi-umbian yang hidup di daerah daratan tinggi maupun daratan rendah yang termasuk golongan

zingiberaceae. Ada 2 jenis tumbuhan tumbuhan lengkuas yaitu varitas dengan rimpang umbi (akar) berwarna merah dan varitas berwarna putih, lengkuas putih (*Alpinia galanga*) sebagai penyedap makanan sedangkan pada lengkuas merah (*Alpinia Purpurata Rhizoma*) dijadikan sebagai obat (Narayan *et al.*,2003).

Berikut ini merupakan gambar morfologi dan klasifikasi Lengkuas Merah:



Gambar 2.4 Lengkuas Merah (Materia medika, 2000)

2.8.1 Klasifikasi Lengkuas Merah

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Sub Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Monocotyledoneae</i>
Bangsa	: <i>Zingiberales</i>
Suku	: <i>Zingiberaceae</i>
Marga	: <i>Alpinia</i>
Jenis	: <i>Alpinia purpurata K. Schum.</i>

Lengkuas merah merupakan tumbuhan yang rumpun maupun rapat yang tingginya bisa mencapai 1-2 meter. Batang mudah keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua, daun tunggal, bertangkai pendek, bentuk daun lanset memanjang, ujungnya meruncing, pangkal tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, panjang 25-50 cm, dan lebar 7-17 cm (Dalimartha, 2009). Tanaman ini dapat tumbuh pada daerah tropis maupun sub tropis, umumnya ditanam ditempat yang terbuka sampai ditempat yang agak terlindungi, untuk tumbuh lengkuas menyukai tanah yang gembur, sinar matahari yang banyak, sedikit lembab, tapi tidak tergenang air (Narayan *et al.*,2003).

Lengkuas merah umumnya digunakan sebagai obat yang mempunyai khasiat mengatasi gangguan seperti kembung, kurap, bercak-bercak kulit dan masuk angin (Prasetyo, 2016). Bagian yang paling baik digunakan ialah rimpang dan buah pada keadaan segar atau telah dikeringkan, lengkuas merah memiliki rasa pedas dan bersifat hangat yang mempunyai efek farmakologinya diantaranya menetralkan racun (antioksidan), menurunkan panas (antipiuretik), menghilangkan rasa sakit (analgesik), meluruhkan kentut (carminative), meluruhkan kecing (diuretik), obat jamur, menyegarkan (stimulant), memperkuat lambung dan meningkatkan nafsu makan (stomachica) (Hariana, 2008).

Berdasarkan Kandungan kimia lengkuas merah (*Alpinia purpurata Rhizoma*) memiliki kadar yang lebih banyak di bandingkan dengan jenis lengkuas lainnya. Kandungan metabolit sekunder pada lengkuas merah yaitu alkaloid, saponin, tannin, flavonoida, minyak atsiri, galangol, galangin, kaemferida, alpinia, kariofilenol dan kariofilena oksida (Materia Medika, 2018).

2.9 Senyawa Fitokimia Yang memiliki Aktivitas Antikoagulan

2.9.1 Aktivitas Flavanoid Sebagai Antikoagukan

Flavanoid adalah senyawa metabolit sekunder yang reaktif yaitu genistein berupa fitoesterogen. Fitoesterogen adalah senyawa dari tanaman yang diketahui memiliki kandungan nonsteroid dengan struktur dan fungsinya mirip dengan esterogen. Fitoesterogen berpotensi sebagai antikogulan dengan cara mencegah pembentukan ateroklerosis, mencegah vasokonstriksi, dan menghambat fibrinogen (Ariyanti, 2016).

2.9.2 Aktivitas Alkaloid Sebagai Atikoagulan

Pada beberapa penelitian senyawa alkaloid jenis pelitorin yaitu suatu amida aktif yang memiliki peran menghambat atau memperpanjang aktivitas trombin dan Faktor Xa serta menghambat polimerisasi fibrin (Ku *et al.*, 2016). Penelitian terkait senyawa alkaloid piperin dan pelitorin terbukti memiliki aktivitas menghambat trombin pada pembentukan polimerisasi fibrin trombosit dan Faktor Xa (Lee *et al.*, 2015).

2.9.3 Aktifitas Tanin Sebagai Antikoagulan

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek dalam pro-koagulasi darah pada suatu ekstrak. Apabila tanin digunakan secara oral bersifat vasoprotektif. Tanin juga memiliki efek adtrisingen, yaitu vasokonstriksi pada pembuluh darah kecil yang merupakan salah satu parameter penting dalam hemostasis, sehingga tanin dapat bermanfaat sebagai hemostatik dalam darah (Dandjesso, 2012).

2.9.4 Aktivitas Saponin Sebagai Antikoagulan

Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat biologis seperti kemampuan hemolitik (Oda et, al., 2006). Pada tanaman bawang merah memiliki senyawa aktif saponin yang berkhasiat sebagai Antikoagulan (Jaelani, 2007 dan Kurniawati, 2010)

3 Pemeriksaan Jalur Koagulasi

3.1 Pemeriksaan CT

Uji Antikoagulan dilakukan dengan melihat Persen Inhibisi Koagulasi yang dilihat dengan mengamati Nilai CT dengan menggunakan metode *Lee White* metode ini digunakan untuk menentukan masa pembekuan darah yang diamati secara visual seperti cair, kental, sangat kental dan beku. Prosedur kerja metode *Lee-white* yang sudah dimodifikasi adalah sebagai berikut: disiapkan 5 buah tabung reaksi dengan diameter 8 mm, yang bersih dan diberi label nomor 1 sampai nomor 5. Tabung tersebut diletakkan dalam rak tabung. Darah yang dibutuhkan dalam pengujian ini diambil dari vena sebanyak 5 orang sukarelawan dengan menggunakan alat suntik 10 ml/cc dengan jarum 22 G steril. Masing-masing sukarelawan darahnya diambil sebanyak 5 ml untuk 5 perlakuan (Gandasoebrata, 1992).

Pada masing-masing tabung dicampur dengan menggunakan vortex saat itu stopwatch dijalankan untuk melihat masa pembekuan darah yang terjadi. Setelah 5 menit tabung diangkat dan masing-masing dimiringkan untuk melihat apakah sudah terjadi pembekuan darah atau belum. Bila belum terjadi pembekuan letakkan kembali pada rak tabung reaksi dan setiap 30 detik dilakukan hal yang sama.

Setelah didapatkan hasil nilai CT maka menghitung % inhibisi koagulasi dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi Koagulasi} = \frac{\text{CT (Perlakuan)} - \text{CT (Negatif)}}{\text{CT (Negatif)}} \times 100 \%$$

3.2 Pemeriksaan aPTT

Activation Partial Tromboplastin Time (aPTT) adalah uji yang dilakukan pada spesimen darah yang telah diberisitat. Plasma dikeluarkan dan dimasukkan kedalam tabung sampel, tempat zat inidirekalsifikasi, ditambahkan suatu reagent yang mengandung faktor aktif permukaan seperti koalin dan fosfolipid. Uji ini dapat dilakukan secara manual, namun lebih sering dievaluasi dengan menggunakan instrument otomatis yang menggunakan reagent yang bersangkutan. aPTT menilai jalur koagulasi intrinsik dan jalur bersama (Sacher A R & McPherson A R, 2004).

Pemeriksaan ini merupakan pemeriksaan yang sensitif terhadap kelainan dalam jalur intrinsik (XII, XI, IX, dan VIII) dan kurang sensitif terhadap pemeriksaan defisiensi protrombin dan fibrinogen. Pemeriksaan aPTT ini ditunjukkan untuk mengetahui adanya defisiensi faktor pembekuan atau adanya inhibitor dalam jalur intrinsik. (Pediatri S, 2004).

Prinsip dari pemeriksaan ini adalah mengukur lamanya bekuan yang terbentuk bila ditambahkan reagen tromboplastin parsial dan aktivator serta ion kalsium kedalam plasma pada suhu 37°C. Reagent tromboplastin parsial adalah fosfolipid sebagai pengganti platelet factor 3 (Suryaningrum WA, 2013). Menurut Santosa (2008), disebutkan bahwa waktu normal aPTT adalah 35-45 detik, juga dalam penelitian Suryaningrum (2013) disebutkan nilai normal aPTT berkisar 23,7-32,5 detik. Namun nilai normal ini ditentukan dari reagensia, cara pemeriksaan dan alat yang digunakan. Nilai normal aPTT antara 27-42 detik (Manual Kit Teclot aPTT-S).

3.3 Pemeriksaan PT

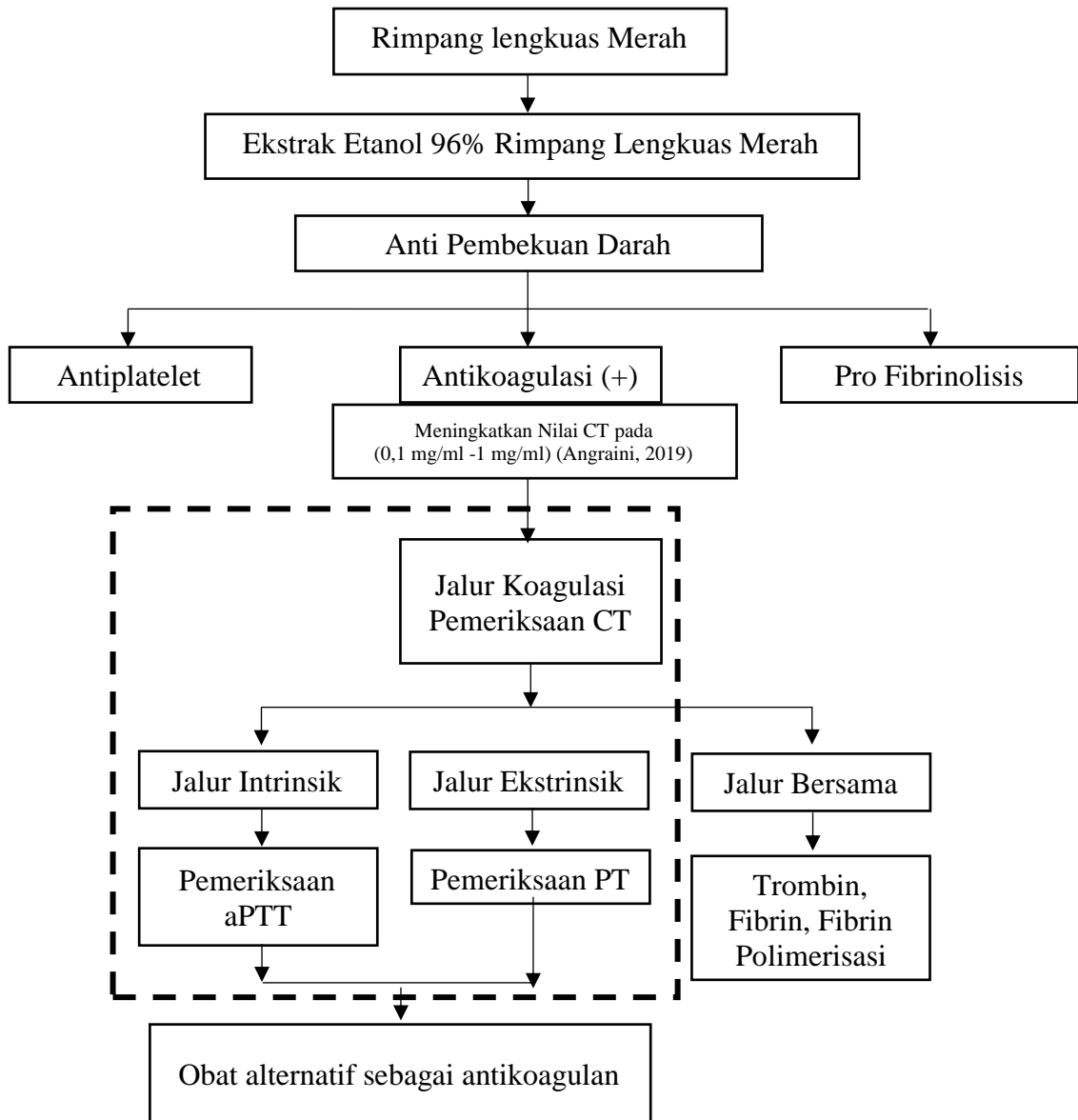
Prothrombine Time(PT) adalah salah satu tes yang digunakan untuk mempelajari proses koagulasi. *Prothrombine Time* secara langsung menunjukkan defek potensial pada mekanisme pembentukan *clot* (Jalur Ekstrinsik) melalui analisis kemampuan membentuk *clot* dari faktor-faktor koagulasi lain yaitu

prothrombine, fibrinogen, faktor V, faktor VII dan faktor X. Kekurangan prothrombine juga dapat digunakan untuk memantau keadaan-keadaan seperti disfibrinogenemia, efek heparin dan coumarin, gangguan fungsi hati, dan defisiensi vitamin K.

Jika nilai PT normal dengan nilai aPTT, yang terganggu berada pada tingkat pertama jalur koagulasi (faktor VIII, IX, X, XI dan XII). Jika nilai aPTT normal sementara nilai PT abnormal menandai adanya defisiensi faktor VII. Jika nilai keduanya memanjang kemungkinan adanya defisiensi faktor I, II, V atau X. Secara bersamaan aPTT dan PT akan mendeteksi 95% kelainan koagulasi (Fisbach, F. T., 2003). Nilai normal PT antara 11-18 detik (Inayah, 2015).

BAB III
METODE PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan

Nb: bagian dalam garis hitam putus-putus yang diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian *experimental control study* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan yaitu: 1) Kontrol Positif (Heparin), 2) Kontrol Negatif (NaCl 0,9 %), 3) Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Konsentrasi 0,1mg/ml, 4) Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Konsentrasi 0,2 mg/ml, 5) Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Konsentrasi 0,3 mg/ml. Masing – masing perlakuan diulang sebanyak 5 kali ulangan yang diketahui melalui perhitungan menurut (Frederer ,1967):

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(5-1) (r-1) \geq 15$$

$$4r-4 \geq 15$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 5$$

Keterangan:

t = Jumlah perlakuan

r = Jumlah ulangan

Penelitian ini menggunakan 5 orang Subjek dengan kriteria inklusi meliputi wanita berumur 20-25 tahun dengan kondisi sehat (kadar gula darah, tekanan darah, dan kadar kolesterol normal). Sejumlah 5 orang subjek mewakili 5 ulangan yang digunakan. Setiap orang diambil darah vena sejumlah 5 ml untuk 5 perlakuan (1 perlakuan membutuhkan 1 ml didapatkan kurang lebih 0,5 ml).

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Biomedik STIKES Rumah Sakit Anwar Medika yang terletak di Jl. By Pass Krian KM 33, Sidoarjo – Jawa Timur pada bulan Januari – Juli 2020.

3.4 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu Sampel darah, reagen APTT, reagen PT, HgCl₂, NaCl 9 %, aquades, KI, bismuth subnitrat, asam asetat glasial, I₂, ekstrak ethanol 96% rimpang lengkuas merah, heparin, kloroform,

H₂SO₄, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, air panas, Mg, HCl pekat, HCl 1 N, FeCl₃ 10% dan CaCl₂.

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini yaitu *Tourniquet*, *vacuntainer* Na Sitrat, *Waterbath*, tabung reaksi, *stopwatch*, sentrifuse, mikropipet, *yellow tip*, botol berwarna coklat, jarum, pipet, batang pengaduk, kaca arloji, beaker glass, plat tetes, alkohol swab, tisu dan neraca analitik.

3.5 Metode Kerja

3.5.1 Persiapan Bahan Uji berupa Ekstraksi Rimpang Lengkuas Merah

a. Pembuatan Serbuk Simplisia Rimpang Lengkuas Merah

Sampel penelitian berupa rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K.Schum) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Materia medika, Jawa Timur. Rimpang Lengkuas Merah dibersihkan dan dicuci terlebih dahulu. Setelah pencucian, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Sampel yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk simplisia Rimpang Lengkuas Merah.

b. Ekstraksi Rimpang Lengkuas Merah

Sebanyak 0,25 kg serbuk rimpang lengkuas merah diremaserasi 3 kali menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 5 kali berat serbuk, etanol yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *Rotary Evaporatory* hingga diperoleh ekstrak etanol rimpang lengkuas merah.

3.5.2 Uji Kualitas Fisik/Organoleptis Ekstrak Alkaloid Total Rimpang Lengkuas Merah

- a. Merupakan suatu metode yang digunakan untuk menguji kualitas suatu bahan atau produk menggunakan panca indra manusia. Keadaan yang diamati : bau, rasa, dan warna (Amerine et al., 1965).

3.5.3 Uji Fitokimia

1. Uji Fitokimia Alkaloid

Beberapa mg ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah ditambahkan dengan 2 mL kloroform, Filtrat kemudian ditambahkan 3-5 tetes H₂SO₄ pekat lalu dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas dipindahkan ke dalam tiga tabung reaksi masing-masing 2,5mL. Ketiga

larutan ini dianalisis dengan pereaksi Mayer, Dragendorff dan Wagner sebanyak 4-5 tetes. Terbentuknya endapan menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung alkaloid. Reaksi dengan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan putih, dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah jingga dan dengan pereaksi wagner terbentuk endapan coklat (Harborne, 1987).

2. Pembuatan Pereaksi untuk Uji Alkaloid

Pereaksi Mayer: Sebanyak 136 mg HgCl_2 dilarutkan dalam 6 mL aquades. Pada bagian yang lain larutkan pula 500 mg KI dalam 1 mL aquades. Kedua larutan ini kemudian dicampur dan diencerkan dengan aquades sampai 10 mL. Reagen ini harus disimpan dalam botol yang berwarna coklat, agar tidak terjadi kontak langsung dengan cahaya.

Pereaksi Dragendorff: Sebanyak 800 mg KI dilarutkan dalam 25 mL aquades, sedangkan pada bagian yang lain dilarutkan 85 mg bismuth subnitrat dalam 1 mL asam asetat glacial dan 4 mL aquades. Kedua larutan ini kemudian dicampurkan. Larutan disimpan dalam botol berwarna coklat. Dalam penggunaannya, larutan ini diencerkan dengan 2/3 bagian larutan 2 mL asam asetat glacial dalam 10 mL aquades.

Pereaksi Wagner: Sebanyak 127 mg I_2 dan 2 g KI dilarutkan dalam 1 mL aquades. Larutan ini kemudian diencerkan dengan aquades hingga 10 mL. Endapan yang terbentuk disaring dan disimpan dalam botol berwarna coklat.

3. Uji Fitokimia Flavonoid

Beberapa mL ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, ditambahkan dengan 100 mL air panas, didihkan 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).

4. Uji Fitokimia Saponin

Beberapa mL ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, ditambahkan dengan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, lalu ditambahkan 2 tetes HCl 1N. Bila busa yang terbentuk tetap stabil selama

kurang lebih 7 menit, maka ekstrak positif mengandung saponin (Harborne, 1987).

5. Uji Fitokimia Tanin

Beberapa mL ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, ditambahkan dengan 10 tetes FeCl_3 10%. Ekstrak positif mengandung tannin apabila menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Harborne, 1987).

3.4 Preparasi Perlakuan

a. Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan untuk antikoagulan adalah aquades.

b. Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan untuk antikoagulan yaitu larutan Heparin dengan kadar 100 UI/ml. Sediaan larutan Heparin 5000 UI/ml dipipet 1 ml dilarutkan dalam 50 ml aquades dan dicampur sampai homogen (1 mg/ml) (Nourma, 2015).

c. Pembuatan Sampel Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Sampel yang digunakan yaitu dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml. Pembuatan variasi larutan total ekstrak etanol 96% konsentrasi 0, dibuat dengan terlebih dahulu dengan cara menimbang serbuk ekstrak etanol 96% sebanyak 10 mg dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 10 mL. Selanjutnya pembuatan larutan konsentrasi 0,5 mg/mL di ambil sebanyak 5 mL dan di tambah etanol hingga sebanyak 10 mL, Pembuatan konsentrasi ekstrak etanol 96% 0,1 mg/mL di ambil 2 mL dari konsentrasi 0,5 mg/mL di tambah etanol hingga sebanyak 10 mL.

d. Perlakuan Pengambilan Darah

Preparasi sampel *Whole blood* diambil dari vena sampel banyak 6 ml menggunakan spuit steril ukuran 22, *tourniquet*. Darah vena yang sudah diambil dimasukkan ke dalam tabung non- EDTA sesuai dengan kebutuhan sebanyak 1 ml per-perlakuan. Sampel darah diperoleh dari 5 orang wanita dengan berat badan tidak lebih dari 70 kg, usia berkisar 20-25 tahun,

keadaan fisik yang sehat dan, tidak memiliki riwayat penyakit perdarahan yang berkepanjangan, memiliki kadar gula, tekanan darah, dan kadar kolesterol normal.

3.5 Uji Kelayakan Etik

Uji kelayakan etik akan dilaksanakan di RSUD Sidoarjo dengan mengisi protokol etik dan *informed consent*.

3.6 Penjarangan Subjek

a. Pemberian *Inform Consent*

b. Tes Fisik

Tes fisik meliputi pemeriksaan kadar kolesterol, gula darah dan tekanan darah dilakukan untuk memastikan bahwa subjek dalam keadaan normal tidak memiliki gangguan metabolik maupun gangguan internal vaskular yang berpengaruh pada hemostasis. Pemeriksaan kolesterol dan gula darah dilakukan dengan menggunakan *rapid test*, sedangkan tekanan diukur menggunakan alat Sphygmomanometer. Adapun standar nilai normal yang menjadi rujukan yaitu:

Tabel 3.1 Standar Nilai Normal Pengukuran Kondisi Fisik Subjek Penelitian

Kriteria	Nilai Normal	Sumber
Kolesterol	<200 mg/dl	Kemenkes RI, 2014
Gula Darah (Acak)	<200 mg/dl	Depkes RI, 2006
Tekanan Darah	120/80 mm/Hg	Depkes RI, 2006

3.7 Prosedur Perlakuan Pengambilan Sampel Darah Pasien

Langkah pertama pengambilan darah yaitu member salam pada pasien dan memberikan informasi tentang prosedur yang akan dilakukan. Mengidentifikasi identitas pasien. Memilih tabung vacum Na-sitrat dan melihat fungsi vena dengan benar dan tepat. Membersihkan tangan, mengenakan sarung tangan, memposisikan lengan pasien dan memasang tourniquet, meminta pasien untuk mengenggam dan memilih bagian pungsi vena dengan memalpasi, setelah itu melepaskan penutup jarum dan periksa jarum, memastikan arah vena dibawah tempat pungsi, menusukkan jarum dengan sudut kemiringan 45°, mendorong tabung pemindah

secara menyeluruh ke dalam pegangan, mengumpulkan sampel darah secara perlahan sebanyak ± 3 ml, setelah pengambilan darah segera siapkan alkohol swab kemudian angkat jarum dan tutup bekas jarum dengan alkohol swab. Meminta pasien untuk membuka genggamannya, melepaskan tourniquet menepatkan kapas diatas jarum, melepaskan jarum, membuang jarum ke wadah limbah benda tajam, memberi label tabung dan memvalidasikan dengan pasien. Melepaskan sarung tangan setelah itu membersihkan tangan dan mengucapkan terimakasih kepada pasien (Farida, 2017).

Whole blood di ambil dari vena sampel dengan volume sesuai dengan kebutuhan menggunakan spuit steril, tourniquet dan alkohol swab. Darah yang sudah diambil dimasukkan ke *vacuntainer* yang mengandung Na sitrat, kemudian di sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 15 menit samapai didapatkan plasma Na sitrat.

3.7.1 Pemeriksaan CT Dengan Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah

Uji Antikoagulan dilakukan dengan melihat Persen Inhibisi Koagulasi yang dilihat dengan mengamati Nilai CT dengan menggunakan metode *Lee White* metode ini digunakan untuk menentukan masa pembekuan darah yang diamati secara visual seperti cair, kental, sangat kental dan beku. Prosedur kerja metode *Lee-white* yang sudah dimodifikasi adalah sebagai berikut: disiapkan 5 buah tabung reaksi dengan diameter 8 mm, yang bersih dan diberi label nomor 1 sampai nomor 5. Tabung tersebut diletakkan dalam rak tabung. Darah yang dibutuhkan dalam pengujian ini diambil dari vena sebanyak 5 orang sukarelawan dengan menggunakan alat suntik 10 ml/cc dengan jarum 22 G steril. Masing-masing sukarelawan darahnya diambil sebanyak 5 ml untuk 5 perlakuan (Gandasoebrata, 1992).

Pada masing-masing tabung dicampur dengan menggunakan vortex saat itu stopwatch dijalankan untuk melihat masa pembekuan darah yang terjadi. Setelah 5 menit tabung diangkat dan masing-masing dimiringkan untuk melihat apakah sudah terjadi pembekuan darah atau belum. Bila belum terjadi pembekuan letakkan kembali pada rak tabung reaksi dan setiap 30 detik dilakukan hal

yang sama. Setelah didapatkan hasil nilai CT maka menghitung % inhibisi koagulasi dengan rumus:

$$\% \text{ Inhibisi Koagulasi} = \frac{\text{CT (Perlakuan)} - \text{CT (Negatif)}}{\text{CT (Negatif)}} \times 100 \%$$

3.7.2 Prosedur Pemeriksaan aPTT dengan Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah

Inkubasi CaCl₂ dengan suhu 37°C selama 10 menit, pipet 25 µl sampel plasma di inkubasi 37°C selama 1-2 menit, 25 µl ekstrak alkaloid total Rimpang Lengkuas Merah dan 25 µl reagen aPTT di campur dan di inkubasi 37°C selama 3 menit di dalam waterbath, ditambah 25 µl CaCl₂ yang telah diinkubasi dalam suhu 37°C. kemudian campuran di pipet ke dalam sampel, *stopwatch* dan catat waktu pembekuan. Nilai normal aPTT antara 27-42 detik (Inayah, 2015).

3.7.3 Prosedur Pemeriksaan PT dengan Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah

Inkubasi reagen PT dan ekstrak alkaloid total Rimpang Lengkuas Merah dengan suhu 37°C selama 10 menit, pipet 25 µl sampel di inkubasi 37°C selama 1-2 menit, ditambah 50 µl reagen PT yang sudah di tambahkan 50 µl ekstrak alkaloid total Rimpang Lengkuas Merah dan *stopwatch*, catat waktu pembekuan. Nilai normal PT antara 11-18 detik (Inayah, 2015).

3.8 Analisis Data

Data yang akan diperoleh dari hasil pemeriksaan merupakan jenis data kuantitatif yang dianalisis menggunakan SPSS versi 23. Analisis data yang dilakukan antara lain:

Tabel 3.2 Tabel Analisis Data

No.	Jenis Analisis Statistik	Jenis Uji Statistik	Persyaratan	Keimpulan
1	Uji Normalitas Data	Shapiro Wilk (Sampel < 50)	p>0.05	Data bedistribusi normal dan termasuk data parametrik
2	Uji Beda	Parametrik: Anova uji lanjut LSD Non Parametrik: Kruskal Wallis	F hitung > F tabel P<0.05	H ₀ ditolak (ada perbedaan) secara signifikan antar variable bebas terhadap variable terikat

3	Uji Korelasi Konsentrasi	Parametrik: Korelasi Pearson Non Parametrik: Korelasi Sberman	r hitung > r tabel p<0.05	H ₀ ditolak (ada perbedaan) secara signifikan antar variable bebas terhadap variable terikat
4	Uji Regresi	Uji Pengaruh	T hitung>T tabel P<0,05	H ₀ ditolak (ada pengaruh) secara signifikan antara variable bebas terhadap variable terikat

BAB IV HASIL PENELITIAN

4.1 Hasil Identifikasi Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan penelitian atau skripsi berupa rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* Vielli K.Schum) yang diperoleh dari Balai Materia Medika Batu Malang yang telah diidentifikasi mengandung senyawa alkaloid, saponin, tannin, flavonoida, minyak atsiri, galangol, galangin, kaemferida, alpinia, kariofilenol dan kariofilena oksida. Lampiran 1.

4.2 Hasil Ekstrak Etanol 96% dan Uji Fitokimia Rimpang Lengkuas Merah

Serbuk simplisia rimpang lengkuas merah di dapatkan dari Materia Medika, Batu Malang sebanyak 250 gram. Dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 3,75 liter. Hasil maserasi rimpang lengkuas merah berwarna coklat kehitaman sebanyak 3,45 liter. Selanjutnya ekstrak etanol yang di dapat diambil filtratnya dan dilakukan pemisahan dengan *rotary evaporator* sebanyak 1,25 liter hingga di peroleh ekstrak kental rimpang lengkuas merah sebanyak 3,33 gram dengan rendemen 3,9%. Selanjutnya dilakukan Uji Fitokimia pada ekstrak yang didapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Uji Fitokimia Hasil Ekstraksi Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah

Jenis Uji	Ciri Yang Terlihat	Hasil Uji
Alkaloid	Dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah,	+
	Dengan pereaksi wagner terbentuk endapan coklat	+
Flavonoid	Terbentuknya warna merah	+
Saponin	Terbentuk busa yang stabil	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	+

Keterangan: (+) : Senyawa Teridentifikasi (-):Senyawa Tidak Teridentifikasi

Hasil Uji Fitokimia pada ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah menunjukkan bahwa terdapat beberapa golongan senyawa meabolit sekunder dan terkandung dalam ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, antara lain: alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Hal ini sesuai dengan pemeriksaan yang dilakukan oleh pihak Materia Medika Batu, Malang. Setelah dilakukan uji

fitokimia, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antikoagulan dengan melihat *clotting time* (CT) dapat dilihat pada Lampiran 3.

4.3 Hasil Uji Aktivitas Antikoagulan Berdasarkan Nilai CT

4.3.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Data Persentase Inhibisi Koagulasi

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menggunakan Analisis Shapiro Wilk (SPSS 20) menunjukkan bahwa data berdistribusi normal tetapi data tidak homogen. Ditunjukkan pada Tabel 4.2

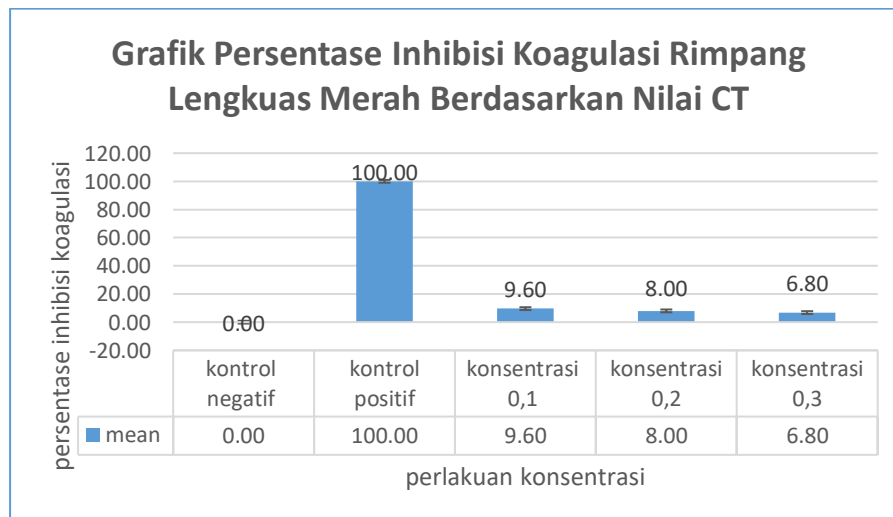
Tabel 4.2 Hasil uji normalitas dan uji homogenitas persentase inhibisi koagulasi ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah berdasarkan nilai CT

Perlakuan	N	Mean ± SD	Uji Normalitas *	Uji Homogenitas**
Kontrol Negatif	5	0% ± 0	1,000	0,000
Kontrol Positif	5	100 % ± 0	1,000	0,000
Ekstrak 0,1 mg/ml	5	9,60%± 3,647	0,884	0,001
Ekstrak 0,2 mg/ml	5	8,00% ± 2,449	0,563	0,000
Ekstrak 0,3 mg/ml	5	6,80 % ± 1,483	0,777	0,013

*Shapiro Wilt Test: $P>0,05$; data distribusi normal **Homogenitas Test: $P>0,05$; data distribusi homogen

***Kesimpulan data menggunakan analisis shapiro wilk test :data tidak normal karena tidak homogen (kategori non-parametrik)

Data hasil pengamatan persentase inhibisi koagulasi menunjukkan bahwa persentase inhibisi koagulasi tertinggi pada konsentrasi 0,1 mg/ml yang di tunjukkan pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Grafik Persentase Inhibisi Koagulasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah berdasarkan Nilai CT

Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitney menunjukkan bahwa kontrol negatif (plasebo) dibandingkan dengan kontrol positif (heparin) berbeda signifikan di tunjukkan dari nilai $p=0,003(p<0,05)$. Ditunjukkan tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitney

	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Konsentrasi 0,1 mg/ml	Konsentrasi 0,2 mg/ml	Konsentrasi 0,3 mg/ml
Kontrol (-)		BS	BS	BS	BS
Kontrol (+)	BS		BS	BS	BS
Konsentrasi 0,1 mg/ml	BS	BS		BTS	BTS
Konsentrasi 0,2 mg/ml	BS	BS	BTS		BTS
Konsentrasi 0,3 mg/ml	BS	BS	BTS	BTS	

* BS= beda signifikan

*BTS=beda tidak signifikan

4.3.2 Hasil Uji Hubungan Aktivitas Antikoagulan Semua Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Terhadap % Inhibisi Koagulasi Berdasarkan Nilai CT

Hasil uji hubungan korelasi diperoleh dari uji korelasi spearman karena data bersifat non-parametrik. Jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Hasil Analisis SPPS Korelasi Spearman's

Uji Statistik	Nilai
Spearman Corellation	0,121

Berdasarkan analisis statistik spearman corellation dari output diatas diperoleh angka koefisien korelasi sebesar 0,121 artinya tingkat kekuatan hubungan (korelasi) antara variabel perlakuan dengan persen inhibisi sebesar 0,121 atau hubungan sangat lemah, Jika melihat arah kedua hubungan variabel perlakuan dan persen inhibisi bernilai positif yaitu 0,121 atau bersifat searah dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin ditingkatkan jumlah konsentrasi maka nilai persen inhibisi semakin meningkat.

1.4 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai APTT

1.4.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Nilai APTT

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menggunakan Analisis Shapiro Wilk (SPSS 20) menunjukkan bahwa data berdistribusi tidak normal dan data tidak homogen. Ditunjukkan pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil uji normalitas dan uji homogenitas persentase inhibisi koagulasi ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah berdasarkan nilai APTT

Perlakuan	N	Mean ± SD	Uji Normalitas *	Uji Homogenitas**
Kontrol Negatif	5	0% ± 0	1,000	0,000
Kontrol Positif	5	100 % ± 0	1,000	0,000
Ekstrak 0,1 mg/ml	5	0,71 % ±466	0,263	0,000
Ekstrak 0,2 mg/ml	5	0,38 % ±162	0,570	0,000
Ekstrak 0,3 mg/ml	5	0,26 % ±800	0,882	0,000

*Shapiro Wilt Test: $P > 0,05$; data distribusi normal **Homogenitas Test: $P > 0,05$; data distribusi homogen

***Kesimpulan data menggunakan analisis shapiro wilk test :data tidak normal dan tidak homogen (kategori non-parametrik)

Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitney menunjukkan bahwa kontrol negatif (plasebo) dibandingkan dengan kontrol positif (heparin) berbeda signifikan di tunjukkan dari nilai $p = 0,003$ ($p < 0,05$). Ditunjukkan tabel 4.6

Tabel 4.6 Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitne

	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Konsentrasi 0,1 mg/ml	Konsentrasi 0,2 mg/ml	Konsentrasi 0,3 mg/ml
Kontrol (-)		BS	BS	BS	BS
Kontrol (+)	BS		BS	BS	BS
Konsentrasi 0,1 mg/ml	BS	BS		BS	BTS
Konsentrasi 0,2 mg/ml	BS	BS	BS		BTS
Konsentrasi 0,3 mg/ml	BS	BS	BTS	BTS	

* BS= beda signifikan

*BTS=beda tidak signifikan

4.4.2 Hasil Uji Hubungan Aktivitas Antikoagulan Semua Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Terhadap % Inhibisi Koagulasi Berdasarkan Nilai APTT

Hasil uji hubungan korelasi diperoleh dari uji korelasi spearman karena data bersifat non-parametrik. Jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dapat dilihat pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil Analisis SPPS Korelasi Spearman's

Uji Statistik	Nilai
Spearman Corellation	0,085

Berdasarkan analisis statistik spearman corellation dari output diatas diperoleh angka koefisien korelasi sebesar 0,085 artinya tingkat kekuatan hubungan (korelasi) antara variabel perlakuan dengan persen inhibisi sebesar 0,085 atau hubungan sangat lemah, Jika melihat arah kedua hubungan variabel perlakuan dan persen inhibisi bernilai positif yaitu 0,085atau bersifat searah dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin ditingkatkan jumlah konsentrasi maka nilai persen inhibisi semakin meningkat.

1.5 Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Berdasarkan Nilai PT

1.5.1 Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Data Persentase Inhibisi Koagulasi Nilai PT

Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menggunakan Analisis Shapiro Wilk (SPPS 20) menunjukkan bahwa data berdistribusi tidak normal dan data tidak homogen. Ditunjukkan pada Tabel 4.8

Tabel 4.8 Hasil uji normalitas dan uji homogenitas persentase inhibisi koagulasi ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah berdasarkan nilai PT

Perlakuan	N	Mean \pm SD	Uji Normalitas *	Uji Homogenitas**
Kontrol Negatif	5	0% \pm 0	1,000	0,000
Kontrol Positif	5	100 % \pm 0	1,000	0,000
Ekstrak 0,1 mg/ml	5	0,44% \pm 0,91	0,745	0,020
Ekstrak 0,2 mg/ml	5	0,29 % \pm 0,77	0,273	0,020
Ekstrak 0,3 mg/ml	5	0,38 % \pm 0,72	0,823	0,020

*Shapiro Wilt Test: $P > 0,05$; data distribusi normal **Homogenitas Test: $P > 0,05$; data distribusi homogen

***Kesimpulan data menggunakan analisis shapiro wilk test : data tidak normal dan tidak homogen (kategori non-parametrik)

Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitney menunjukkan bahwa kontrol negatif (plasebo) dibandingkan dengan kontrol positif (heparin) berbeda signifikan di tunjukkan dari nilai $p=0,003(p<0,05)$. Ditunjukkan tabel 4.9

Tabel 4.9 Hasil uji Kruskall wallis dan uji Mann whitney

	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Konsentrasi 0,1 mg/ml	Konsentrasi 0,2 mg/ml	Konsentrasi 0,3 mg/ml
Kontrol (-)		BS	BS	BS	BS
Kontrol (+)	BS		BS	BS	BS
Konsentrasi 0,1 mg/ml	BS	BS		BTS	BTS
Konsentrasi 0,2 mg/ml	BS	BS	BTS		BTS
Konsentrasi 0,3 mg/ml	BS	BS	BTS	BTS	

* BS= beda signifikan

*BTS=beda tidak signifikan

4.5.2 Hasil Uji Hubungan Aktivitas Antikoagulan Semua Konsentrasi Ekstrak Etanol 96% Rimpang Lengkuas Merah Terhadap % Inhibisi Koagulasi Berdasarkan Nilai PT

Hasil uji hubungan korelasi diperoleh dari uji korelasi spearman karena data bersifat non-parametrik. Jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dapat dilihat pada Tabel 4.10

Tabel 4.10 Hasil Analisis SPPS Korelasi Spearman's

Uji Statistik	Nilai
Spearman Corellation	-0,351

Berdasarkan analisis statistik spearman corellation dari output diatas diperoleh angka koefisien korelasi sebesar -0,351 artinya tingkat kekuatan hubungan (korelasi) antara variabel perlakuan dengan persen inhibisi sebesar-0,351atau hubungan sangat lemah, Jika melihat arah kedua hubungan variabel perlakuan dan persen inhibisi bernilai negatif yaitu -0,351 atau bersifat searah dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin ditingkatkan jumlah konsentrasi maka nilai persen inhibisi semakin rendah.

BAB V PEMBAHASAN

Penelitian uji aktivitas antikoagulan ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata*) sebagai antikoagulan secara *in vitro* dilakukan di STIKES Rumah Sakit Anwar Medika bertempat di Laboratorium Biologi Medik dan Laboratorium Kimia Organik pada bulan April-Juli 2020. Tanaman rimpang lengkuas merah yang telah diekstraksi kemudian diuji aktivitas sebagai antikoagulan. Antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah yang umum digunakan di klinik maupun laboratorium. Antikoagulan digunakan untuk mencegah atau meluasnya trombus dan emboli serta untuk mencegah bekunya darah *in vitro* pada pemeriksaan laboratorium atau transfusi (Tangkery,2013). Uji aktivitas koagulan secara *in vitro* dilakukan dengan metode Lee-White metode ini digunakan untuk menentukan masa pembekuan darah yang diamati secara visual seperti cair,kental,sangat kental dan beku.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian *in vitro* aktivitas antikoagulan dimana metode *in vitro* dimana metode ini merupakan pengujian awal sehingga perlu adanya pengujian lebih lanjut dengan metode *in vivo* untuk mengetahui pengaruh metabolisme terhadap aktivitas antirombosis yang dimiliki ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah. Koagulasi diinisiasi *in vivo* melalui jalur ekstrinsik. Sejumlah faktor VIIa dalam plasma berikatan dengan faktor jaringan ini mempercepat aktivitas faktor X oleh faktor VIIa, fosfolipid, dan Ca^{+} . Faktor VII a juga dapat mengaktivitas faktor IX yang menghasilkan efek konvergen antara jalur ekstrinsik dan jalur instrinsik.

Pembekuan yang disebabkan oleh jalur instrinsik diinisiasi *in vitro* ketika faktor XII, prekalkrein dan molekul berbobot besar kininogen berinteraksi dengan kaolin, kaca atau permukaan lain yang dapat memicu faktor XIIa. Hal ini akan diikuti aktivitas faktor X dalam reaksi yang diakselerasi oleh faktor VIIIa, fosfolipid dan Ca^{+} . Aktivitas faktor X menjadi Xa oleh faktor Ixa muncul disebabkan oleh mekanisme yang sama untuk aktivitas protrombin dan dapat diakselerasi oleh platelet secara *in vivo*.(Bruton,2006) gambar mekanisme koagulasi darah di Lampiran

Faktor Xa dan Va bersama dengan fosfolipid dan Ca^{+} membentuk kompleks prothrombine yang merubah protombin (Faktor II) menjadi trombin (FaktorIIa). Trombin akan merubah fibrinogen menjadi monomer fibrin dimana polimernya merupakan bekuan yang larut. Trombin kemudian mengaktifasi faktor XIII yang memiliki fibrin ikatan silang dan menyebabkan bekuan menjadi stabil dan tidak larut.

Prinsip uji antikoagulan adalah menentukan waktu yang diperlukan oleh plasma untuk membeku. Waktu tersebut meliputi *activated partial thromboplastin time* (aPTT) dan *Prothrombine Time* (PT). Parameter yang diamati adalah nilai persentase (%) inhibisi koagulasi berdasarkan nilai *Clotting Time* (CT) Metode (Lee and White), *Activation Partial Tromboplastin Time* (aPTT) serta *Prothrombine Time* (PT). Nilai % inhibisi koagulasi diamati untuk melihat ada tidaknya pengaruh ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah untuk menghambat koagulasi (antikoagulan). Subjek penelitian terdiri dari 5 wanita berusia 20-25 tahun dengan kondisi kadar gula darah, tekanan darah, dan kadar kolesterol normal. Darah diambil sebanyak 5 ml per subjek penelitian untuk 5 perlakuan. Kontrol negatif yang digunakan pada pengujian adalah darah dengan plasebo, sedangkan kontrol positif adalah darah dengan penambahan Heparin (obat antikoagulan). Heparin memiliki aktivitas menghambat atau memperpanjang proses koagulasi serta menghambat pembentukan fibrin menjadi trombin.

Simplisia Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) di peroleh dari Materia Medika Batu, Malang, Jawa timur dengan keadaan geografis didaerah tropis, mendapatkan sinar matahari yang banyak, tanah sedikit lembab dataran tinggi dan tanaman ini merupakan tumbuhan yang rumpun tingginya bisa mencapai 50 cm-1 m (Dalimartha, 2009). Kandungan kimia dari rimpang lengkuas merah berdasarkan determinasi dari Materia Medika Batu Malang yaitu rimpangannya mengandung alkaloid, saponin, tannin, flavonoida, minyak atsiri, galangol, galangin, kaemferida, alpinia, kariofilenol dan kariofilena oksida.

Serbuk simplisia rimpang lengkuas merah di ekstrasi menggunakan metode maserasi dan di dapatkan ekstrak kental berwarna kecoklatan dengan berat 3,33 gram dengan perhitungan rendemen 3,9%. Dari penelitian ini terdapat parameter yang diamati yaitu presentase (%) inhibisi koagulasi. Presentase inhibisi koagulasi

diamati untuk melihat pengaruh ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah terhadap proses pembekuan darah (antikoagulan). Hasil yang diperoleh pada uji aktivitas antikoagulan berupa waktu pembekuan darah (*Clotting Time* atau CT) terhadap persen inhibisi koagulasi pada rata-rata konsentrasi ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah menunjukkan waktu koagulasi lebih lama di dibandingkan dengan kontrol negatif. Sedangkan kontrol positif (Heparin) waktu koagulasi lebih lama di dibandingkan kontrol negatif hasil tersebut menunjukkan ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah dapat memperpanjang waktu koagulasi secara signifikan $p > 0,05$.

Dari hasil analisis menggunakan SPSS didapatkan hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* yang menunjukkan $p > 0,05$ pada seluruh kelompok data konsentrasi ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, kontrol positif dan negatif. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh kelompok data perlakuan dan kontrol dalam penelitian ini berdistribusi normal. Akan tetapi uji homogenitas pada seluruh kelompok data konsentrasi ekstrak etanol rimpang lengkuas merah bersifat tidak homogen yang menunjukkan $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa syarat uji parametrik yang mengharuskan seluruh data berdistribusi normal tidak terpenuhi. Selanjutnya melakukan analisis non parametrik dengan cara uji beda pengaruh menggunakan uji kruskall wallis dan di dapatkan semua data bernilai $< p,005$. Selanjutnya hasil analisis Maann whitney terdapat perbedaan bermakna antara kontrol negatif dan kontrol positif dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, konsentrasi 0,2 mg/ml dan konsentrasi 0,3 mg/ml yang dapat dilihat dari nilai signifikan kurang dari 0,05 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas sebagai antikoagulan. Setelah uji normalitas, uji homogenitas terpenuhi maka dari hasil uji Mann-whitney dengan signifikansi $< p,05$ sehingga H_a diterima yang artinya “Ada perbedaan persentase inhibisi koagulasi pada pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, dan 0,3 mg/ml secara *in vitro*. Berdasarkan hasil uji corelasi sperhman menunjukkan dari ketiga konsentrasi sebesar $< 0,05$ artinya tingkat kekuatan hubungan (korelasi) antara variabel perlakuan dengan persen inhibisi sebesar $< 0,05$ hubungan sangat lemah, Jika melihat arah kedua hubungan variabel perlakuan dan persen inhibisi

bernilai positif $<0,05$ atau bersifat searah dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin ditingkatkan jumlah konsentrasi maka nilai persen inhibisi semakin tinggi. Berdasarkan nilai signifikansi maka H_a di terima dan H_o di tolak yang artinya ada pengaruh pada pemberian ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah dengan konsentras 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan 0,3 mg/ml.

Potensi antikoagulan yang dimiliki oleh ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah, diduga karena adanya senyawa alkaloid jenis pelitorin yaitu suatu amida aktif yang memiliki peran menghambat atau memperpanjang aktivitas trombin dan Faktor Xa serta menghambat polimerisasi fibrin (Ku *et al.*, 2016). Penelitian terkait senyawa alkaloid piperin dan pelitorin terbukti memiliki aktivitas menghambat trombin pada pembentukan polimerisasi fibrin trombosit dan Faktor Xa (Lee *et al.*, 2015). Flavanoid adalah senyawa metabolit sekunder yang reaktif yaitu genistein berupa fitoestrogen. Fitoestrogen adalah senyawa dari tanaman yang diketahui memiliki kandungan nonsteroid dengan struktur dan fungsinya mirip dengan esterogen. Fitoestrogen berpotensi sebagai antikogulan dengan cara mencegah pembentukan ateroklerosis, mencegah vasokonstriksi, dan menghambat fibrinogen (Ariyanti, 2016). Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek dalam pro-koagulasi darah pada suatu ekstrak. Apabila tanin digunakan secara oral bersifat vasoprotektif. Tanin juga memiliki efek adtrisingen, yaitu vasokonstriksi pada pembuluh darah kecil yang merupakan salah satu parameter penting dalam hemostasis, sehingga tanin dapat bermanfaat sebagai hemostatik dalam darah (Dandjesso, 2012) Saponin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat biologis seperti kemampuan hemolitik (Oda *et al.*, 2006). Pada tanaman bawang merah memiliki senyawa aktif saponin yang berkhasiat sebagai Antikoagulan (Jaelani, 2007 dan Kurniawati, 2010).

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

1. Hasil uji beda dengan Spearman Corellation menunjukkan adanya perbedaan terhadap nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan (PT) *prothrombin time* koagulasi kelompok perlakuan yaitu darah ditambah 0,1, 0,2 dan 0,3 mg/ml ekstrak etanol rimpang lengkuas merah dengan kontrol negatif (darah + placebo) dan kontrol positif (darah + heparin)
2. Hasil uji hubungan menunjukkan adanya hubungan antara nilai *Clotting Time* (CT), *acivated partial thromboplastin time* (aPTT), dan *prothrombin time* (PT) koagulasi kelompok perlakuan yaitu darah ditambah 0,1, 0,2 dan 0,3 mg/ml ekstrak etanol rimpang lengkuas merah

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang:

1. Identifikasi jenis-jenis senyawa pada ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah dari hasil penelitian ini.
2. Menghitung IC 50 ekstrak etanol 96% rimpang lengkuas merah

DAFTAR PUSTAKA

- Akif, M. Georgiadis, A. D. Mahajan, V. Dive, E. D. Sturrock, R. E. Isaac, dan K. R. Acharya. 2010. High Resolution Crsytal Structure of Drosphila melanogaster Angiotensin-Converting Enzyme in Complex With Novel Inhibitors and Anthypertensive Drugs. *Journal of Molecular Biology I* 400(3): 502-517.
- Amerine, M.A., R.M. Pangborn, E.B. Rockssler. 1965. Principles os Sensory Evaluation of Food, Academic Press, New York and London.
- Angraini, R. V. 2019. Uji Aktivitas Antikoagulan Alkaloid Total Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Secara In Vitro. Sidoarjo: STIKES RS Anwar Medika.
- Artanta,V.2018. Isolation of Alkaloid Compounds from Ethanol Extract of Rimpang Galang Merah (*Alpinia purpurata* (Vielli) K. Schum) and nanoparticle production from its Alkaloid Extract. Comparative Study of Antibacterial Properties on Staphylococcus aureus and Eschericia coli. ISSN: 1410-8917. Semarang: Diponegoro University
- Baldy, C. M. 2005. *Gangguan Koagulasi*. Dalam Patofisiologi: Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi VI. Vol. I. Editor Price, S.A., dan Wilson, LM. Jakarta: EGC. Halaman 297-298.
- Black, J., dan Hawks, J. 2014. Keperawatan Medikal Bedah: Manajemen Klinis untuk Hasil yang Diharapkan. Dialih bahasakan oleh Nampira R. Jakarta: Salemba Emban Patria.
- Bowman, W.C., dan Rand, M.J. 2008. *Textbook of Pharmacology*. Edisi 2. Melbourne: University of Melbourne Press. Halaman 213-219.
- Brunton, L. L. 2006. *The Pharmacological Basis Therapeutics*. 11th. Edition. New York: Mc Graw Hill
- Carns, D. 2004. Intisari Kimia Farmasi. Dialih bahasakan oleh Puspita, M. R. pada tahun 2008. Ed 2. Jakarta: EGC
- D. Manohara. K. Mulya, A. Purwantara, dan D. Wahyuno. 2004. *Phytophthora capsici* on Black Pepper in Indonesia. *Diversity and Management of Phytophthora in Southeast Asia* 114: 132-135.
- Dalimartha, S., 2009. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 6. Pustaka Bunda, Jakarta.
- Dewoto, H.R. 2007. *Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik dan Hemostatik*. Dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi V. Jakarta: FK UI. Halaman 804–806, 816-819.

- Depkes RI, (2006). Pharmaceutical care untuk penyakit hipertensi. Jakarta. Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan
- Durachim, A., Astuti, D. 2018. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik Hemostasis. Jakarta.
- Fisbach, F.T., 2003. A Manual of Laboratory and Diagnostic Test, 7th ed. USA: Williams & Wilkins.
- Gandasoebrata, R. 1992. Hematologi. Dalam: Gandasoebrata R. Penuntun Laboratorium Klinik Cetakan Ketujuh. Dian Rakyat. Jakarta. Hal. 159.
- Grice, D., Kelly L. Rogers, dan Lyn R.Griffith. 2009. Isolation of Bioactive Compounds That Relate to the Anti-Platelet Activity of Cymbopogon Ambiguus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. London: Hindawi Publishing Corporation. Volume 2011. Article ID 467134: 1-8.
- Gross, P. L., dan Weitz J. L. 2009. New Antithrombotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* (86): 139-146.
- Gunawan, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Departemen Farmokologi dan Terapietik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Hanson, Ellen. 2012. *The Hemostatic Pathway in Stroke Iskemia*. Sweden: University of Gothenberg. Halaman 1-87.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi 4. Terjemahan oleh Kosasih P., dan Soediro L. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Hariana, A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Seri 3. Cet.5. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Harter, K., Levin, M., and Handerson, S. (2015). Anticoagulation Drug Therapy: A Review. *Western Journal of Emergency Medicine*. XVI. 11-17.
- Ikawati, Z. 2011. *Farmakoterapi Penyakit Sistem Saraf Pusat*. Yogyakarta: Bursa Ilmu.
- Inayah, W. P. 2015. Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Secara *in vitro*. Skripsi. Universitas Jember.

- Isnanta, refli, dan firman. 2015. *Antikoagulan pada Arial Fibrinolisis*. Medan: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara.
- Katzung, B. G. 2014. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 8. Jakarta: Salemba Medika. Halaman 395-415.
- Katzung, B. G., dan Trevor A.J. 2015. *Basic and Clinical Pharmacology*. Edisi 13. New York: McGraw-Hill Education.
- Kemenkes RI. (2011). Pedoman interpretasi data klinik. Jakarta. Direktorat Pelayanan Kefarmasian
- Kemenkes RI. (2014). Pusat data dan informasi. Situasi dan analisis Diabetes. Jakarta.
- Ku, Sae Kwang., In Chul Lee, Jeonng Ah Kim, dan Jong Sup Bae. 2013. Antithrombotic activities of pellitorine in vitro and in vivo. *Fitoterapia*.
- Lee, W., Jungin Lee, Roshan Kulkarni, Mi Ae Kim, Jae Sam Hwang, MinKyun Na. 2016. Antithrombotic and antiplatelet activities of small-molecule alkaloids from *Scolopendra subspinipes mutilans*. *Scientific Reports* 6: 1-12.
- Lioudaki, E. L., dan Ganotakis E.S. 2010. Associations of Thrombotic-Hemostatic Faktors with Cardiovascular Disease. *The Open Clinical Journal* 3: 25-37.
- Lutz, J., Julia Menke1, Daniel Sollinger, Helmut Schinzel dan Klaus Thürmel. 2014. Haemostasis in Chronic Kidney Disease. *Nephrol Dial Transplant*.
- M. Untoro, E. Fachriyah, dan D. Kusriani, 2016. "Isolasi dan Identifikasi Seyawa Golongan Alkaloid dari Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*)," *Jurnal Kimia Sains da Aplikasi*, vol. 19, no.2, pp. 58-62.
- Mantik, M.F.J (2004). Gangguan Koagulasi. *Sari Pediatri*, Vol. 6, No. 1 2004. Halaman: 60-67
- Mosucci, M. 2003. Predictors of Major Bleeding in Acute Coronary Syndromes: The Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *European Heart Journal*. Vol. 24: 15-23
- Murray, R. K., Granner D. K., Mayes P. A., dan Rodwell V. W. 2003. *Biokimia Harper*. Diterjemahkan oleh Andry Hartono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC Medical Publisher.
- Narayan Das Prajapathi, S. S. Purohit, Arun K. Sharma, Tarun Kumar, A handbook of medicinal plants: A complete source book, Agrobios, India, 2003.
- Neal, M. J. 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*. Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga. Halaman 44.

- 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.
- Olson KR, Trickey DN, Miller MA, Yungmann Hile ML. Toxicity, Warfarin and Superwarfarins. *eMedicine, Emergency Medicine*. 2009. Diakses dari <http://emedicine.medscape.com>
- Palta, Sanjeev, Saroa Richa, dan Palta Anshu. 2014. Overview of the Coagulation System. *Indian Journal of Anaesthesia* 58(5): 515–523.
- Prasetyo, K.R.D. (2016). Uji Beda Daya Hambat Antara Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alphinia Purpurata K. Schum*) dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Putih (*Alphinia Galanga W.*) terhadap *Candida Albicans*. *Skripsi*. FKG Universitas Jember.
- Rosmiati, H., dan Gan V.H.S. 2007. *Koagulan dan Antikoagulan*. Dalam *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Editor Bambang Suharto, Udin Sjamsudin, Rianto Setiabudy, Arini Setiawati dan Vincent H.S. Gan. Jakarta: FK UI. Halaman 265-267.
- Tangkery, R.A.B., Paransa, D.S., dan Rumengan, A. (2013). Uji Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Mangrove *Aegiceras corniculatum*. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 1(1): 7-14.
- Ulfa, E, U., Riyanti, R., dan Rachim, R R. 2014. Pengaruh Ekstrak Kubis Merah (*Brassica oleracea var. capitata L.*) terhadap Waktu Pembekuan Darah. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPOA) XVI*.
- Rohmah, M. K., & Fickri, D. Z. (2020). Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolitik Alkaloid Total Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) secara *In Vitro*. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), 115-125.
- Rohmah, M. K., Fickri, D. Z., Kasifa, W., & Wahyuni, K. I. (2020). Uji Aktivitas Fibrinolisis Ekstrak Alkaloid Total Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata (Vielli) K. Schum*) Secara *In Vitro*. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 1(2), 56-66.
- Rohmah, M. K., Fickri, D. Z., Damasari, K. P., Azis, R., & Wahyuni, K. I. (2020). Uji Aktifitas Antikoagulan Ekstrak Alkaloid Total Daun Alpukat (*Persea americana Mill*) Secara *In Vitro*. *Journal of Pharmaceutical Care Anwar Medika (J-PhAM)*, 2(1), 39-51.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Detreminasi Tumbuhan



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu.
KOTA BATU 65313

Nomor : 074 / 238A / 102.7 / 2018
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Lengkuas Merah**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama / NIM : AFIDA NUR AINI/15020202001
RIMA VIA ANGRAINI/ 15020200021
WAHYU KASIFA/ 15020201030
Fakultas : FAKULTAS FARMASI, STIKES RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA

1. Perihal determinasi tanaman lengkuas merah

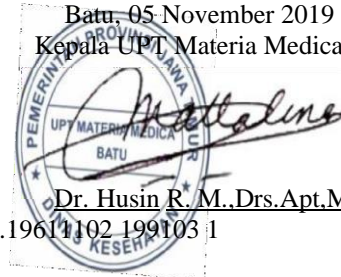
Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super divisi : Spermatophyta.
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Sub divisi : Angiospermae.
Kelas : Monocotyledonae
Bangsa : Zingiberales
Suku : Zingiberaceae
Marga : Alpinia
Jenis : *Alpinia purpurata* (Vieill.) K. Sc
Sinonim : *Alpinia galanga* var. *rubra*
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-
110b-111b-112a- 113b-116a-119b-120b-128b-129a-130b- 132a.

2. Nama Simplisia : Alpiniae purpuratae Rhizoma/ Rimpang Lengkuas Merah.

3. Morfologi : Habitus: Semak, tahunan, tinggi 1-2 m. Batang: Semu, tegak, masif, terdiri dari pelepah daun, hijau kemerahan. Daun: Tunggal, duduk dalam roset akar, lanset, ujung runcing, pangkal tumpul, panjang 30-90 cm, lebar 5-15 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Majemuk, berkelamin dua, di ujung batang, kelopak hijau, mahkota merah, merah. Buah: Kotak, bulat, hijau. Biji: Bulat, hitam. Akar: Serabut, coklat muda.

4. Kandungan : Rimpang mengandung saponin, alkaloid, tannin, flavonoida, dan minyak atsiri, serta galangol, galangin, kaemferida, alpinia, kariofilenol, dan kariofilena oksida.
 5. Penggunaan : Penelitian (Skripsi).
 6. Daftar Pustaka
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta
- Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 05 November 2019
Kepala UPT Materia Medica



Dr. Husin R. M., Drs. Apt. M. Kes.
NIP.196171102 199103 1

Lampiran 2. Alat dan Dokumentasi Penelitian



Timbangan Analitik



Tabung Non-EDTA



Pipet Mikro



Heparin



Remaserasi dengan etanol 96%



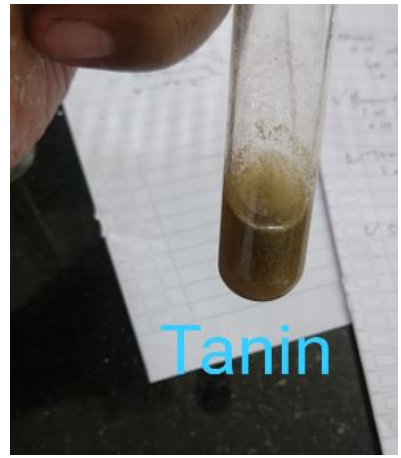
Hasil penyaringan maserasi



Suhu rotari vaporator



Hasil rotari ekstrak etanol 96%
rimpang lengkuas merah



Lampiran 3. Hasil CT,Aptt dan PT sebagai Antikoagulan

**PENGAMATAN UJI AKTIVITAS ANTIKOAGULAN EKSTRAK ETANOL 96%
RIMPANG LENGKUAS MERAH
SECARA *IN VITRO***

NAMA : ZANU RAMA LEHANA
LAB : BIOMEDIK STIKes RUMAH SAKIT ANWAR MEDIKA

SUBJEK	CLOTTING TIME			APTT			PT		
	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3	0,1	0,2	0,3
Subjek I	14%	7%	6%	01:17	00:53	00:38	00:44	00:36	00:40
Subjek II	7%	5%	9%	00:35	00:44	00:25	00:48	00:35	00:28
Subjek III	5%	11%	5%	00:58	00:40	00:23	00:55	00:25	00:37
Subjek IV	12%	10%	7%	01:03	00:29	00:29	00:43	00:33	00:48
Subjek V	10%	7%	7%	00:47	00:55	00:15	00:30	00:18	00:41

Lampiran 4. Hasil Uji SPSS Spearman Corellation versi 20

1. Nilai *CLOTTING TIME*

Correlations				perlakuan	persen_inhibisi_koagulasi
perlakuan	Spearman's rho	Correlation Coefficient		1.000	.121
		Sig. (2-tailed)		.	.564
		N		25	25
		Bias		.000	-.010
		Std. Error		.000	.272
		Bootstrap ^c	Lower	1.000	-.485
			Upper	1.000	.568
		Correlation Coefficient		.121	1.000
		Sig. (2-tailed)		.564	.
		N		25	25
persen_inhibisi_koagulasi	Spearman's rho	Bias		-.010	.000
		Std. Error		.272	.000
		Bootstrap ^c	Lower	-.485	1.000
			Upper	.568	1.000
		Correlation Coefficient		.121	1.000
		Sig. (2-tailed)		.564	.
		N		25	25
		Bias		.000	-.010
		Std. Error		.000	.272
		Bootstrap ^c	Lower	1.000	-.485
Upper	1.000		.568		

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

c. Unless otherwise noted, bootstrap results are based on 1000 bootstrap samples

Aptt

Correlations				perlakuan	APTT
perlakuan	Spearman's rho	Correlation Coefficient		1.000	.085
		Sig. (2-tailed)		.	.686
		N		25	25
		Correlation Coefficient		.085	1.000
		Sig. (2-tailed)		.686	.
		N		25	25

Pt

Correlations				perlakuan	PT
perlakuan	Pearson Correlation			1	-.351
		Sig. (2-tailed)			.086
		N		25	25
PT	Pearson Correlation			-.351	1
		Sig. (2-tailed)			.086
		N		25	25

Lampiran SPSS.

DATA SPSS NILAI CT KONSENTRASI 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan 0,3 mg/ml

Ranks				
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks				
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^a	
	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	6.70	33.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	4.30	21.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-1.273
Asymp. Sig. (2-tailed)	.203
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	5.50	27.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	5.50	27.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

DATA SPSS NILAI APTT KONSENTRASI 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan 0,3 mg/ml

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	6.60	33.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	4.40	22.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	7.000
Wilcoxon W	22.000
Z	-1.149
Asymp. Sig. (2-tailed)	.251
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	7.10	35.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.676
Asymp. Sig. (2-tailed)	.094
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	6.90	34.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	4.10	20.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	5.500
Wilcoxon W	20.500
Z	-1.467
Asymp. Sig. (2-tailed)	.142
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.151 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

DATA SPSS NILAI PT KONSENTRASI 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml dan 0,3 mg/ml

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol positif	5	8.00	40.00
	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Mann-Whitney

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	kontrol positif	5	8.00	40.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	3.00	15.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.795
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	6.40	32.00
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	4.60	23.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.940
Asymp. Sig. (2-tailed)	.347
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,1 mg/ml	5	7.10	35.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	3.90	19.50
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	4.500
Wilcoxon W	19.500
Z	-1.681
Asymp. Sig. (2-tailed)	.093
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-3.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
persen inhibisi koagulasi	konsentrasi 0,2 mg/ml	5	6.30	31.50
	konsentrasi 0,3 mg/ml	5	4.70	23.50
	Total	10		

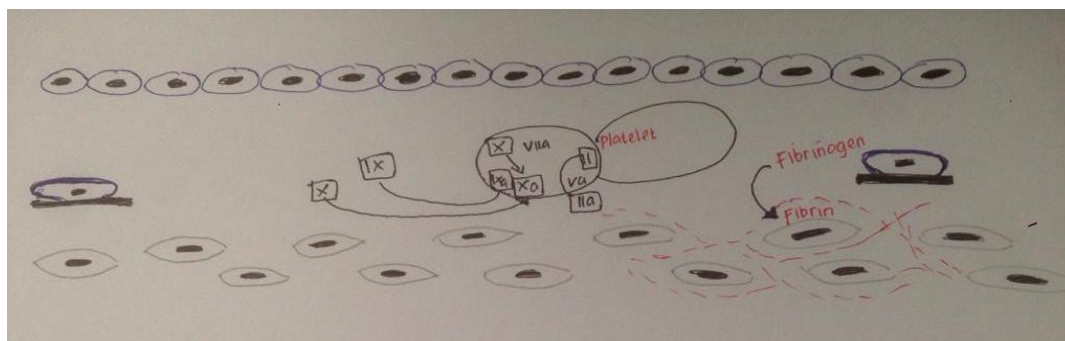
Test Statistics^a

	persen inhibisi koagulasi
Mann-Whitney U	8.500
Wilcoxon W	23.500
Z	-.849
Asymp. Sig. (2-tailed)	.396
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^b

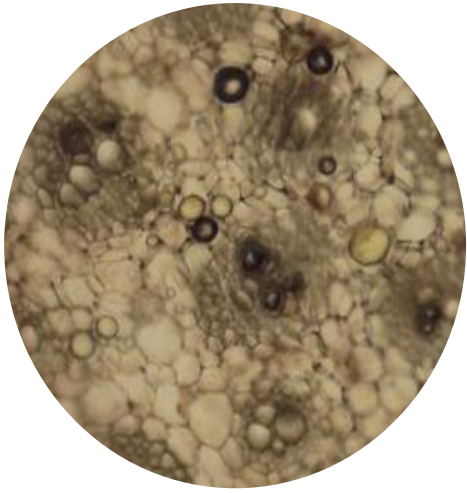
a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

GAMBAR MEKANISME KOAGULASI DARAH



Mikroskopis lengkuas merah



Lampiran 5. F Tabel

Titik Persentase Distribusi F untuk Probabilita = 0,05

df untuk penyebut (N2)	df untuk pembilang (N1)														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	161	199	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	245	246
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.40	19.41	19.42	19.42	19.43
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.76	8.74	8.73	8.71	8.70
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.94	5.91	5.89	5.87	5.86
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.70	4.68	4.66	4.64	4.62
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.03	4.00	3.98	3.96	3.94
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.60	3.57	3.55	3.53	3.51
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.31	3.28	3.26	3.24	3.22
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.10	3.07	3.05	3.03	3.01
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.94	2.91	2.89	2.86	2.85
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.82	2.79	2.76	2.74	2.72
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.72	2.69	2.66	2.64	2.62
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.63	2.60	2.58	2.55	2.53
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.57	2.53	2.51	2.48	2.46
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.51	2.48	2.45	2.42	2.40
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.46	2.42	2.40	2.37	2.35
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.41	2.38	2.35	2.33	2.31
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.37	2.34	2.31	2.29	2.27
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.34	2.31	2.28	2.26	2.23
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.31	2.28	2.25	2.22	2.20
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.28	2.25	2.22	2.20	2.18
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.26	2.23	2.20	2.17	2.15
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.24	2.20	2.18	2.15	2.13
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.22	2.18	2.15	2.13	2.11
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.20	2.16	2.14	2.11	2.09
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.18	2.15	2.12	2.09	2.07
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.17	2.13	2.10	2.08	2.06
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.15	2.12	2.09	2.06	2.04
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.14	2.10	2.08	2.05	2.03
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.13	2.09	2.06	2.04	2.01
31	4.16	3.30	2.91	2.68	2.52	2.41	2.32	2.25	2.20	2.15	2.11	2.08	2.05	2.03	2.00
32	4.15	3.29	2.90	2.67	2.51	2.40	2.31	2.24	2.19	2.14	2.10	2.07	2.04	2.01	1.99
33	4.14	3.28	2.89	2.66	2.50	2.39	2.30	2.23	2.18	2.13	2.09	2.06	2.03	2.00	1.98
34	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.29	2.23	2.17	2.12	2.08	2.05	2.02	1.99	1.97
35	4.12	3.27	2.87	2.64	2.49	2.37	2.29	2.22	2.16	2.11	2.07	2.04	2.01	1.99	1.96
36	4.11	3.26	2.87	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15	2.11	2.07	2.03	2.00	1.98	1.95
37	4.11	3.25	2.86	2.63	2.47	2.36	2.27	2.20	2.14	2.10	2.06	2.02	2.00	1.97	1.95
38	4.10	3.24	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14	2.09	2.05	2.02	1.99	1.96	1.94
39	4.09	3.24	2.85	2.61	2.46	2.34	2.26	2.19	2.13	2.08	2.04	2.01	1.98	1.95	1.93
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.04	2.00	1.97	1.95	1.92
41	4.08	3.23	2.83	2.60	2.44	2.33	2.24	2.17	2.12	2.07	2.03	2.00	1.97	1.94	1.92
42	4.07	3.22	2.83	2.59	2.44	2.32	2.24	2.17	2.11	2.06	2.03	1.99	1.96	1.94	1.91
43	4.07	3.21	2.82	2.59	2.43	2.32	2.23	2.16	2.11	2.06	2.02	1.99	1.96	1.93	1.91
44	4.06	3.21	2.82	2.58	2.43	2.31	2.23	2.16	2.10	2.05	2.01	1.98	1.95	1.92	1.90
45	4.06	3.20	2.81	2.58	2.42	2.31	2.22	2.15	2.10	2.05	2.01	1.97	1.94	1.92	1.89

Lampiran 6. T tabel 0,05

Titik Persentase Distribusi t ($df = 1 - 40$)

Pr	0.25	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005	0.001
df	0.50	0.20	0.10	0.050	0.02	0.010	0.002
1	1.00000	3.07768	6.31375	12.70620	31.82052	63.65674	318.30884
2	0.81650	1.88562	2.91999	4.30265	6.96456	9.92484	22.32712
3	0.76489	1.63774	2.35336	3.18245	4.54070	5.84091	10.21453
4	0.74070	1.53321	2.13185	2.77645	3.74695	4.60409	7.17318
5	0.72669	1.47588	2.01505	2.57058	3.36493	4.03214	5.89343
6	0.71756	1.43976	1.94318	2.44691	3.14267	3.70743	5.20763
7	0.71114	1.41492	1.89458	2.36462	2.99795	3.49948	4.78529
8	0.70639	1.39682	1.85955	2.30600	2.89646	3.35539	4.50079
9	0.70272	1.38303	1.83311	2.26216	2.82144	3.24984	4.29681
10	0.69981	1.37218	1.81246	2.22814	2.76377	3.16927	4.14370
11	0.69745	1.36343	1.79588	2.20099	2.71808	3.10581	4.02470
12	0.69548	1.35622	1.78229	2.17881	2.68100	3.05454	3.92963
13	0.69383	1.35017	1.77093	2.16037	2.65031	3.01228	3.85198
14	0.69242	1.34503	1.76131	2.14479	2.62449	2.97684	3.78739
15	0.69120	1.34061	1.75305	2.13145	2.60248	2.94671	3.73283
16	0.69013	1.33676	1.74588	2.11991	2.58349	2.92078	3.68615
17	0.68920	1.33338	1.73961	2.10982	2.56693	2.89823	3.64577
18	0.68836	1.33039	1.73406	2.10092	2.55238	2.87844	3.61048
19	0.68762	1.32773	1.72913	2.09302	2.53948	2.86093	3.57940
20	0.68695	1.32534	1.72472	2.08596	2.52798	2.84534	3.55181
21	0.68635	1.32319	1.72074	2.07961	2.51765	2.83136	3.52715
22	0.68581	1.32124	1.71714	2.07387	2.50832	2.81876	3.50499
23	0.68531	1.31946	1.71387	2.06866	2.49987	2.80734	3.48496
24	0.68485	1.31784	1.71088	2.06390	2.49216	2.79694	3.46678
25	0.68443	1.31635	1.70814	2.05954	2.48511	2.78744	3.45019
26	0.68404	1.31497	1.70562	2.05553	2.47863	2.77871	3.43500
27	0.68368	1.31370	1.70329	2.05183	2.47266	2.77068	3.42103
28	0.68335	1.31253	1.70113	2.04841	2.46714	2.76326	3.40816
29	0.68304	1.31143	1.69913	2.04523	2.46202	2.75639	3.39624
30	0.68276	1.31042	1.69726	2.04227	2.45726	2.75000	3.38518
31	0.68249	1.30946	1.69552	2.03951	2.45282	2.74404	3.37490
32	0.68223	1.30857	1.69389	2.03693	2.44868	2.73848	3.36531
33	0.68200	1.30774	1.69236	2.03452	2.44479	2.73328	3.35634
34	0.68177	1.30695	1.69092	2.03224	2.44115	2.72839	3.34793
35	0.68156	1.30621	1.68957	2.03011	2.43772	2.72381	3.34005
36	0.68137	1.30551	1.68830	2.02809	2.43449	2.71948	3.33262
37	0.68118	1.30485	1.68709	2.02619	2.43145	2.71541	3.32563
38	0.68100	1.30423	1.68595	2.02439	2.42857	2.71156	3.31903
39	0.68083	1.30364	1.68488	2.02269	2.42584	2.70791	3.31279
40	0.68067	1.30308	1.68385	2.02108	2.42326	2.70446	3.30688

Catatan: Probabilita yang lebih kecil yang ditunjukkan pada judul tiap kolom adalah luas daerah dalam satu ujung, sedangkan probabilitas yang lebih besar adalah luas daerah dalam kedua ujung

Lampiran 7. R hitung 0,05

Tabel r untuk df = 1 - 50

df = (N-2)	Tingkat signifikansi untuk uji satu arah				
	0.05	0.025	0.01	0.005	0.0005
	Tingkat signifikansi untuk uji dua arah				
	0.1	0.05	0.02	0.01	0.001
1	0.9877	0.9969	0.9995	0.9999	1.0000
2	0.9000	0.9500	0.9800	0.9900	0.9990
3	0.8054	0.8783	0.9343	0.9587	0.9911
4	0.7293	0.8114	0.8822	0.9172	0.9741
5	0.6694	0.7545	0.8329	0.8745	0.9509
6	0.6215	0.7067	0.7887	0.8343	0.9249
7	0.5822	0.6664	0.7498	0.7977	0.8983
8	0.5494	0.6319	0.7155	0.7646	0.8721
9	0.5214	0.6021	0.6851	0.7348	0.8470
10	0.4973	0.5760	0.6581	0.7079	0.8233
11	0.4762	0.5529	0.6339	0.6835	0.8010
12	0.4575	0.5324	0.6120	0.6614	0.7800
13	0.4409	0.5140	0.5923	0.6411	0.7604
14	0.4259	0.4973	0.5742	0.6226	0.7419
15	0.4124	0.4821	0.5577	0.6055	0.7247
16	0.4000	0.4683	0.5425	0.5897	0.7084
17	0.3887	0.4555	0.5285	0.5751	0.6932
18	0.3783	0.4438	0.5155	0.5614	0.6788
19	0.3687	0.4329	0.5034	0.5487	0.6652
20	0.3598	0.4227	0.4921	0.5368	0.6524
21	0.3515	0.4132	0.4815	0.5256	0.6402
22	0.3438	0.4044	0.4716	0.5151	0.6287
23	0.3365	0.3961	0.4622	0.5052	0.6178
24	0.3297	0.3882	0.4534	0.4958	0.6074
25	0.3233	0.3809	0.4451	0.4869	0.5974
26	0.3172	0.3739	0.4372	0.4785	0.5880
27	0.3115	0.3673	0.4297	0.4705	0.5790
28	0.3061	0.3610	0.4226	0.4629	0.5703
29	0.3009	0.3550	0.4158	0.4556	0.5620
30	0.2960	0.3494	0.4093	0.4487	0.5541
31	0.2913	0.3440	0.4032	0.4421	0.5465
32	0.2869	0.3388	0.3972	0.4357	0.5392
33	0.2826	0.3338	0.3916	0.4296	0.5322
34	0.2785	0.3291	0.3862	0.4238	0.5254
35	0.2746	0.3246	0.3810	0.4182	0.5189
36	0.2709	0.3202	0.3760	0.4128	0.5126
37	0.2673	0.3160	0.3712	0.4076	0.5066
38	0.2638	0.3120	0.3665	0.4026	0.5007
39	0.2605	0.3081	0.3621	0.3978	0.4950
40	0.2573	0.3044	0.3578	0.3932	0.4896
41	0.2542	0.3008	0.3536	0.3887	0.4843
42	0.2512	0.2973	0.3496	0.3843	0.4791
43	0.2483	0.2940	0.3457	0.3801	0.4742
44	0.2455	0.2907	0.3420	0.3761	0.4694
45	0.2429	0.2876	0.3384	0.3721	0.4647
46	0.2403	0.2845	0.3348	0.3683	0.4601
47	0.2377	0.2816	0.3314	0.3646	0.4557
48	0.2353	0.2787	0.3281	0.3610	0.4514
49	0.2329	0.2759	0.3249	0.3575	0.4473
50	0.2306	0.2732	0.3218	0.3542	0.4432

