

POTENSI ANTIPLATELET CAMPURAN EKSTRAK BINAHONG, JAHE DAN KUNYIT PADA MENCIT PUTIH JANTAN

Submitted : 15 Oktober 2021

Edited : 6 Desember 2021

Accepted : 13 Desember 2021

Lusi Indriani*¹, Moerfiah², Oktaviana Zunnita¹, Faisal Pradana¹

¹Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan

²Prodi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan

*Email : lusi.apoteker@gmail.com

*Telepon : 081519301396

ABSTRACT

Antiplatelets can inhibit platelets aggregation and have been used in prevention and treatment the trombotic disease. Binahong leaves, ginger dan turmeric have antiplatelets activity. The mixture of these plants are expected to increase the antiplatelets potency. This study aimed to determine the optimum dose of ethanol extracts of binahong leaves, ginger dan turmeric as antiplatelets agent. The antiplatelets testing were carried out by in vivo method using parameter of bleeding and coagulation time. The testing solutions were administered orally once a day for 8 days. There were 7 treatment groups consist of positive control (Acetosal 0.29mg/20gBW), negative control (CMC-Na 0.5%), binahong 10mg/20gBW, mixture 1 of binahong:ginger: turmeric (5:0.5:1mg/20gBW), mixture 2 (10:0.5:1mg/20gBW), mixture 3 (5:1:1mg/20gBW), and mixture 4 (5:0.5:2mg/20gBW). The bleeding and coagulation time were determined at 0, 3rd, 6th and 9th day. The bleeding time was determined by injuring mice tail, the blood that comes out were absorbed with absorption paper. From the first bleeding time until stopped was calculated as bleeding time. The coagulation time was determined by observing the formation of fibrin thread in the broken capillary pipe. The blood from the end tail were absorbed with capillary pipe, and then was broken every 15 seconds. The antiplatelets activity in mice with bleeding time parameter showed that mixture 3 was more effective at 3rd day with an increased of 16.60%, than the positive control group (3.92%). The coagulation time parameter showed that the binahong group was more effective at 9th day with an increased of 203.55%, than the positive control group (89.71%). The mixture of binahong, ginger, and turmeric were the most effective in increasing bleeding time, whereas binahong was the most effective in increasing coagulation time.

Keywords : Binahong ginger turmeric, Antiplatelets, Bleeding Time

PENDAHULUAN

Platelet merupakan sel darah yang berperan pada proses hemostasis. Platelet beragregasi membentuk sumbat hemostasis ketika terjadi luka pada pembuluh darah. Sumbat hemostasis dapat berupa bekuan darah yang terbentuk dari agregat-agregat platelet (trombus). Dalam keadaan normal, pembentukan trombus digunakan untuk

mencegah perdarahan, namun pada pembentukan trombus patologis, trombus akan tetap terbentuk meskipun tidak ada luka pada pembuluh darah. Karena adanya proses ketidaknormalan dari trombus sehingga dapat menyebabkan penyakit kelainan vaskuler seperti infark miokard, *stroke*, dan penyakit peripheral vaskuler⁽¹⁾. Penyakit kelainan vaskuler dapat dihambat dengan terapi obat-

obatan antitrombosis, seperti antiplatelet. Anti platelet berperan dalam menghambat agregasi platelet dan digunakan dalam pencegahan maupun pengobatan penyakit thrombosis⁽²⁾. Asetosal dosis rendah merupakan salah satu golongan anti inflamasi non steroid yang bisa digunakan sebagai obat antiplatelet. Asetosal sebagai antiplatelet mampu menghambat pembentukan tromboxan A₂ melalui penghambatan siklooksigenase secara irreversible⁽³⁾.

Binahong, jahe, dan kunyit adalah tanaman obat yang secara terpisah atau digabung sudah digunakan masyarakat secara empiris untuk mencegah maupun mengobati penyakit. Ekstrak daun binahong yang mengandung flavonoid kaempferol mempunyai aktivitas hipolipidemia dan antioksidan pada tikus putih mulai dosis 500 mg/kgBB⁽⁴⁾. Ekstrak rimpang jahe yang mengandung gingerol pada dosis 50 mg/kgBB mempunyai aktivitas antiplatelet⁽⁵⁾. Pada penelitian Sukandar, ekstrak rimpang kunyit yang mengandung kurkuminoid pada dosis 100 mg/kgBB mempunyai aktivitas antiplatelet⁽⁶⁾.

Menurut Jazilah, ekstrak etanol daun binahong lebih toksik dibanding ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan⁽⁷⁾. Penggunaan jahe dan kunyit dalam campuran ditujukan untuk memperkuat fungsi campuran yang dibuat. Gabungan dari ketiga tanaman ini diharapkan dapat meningkatkan potensinya sebagai antiplatelet. Pengujian antiplatelet dilakukan secara *in vivo*, menggunakan parameter waktu perdarahan dan waktu koagulasi⁽⁸⁾. Penelitian ini bertujuan menentukan dosis optimal campuran ekstrak etanol daun binahong, jahe, dan kunyit sebagai antiplatelet.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain ayakan *Mesh 30, grinder*, botol kaca gelap, jarum suntik, spuit oral, neraca analitik (Ohaus[®]),

Oven, Tanur (Vulcan A-55[®]), *Vaccum rotary evaporator, stopwatch*, kertas saring, *lancet* steril, penanda hewan coba, sonde lambung, lumpang, alu, cawan porcelain, krus porcelain, dan alat-alat gelas. Alat lain yang digunakan selama penelitian adalah kandang tikus berupa kandang plastik dengan penutup kawat berukuran (30x20x12) cm² yang dialasi dengan sekam.

Bahan yang digunakan antara lain mencit jantan galur *Mus musculus* (28 ekor) dengan BB \pm 30g dari peternakan, pakan tikus, daun binahong (BALITRO Bogor), rimpang jahe dan kunyit (pasar Bogor). Pereaksi *Bouchardat, Dragendorff, Mayer*, HCl pekat, HCl 2 N, serbuk Mg, gelatin, FeCl₃, kloroform, asam asetat anhidrat, H₂SO₄ pekat, akuades, etanol 70%, etanol 96%, Na-CMC, dan Asetosal (Tromboaspilet[®]).

Pembuatan Simplisia

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juli hingga Desember 2020 di Laboratorium Penelitian IRATCO (Indonesia Rat Company) Dramaga Bogor. Daun binahong, rimpang jahe emprit, dan kunyit dibersihkan, dicuci, ditiriskan, dirajang (kecuali daun binahong), kemudian dikeringkan menggunakan oven suhu 50-55°C selama 3 hari. Kemudian disortasi kering, dihaluskan, diayak, dan disimpan dalam wadah tertutup rapat dengan penambahan silica gel untuk mengontrol kelembaban.

Pembuatan Ekstrak

Daun binahong diekstraksi dengan pelarut etanol 70%, sedangkan rimpang jahe dan kunyit diekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Ketiga tanaman tersebut diekstraksi secara maserasi dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 yang dilakukan selama 3 hari. Kemudian pelarutnya diuapkan menggunakan *vaccum rotavapor* hingga diperoleh ekstrak kental. Selanjutnya dilakukan pengujian kadar air dan kadar abu ekstrak⁽⁹⁾.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak daun binahong, rimpang jahe, dan kunyit secara kualitatif. Pengujian fitokimia meliputi pengujian alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, triterpen dan steroid⁽¹⁰⁾.

Uji Potensi Antiplatelet

Hewan uji yang akan digunakan adalah mencit jantan galur DDY (Deutchland Denken Yonken) usia 2-3 bulan dan sehat dengan berat rata-rata 25-35 g sebanyak 28 ekor. Mencit dipelihara dalam kandang plastik, lalu diaklimatisasi selama kurang lebih 1 minggu, kemudian ditimbang kembali untuk pengelompokan. Aklimatisasi bertujuan untuk membiasakan tikus terhadap lingkungan yang baru dan kandang selama perlakuan. Pengelompokan hewan coba dilakukan secara acak dengan jumlah 4 ekor per kelompok, dibuat menjadi 7 kelompok perlakuan, seperti yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Kelompok Perlakuan Antiplatelet

Kelompok	Perlakuan
Kontrol Positif	Asetosal dosis 0,29 mg/20 gBB
Kontrol Negatif	Na-CMC 0,5 %
Binahong	Ekstrak binahong (10 mg/20 gBB)
Kombinasi 1	Ekstrak binahong-jahe-kunyit (5:0,5:1 mg/20 gBB)
Kombinasi 2	Ekstrak binahong-jahe-kunyit (10:0,5:1 mg/20 gBB)
Kombinasi 3	Ekstrak binahong-jahe-kunyit (5:1:1 mg/20 gBB)
Kombinasi 4	Ekstrak binahong-jahe-kunyit (5:0,5:2 mg/20 gBB)

Bahan uji diberikan secara oral sehari sekali selama 8 hari. Penentuan waktu perdarahan dilakukan pada mencit kelompok uji pada hari ke-0, 3, 6, dan 9 dengan cara melukai ekor mencit yang terlebih dahulu

dibersihkan dengan etanol. Ekor dilukai dengan menggunakan lancet steril pada jarak 2 cm dari pangkal ekor dengan kedalaman tidak lebih dari 2 mm. Darah yang keluar diserap pada kertas saring dengan interval tertentu. Waktu mulainya keluar darah sampai tidak terdeteksi lagi pada kertas saring digunakan sebagai waktu perdarahan⁽¹¹⁾. Berdasarkan hasil penentuan waktu perdarahan dapat ditentukan persentase peningkatan waktu perdarahan, kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan software *Statistical Product and Service Solution* (SPSS). Metode yang dipakai adalah Anova Satu Arah dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil uji *One Way Anova* dilanjutkan dengan uji statistik lanjutan yaitu LSD (*Least Significantly Difference*). Pengukuran waktu koagulasi dilakukan dengan cara mengamati pembentukan benang fibrin pada bagian pipa kapiler yang dipatahkan, darah dari ujung ekor diserap dengan pipa kapiler lalu dipatahkan setiap interval waktu 15 detik. Waktu koagulasi adalah waktu yang diperlukan untuk terbentuknya benang fibrin tersebut.

Kode Etik Hewan Coba

Rancangan penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dan diterima oleh Komite Etik Penelitian dengan nomor Surat Keputusan Komite Etik Penggunaan Hewan Percobaan FMIPA Universitas Pakuan No. 121/KEPHP-UNPAK/09-2020 pada tanggal 18 September 2020.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Penelitian

Hasil perhitungan rendemen serbuk simplisia daun binahong didapatkan sebesar 14%, jahe sebesar 16,46% dan kunyit sebesar 12,75%. Hasil perhitungan rendemen ekstrak kental daun binahong sebesar 17,67%, hasil ini sesuai dengan persyaratan yaitu tidak kurang dari 11,9%. Rendemen ekstrak jahe diperoleh sebesar 17,7%, yaitu sesuai dengan persyaratan tidak kurang dari 5,9%. Rendemen

ekstrak kunyit diperoleh sebesar 18,4%, ini juga sesuai dengan persyaratan yaitu tidak kurang dari 11,7%⁽¹²⁾.

Hasil penetapan kadar air pada serbuk simplisia binahong, jahe, dan kunyit berturut-turut adalah 3,93%, 5,67%, dan 5,74%. Sedangkan kadar air ekstrak etanol binahong, jahe, dan kunyit berturut-turut sebesar 4,92%, 7,60%, dan 8,41%. Hasil yang didapat memenuhi persyaratan bahwa kadar air ekstrak binahong tidak melebihi 8,9% dan kadar air jahe dan kunyit tidak melebihi 10%⁽¹²⁾.

Hasil penetapan kadar abu serbuk simplisia daun binahong, jahe, dan kunyit didapatkan rata-rata sebesar 7,42%, 6,56%, dan 6,18%. Sedangkan penetapan kadar abu ekstrak etanol daun binahong, jahe, dan kunyit didapatkan berturut-turut sebesar 8,05%, 7,60%, 8,64%. Hasil ini memenuhi persyaratan karena tidak melebihi 10%⁽¹³⁾.

Hasil pengujian fitokimia simplisia dan ekstrak daun binahong, jahe, dan kunyit ditunjukkan pada Tabel 2. Dimana hasil yang didapatkan sesuai dengan penelitian Paskartini⁽¹⁴⁾ dan Agustina⁽¹⁵⁾.

Pengujian Antiplatelet

Hewan coba yang digunakan yaitu 28 ekor mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan rata-rata berat badan $31,6 \pm 3,60$ g. Mencit dikelompokkan ke dalam 7 kelompok perlakuan. Pengujian potensi antiplatelet menggunakan parameter waktu perdarahan dan waktu koagulasi. Waktu perdarahan diamati untuk melihat pengaruh bahan uji terhadap proses pembentukan sumbat hemostatik sementara, yaitu proses hemostatik fase platelet. Adanya efek antiagregasi platelet ditunjukkan oleh waktu perdarahan yang semakin panjang setelah pemberian bahan uji⁽¹⁶⁾.

Waktu perdarahan

Penentuan waktu perdarahan merupakan pengujian untuk mengetahui sejauh mana interaksi antara platelet dengan dinding pembuluh darah dalam membentuk bekuan darah. Pemanjangan waktu pembekuan darah menunjukkan adanya penurunan aktivitas agregasi platelet yang disebabkan karena penghambatan enzim siklooksigenase, sehingga sintesis tromboksan A2 menurun. Persentase kenaikan atau penurunan waktu perdarahan pada hari ke-0 dan 3 dapat dilihat pada Tabel 3.

Persentase peningkatan waktu perdarahan tertinggi pada hari 0-3 ditunjukkan oleh kelompok dosis campuran 3 (16,6%). Kelompok ini terdiri dari kandungan jahe yang lebih besar dibanding kelompok lainnya yaitu 1 mg/20 gBB. Waktu perdarahan normal pada manusia adalah 1-3 menit, sedangkan waktu perdarahan normal untuk mencit adalah ± 1 menit⁽¹⁷⁾. Waktu perdarahan yang memanjang setelah pemberian ekstrak uji diduga karena terjadi penghambatan pembentukan sumbat hemostatik. Penghambatan sumbat hemostatik terjadi ketika ada penumpukan platelet di jaringan ikat pada daerah luka yang membentuk agregat. Dengan dihambatnya penumpukan platelet tersebut, maka waktu perdarahan semakin meningkat. Efek ini diduga disebabkan oleh adanya senyawa flavonoid pada ketiga tanaman. Menurut Middleton *et al.*⁽¹⁸⁾, flavonoid merupakan salah satu jenis antioksidan yang dapat menghambat pelekatan, agregasi, dan sekresi platelet. Mekanisme kerja flavonoid menghambat metabolisme asam arakidonat yang menyebabkan sintesis tromboksan A2 terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat. Alkaloid dapat menghambat sintesis kolagen dan ADP yang dapat menginduksi terjadinya agregasi platelet⁽¹⁶⁾.

Waktu Koagulasi

Parameter kedua yang diamati adalah waktu koagulasi. Pengamatan waktu koagulasi bertujuan untuk melihat pengaruh bahan uji terhadap proses pembentukan sumbat hemostatik sekunder, yaitu proses hemostatis fase koagulasi. Tahapan dalam fase koagulasi menyebabkan perubahan fibrinogen yang bersirkulasi menjadi fibrin yang tidak larut dan fibrin menutup permukaan sumbatan platelet. Platelet diperangkap dalam suatu struktur yang sangat berserabut, membentuk suatu bekuan darah yang menutup secara efektif bagian yang terluka dari pembuluh darah⁽¹⁹⁾.

Pengujian waktu koagulasi dilakukan pada mencit kelompok uji pada hari ke-0, 3, 6, dan 9 dengan memotong ujung ekor 1-2 cm dari pangkal ekor, darah yang keluar diserap dengan pipa kapiler selama 30 detik. Pipa kapiler dipatahkan setiap interval waktu 15 detik hingga teramati pembentukan benang fibrin pada bagian yang di patahkan. Adanya efek ditunjukkan oleh waktu koagulasi yang semakin panjang setelah pemberian bahan uji. Kesulitan pada pengujian waktu koagulasi adalah pada saat pematahan pipa kapiler, pipa kapiler sulit dipatahkan untuk menentukan ukuran patahan pipa kapiler yang sama dan konstan.

Tabel 4 menunjukkan bahwa pada hari ke-9 kelompok kontrol positif memberikan peningkatan waktu koagulasi sebesar 89,71%. Kelompok binahong dan kombinasi 1

menunjukkan peningkatan waktu koagulasi yang melebihi kelompok kontrol positif yaitu sebesar 203,55% dan 138,60%. Sedangkan pada kontrol negatif terus mengalami penurunan. Kelompok binahong tunggal pada dosis 10 mg/20 gBB memiliki waktu koagulasi paling tinggi, hal ini diduga karena kandungan flavonoid yang lebih besar pada daun binahong. Flavonoid dapat menghambat interleukin-1 yang menginduksi faktor jaringan yang merupakan faktor ekstrinsik dalam mekanisme pembekuan darah. Penghambatan terhadap faktor jaringan menyebabkan proses koagulasi akan terhambat⁽²⁰⁾.

Waktu koagulasi cenderung lebih meningkat dibandingkan waktu perdarahan. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan ekstrak uji lebih mempengaruhi proses-proses yang terjadi pada hemostatis sekunder daripada hemostatis primer. Hemostatis sekunder terdiri dari faktor pembekuan dan anti pembekuan, dimana akhir dari mekanisme hemostatis sekunder adalah terbentuknya benang fibrin. Jika terjadi luka yang besar pada pembuluh darah atau jaringan lain, vasokonstriksi dan sumbat trombosit belum cukup untuk mengkompensasi luka ini. Maka, terjadilah hemostatis sekunder yang melibatkan trombosit dan faktor koagulasi. Hemostatis sekunder ini mencakup pembentukan jaring-jaring fibrin⁽²¹⁾.

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia

Bahan	Hasil Uji				
	Alkaloid	Flavonoid	Saponin	Tanin	Triterpenoid Steroid
Simplisia					
Binahong	+	+	+	-	+
Jahe	+	+	+	-	+
Kunyit	+	+	+	+	+
Ekstrak					
Binahong	+	+	+	-	+
Jahe	+	+	+	-	+
Kunyit	+	+	+	+	+

Ket: (+) = terdapat/ mengandung
 (-) = tidak terdapat/ tidak mengandung

Tabel 3. Peningkatan Waktu Perdarahan

No.	Kelompok	Rata-rata Waktu Perdarahan (detik)		Peningkatan Waktu Perdarahan (%)
		Hari ke-0	Hari ke-3	
1	Kontrol Positif	63,75 ± 11,79	64 ± 19,34	0,39
2	Kontrol Negatif	74 ± 24,26	60,75 ± 18,08	-17,9
3	Binahong	66,25 ± 27,54	71,5 ± 8,18	7,92
4	Kombinasi 1	63 ± 20,35	62,5 ± 15,19	-0,79
5	Kombinasi 2	80 ± 23,80	64,25 ± 22,97	-19,68
6	Kombinasi 3	63,25 ± 21,31	73,75 ± 7,27	16,6
7	Kombinasi 4	67,25 ± 25,90	72,75 ± 13,35	8,18

Tabel 4. Peningkatan Waktu Koagulasi

No.	Kelompok Perlakuan	Peningkatan Waktu Koagulasi (%)		
		Hari 0-3	Hari 0-6	Hari 0-9
1	Kontrol Positif	21,28	62,96	89,71
2	Kontrol Negatif	0	-10,41	-8,09
3	Binahong	54,96	203,13	203,55
4	Kombinasi 1	22,64	79,12	138,60
5	Kombinasi 2	65,47	69,83	7,87
6	Kombinasi 3	36,31	83,79	5,57
7	Kombinasi 4	35,33	158,16	31,70

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas antiplatelet pada mencit ditunjukkan melalui parameter waktu perdarahan dan waktu koagulasi. Kelompok kombinasi 3 lebih efektif meningkatkan waktu perdarahan, dan kelompok binahong lebih efektif meningkatkan waktu koagulasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat (LPPM) Universitas Pakuan yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah internal tahun 2020 pada skim Penelitian Dosen Pemula.

DAFTAR PUSTAKA

1. Saraf, F., Benzalha, I., Gorog, D.A. 2009. Antiplatelet Resistance-Does It Exist and How to Measure it. *Clinical Medicine Cardiology*. 2009; 3: 77-91.
2. Gross PL, Weitz JL. 2009. New Antithrombotic Drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2009; 86 (2): 139-146.
3. Ebadi, M. 2008. *Desk Reference Of Clinical Pharmacology*. New York: CRC Press.
4. Aprilia, C.A., dan Dewiastuti, M. 2017. Efektivitas Hipolipidemia dan Antioksidan Ekstrak Daun Binahong pada Tikus Putih yang Diinduksi Pakan Hiperkolesterol. *Jurnal Kedokteran Yarsi* 25 (3) : 150-162.

5. Fitriyani, N., & Sigit, J. I. (2008). Efek antiagregasi platelet ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Sunti* Val.) dan kombinasinya pada mencit jantan galur swiss webster. *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 7(2), 149447.
6. Sukandar, E.Y., Sigit, J.I., Fitriani, Nurul. 2008. Efek antiagregasi platelet ekstrak air bulbus bawang putih (*Allium sativum* L.), ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) dan kombinasinya pada mencit jantan galur Swiss Webster. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2008.19(1):1-11.
7. Jazilah, N. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Wei, B.L., Weng, J.R., Chiu, P.H., Hung, C.F., Wang, J.P., Lin, C.N. 2005. Antiinflammatory Effect of Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* and *Artocarpus communis*. *J. Agric. Food. Chem.* 2005; 53 (10) 3867-3871.
9. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
10. Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
11. Putri, R.R.R.F., Ulfa, E.U., dan Riyanti, R. 2014. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, vol. 2 (no. 1), Januari 2014.
12. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi II. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
13. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I. Jakarta.
14. Paskartini, T. G., 2017. Parameter Standarisai Tanaman Segar Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Dari Tiga Daerah Berbeda. *Skripsi*. Universitas Khatolik Widya Mandala, Surabaya.
15. Agustina, S., Ruslan dan Wiraningtyas, A. 2016. Skrining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima. *Indonesia E-Journal of Applied Chemistry*. Vol 4.
16. Jantan, I., Raweh, S.M., Sirat, H.M., Jamil, S., Mohd Yasin, Y.H., Jalil, J., et al. 2008. Inhibitory effect of compounds from Zingiberaceae species on human platelet aggregation. *Phytomedicine*;15(4):306-9.
17. Hidayah, L. (2016). Efektivitas Ekstrak Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Perpanjangan Waktu Perdarahan pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. *Jurnal Gizi dan Kesehatan*. Vol 8 No.17. Hal 97-102.
18. Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological reviews*, 52(4), 673-751.

19. Fitriyani, N., & Sigit, J. I. (2008). Efek antiagegasi platelet ekstrak etanol buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Sunti* Val.) dan kombinasinya pada mencit jantan galur swiss webster. *Maranatha Journal of Medicine and Health*, 7(2), 149-157.
20. Guglielmone, H. A., Agnese, A. M., Montoya, S. C. N., & Cabrera, J. L. (2002). Anticoagulant effect and action mechanism of sulphated flavonoids from *Flaveria bidentis*. *Thrombosis Research*, 105(2), 183-188.
21. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018). *Hemostasis*. Bahan Ajar Teknologi Laboratorium Medik. Pusat Pendidikan Sumber Daya Manusia Kesehatan.