

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.)

Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) merupakan tanaman obat yang termasuk dalam keluarga *Euphorbiaceae* dan sangat diminati oleh para praktisi pengobatan tradisional di Asia dan Afrika. Tanaman Patikan kebo dikategorikan dalam tanaman liar yang tumbuh didaerah dengan kondisi tanah yang kurang lembab dan tumbuh merambat berpencar antara satu tanaman dengan yang lainnya (Hamdiyati *et al.*, 2008).



Gambar 1. Patikan kebo (Herbie, 2015).

#### 1. Klasifikasi tanaman

Sistematika (taksonomi) tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) diklasifikasikan menurut (Plantamor, 2023) yakni :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Euphorbia</i>
Spesies	: <i>Euphorbia hirta</i> L.

#### 2. Nama umum

Patikan kebo memiliki banyak nama yang berbeda-beda pada setiap daerah. Patikan kebo di Indonesia dikenal sebagai patikan kebo, gelang susu, daerah Sunda dikenal dengan sebutan nanangkaan, daerah

Jawa disebut kukon-kukon, Maluku disebut sosenonga. Patikan kebo di Malaysia dikenal dengan sebutan gelang susu. Filipina (Bahasa Tagalog) patikan kebo disebut gatas-gatas. China disebut *da fei yang cao*. Patikan kebo dalam bahasa Inggris disebut *pillpod sandmat* (Plantamor, 2023).

### 3. Morfologi tanaman

Tanaman patikan kebo biasa hidup di ketinggian 1-1400 mdpl, dengan warna kecoklatan dan memiliki getah, daun berbentuk bulat memanjang dan letak daun saling berhadapan, serta bunga muncul pada ketiak daun. Tanaman patikan kebo berkembang biak dengan biji dan hidup (Hernani, 2005)

Patikan kebo memiliki batang berwarna hijau hingga hijau tua berbentuk bulat, berkerut, dan berambut. Daunnya berbentuk bulat telur hingga lonjong dengan ujung dan pangkal yang runcing serta tepi daun yang bergerigi. Tulang daun menyirip, ibu tulang daun menonjol ke permukaan tanah. Bunga patikan kebo bersifat majemuk, berkelompok dan bercabang-cabang berwarna hijau tua hingga coklat kehitaman. Tanaman ini memiliki aroma yang lemah dan memiliki rasa sedikit pahit (Kemenkes RI, 2017).

### 4. Kandungan kimia dan tinjauan golongan kimia tanaman

Tanaman patikan kebo memiliki beberapa kandungan kimia diantaranya adalah steroid, fenolik, flavonoid, tanin, dan alkaloid (Nafisah *et al.*, 2014). Daun tanaman patikan kebo mengandung kandungan kimia, yakni alkaloid, saponin, tanin, senyawa polifenol (asam galat), flavonoid *quercetin*, asam-asam organik palmitat oleat, dan asam alkanoat (Nurbaiti *et al.*, 2018).

**4.1. Flavonoid.** Flavonoid merupakan jenis senyawa fenolik yang sering ditemukan pada jaringan tumbuhan, sayuran, dan buah-buahan. Senyawa ini memiliki beragam efek bermanfaat seperti antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antialergi, antivirus, dan antibakteri. Secara kimia, flavonoid termasuk dalam kelompok senyawa fenolik dengan struktur C6-C3-C6. Struktur dasar flavonoid terdiri dari cincin aromatik B dan cincin heterosiklik dibagian tengahnya (Kurniawaty *et al.*, 2016).

**4.2. Alkaloid.** Alkaloid merupakan jenis metabolit sekunder yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen pada strukturnya.

**4.3. Saponin.** Saponin adalah jenis glikosida yang sering ditemukan dalam tumbuhan dengan berat molekul tinggi yang terdiri

dari glikosida steroid atau triterpenoid dan satu atau lebih rantai gula/glikosida, salah satu ciri khasnya adalah kemampuannya membentuk buih saat bereaksi dengan air saat dikocok (Gunawan, 2018).

**4.4. Tanin.** Tanin secara umum dari penelitian Noer *et al.* (2018) merupakan senyawa polifenol dan memiliki berat molekul besar ( $>1000$  g/mol), tanin memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein. Strukturnya terdiri dari cincin benzena (C6) yang terikat dengan gugus hidroksil (-OH). Tanin mempunyai kemampuan menginaktivasi adhesin sel mikroba yang terdapat pada polipeptida dinding sel (Mujtahid *et al.*, 2018).

## **5. Kegunaan tanaman**

Tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) diketahui memiliki beragam khasiat dalam pengobatan berbagai penyakit. Secara khusus tanaman tersebut memiliki sifat antiseptik, antifungi, anti-inflamasi, dan antibakteri. Ekstrak daun dari patikan kebo telah terbukti mampu menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri seperti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis* (Hamdiyati, 2008). Patikan kebo juga berperan dalam proses penyembuhan luka dan efek antiinflamasi dari patikan kebo dapat mengurangi peradangan akibat luka (Fiandri, 2020).

Kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman patikan kebo memiliki peran masing-masing, seperti senyawa fenolik yang terkandung dalam patikan kebo dapat membentuk kompleks tanin yang kuat sehingga memberikan efek positif terhadap jumlah trombosit dalam darah. Senyawa flavonoid pada patikan kebo juga dapat meningkatkan megatrosit untuk menghasilkan jumlah trombosit yang cukup.

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia merujuk pada bahan alam yang telah melalui proses pengeringan namun belum melalui tahap pengolahan tambahan dan sering digunakan dalam pengobatan. Proses pengeringan simplisia bisa dilakukan dengan beberapa cara seperti pengeringan di bawah sinar matahari langsung, penjemuran dengan angin, atau kecuali dinyatakan sebaliknya, dapat menggunakan oven dengan suhu yang tidak lebih dari

60°C. Simplisia segar adalah bahan alam yang masih dalam keadaan segar yang belum mengalami proses pengeringan (Depkes RI, 2017).

## **2. Pembuatan serbuk simplisia**

Tahapan pembuatan simplisia diantaranya adalah sortasi basah, pencucian bahan, perajangan, dan pengeringan (Prasetyo dan Inorih, 2013).

**2.1 Sortasi basah.** Sortasi basah merupakan proses setelah bahan dikumpulkan dan tujuannya adalah untuk memisahkan kotoran atau bahan-bahan asing yang mungkin terdapat pada bahan simplisia. Proses ini juga dapat membantu jumlah mikroba awal yang ada pada bahan tersebut.

**2.2 Pencucian bahan.** Pencucian bertujuan untuk menghilangkan tanah dan kotoran lain yang mungkin masih menempel pada bahan simplisia. Proses pencucian dilakukan dengan menggunakan air mengalir yang bersih. Penting untuk diperhatikan bahwa jika simplisia mengandung zat mudah larut dalam air, maka pencucian harus dilakukan dalam waktu singkat agar zat tersebut tidak larut dan hilang bersama air.

**2.3 Perajangan.** Perajangan memiliki tujuan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan bahan simplisia. Proses perajangan melibatkan penggunaan pisau atau alat perajang khusus untuk menghasilkan irisan tipis atau potongan sesuai dengan ukuran yang diinginkan agar mempermudah proses selanjutnya.

**2.4 Pengeringan.** Pengeringan memiliki tujuan utama untuk mengurangi kadar air pada simplisia, sehingga menghentikan reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan kerusakan dan memungkinkan penyimpanan dalam jangka waktu yang lebih lama. Proses pengeringan bisa dilakukan dengan sinar matahari atau dengan alat pengering khusus. Penting untuk diperhatikan faktor-faktor seperti suhu, kelembapan, aliran udara, waktu, dan luas permukaan bahan agar bahan tidak mengalami kerusakan selama proses pengeringan.

## **C. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah salah satu teknik pengambilan atau penarikan zat aktif dari sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang digunakan harus mampu menarik senyawa yang diinginkan tanpa

melarutkan bahan lain yang terdapat dalam sampel (Nugroho, 2017). Ekstrak merupakan hasil perolehan dari metode ekstraksi baik dalam bentuk ekstra kering, ekstrak kental atau ekstrak cair melalui menyari simplisia nabati maupun hewani berdasarkan teknik yang sesuai, diluar pengaruh cahaya matahari secara langsung (Depkes RI, 2017).

## **2. Metode ekstraksi**

Jenis-jenis metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang dapat digunakan dalam ekstraksi adalah maserasi, perkolasi, sokhlet, refluks, dan destilasi uap (Depkes, 2000).

**2.1 Maserasi.** Maserasi merupakan proses penyarian simplisia yang dilakukan pada suhu kamar menggunakan pelarut yang tepat. Proses maserasi melibatkan pengadukan atau pengojokan sesekali untuk memfasilitasi ekstraksi zat-zat yang diinginkan dari bahan simplisia.

**2.2 Perkolasi.** Perkolasi merupakan proses penyarian simplisia yang dilakukan pada suhu kamar menggunakan pelarut yang selalu baru. Metode perkolasi mengikuti prinsip dimana serbuk simplisia ditempatkan dalam bejana silinder yang memiliki sekat berpori dibagian bawahnya. Cairan penyari kemudian dialirkan dari bagian atas kebawah melalui simplisia. Cairan penyari akan melarutkan zat aktif saat melewati sel simplisia hingga mencapai keadaan jenuh. Proses ekstraksi perkolasi terus dilakukan secara berulang atau kontinu hingga diperoleh ekstrak dalam jumlah berkisar 1-5 kali dari jumlah bahan simplisia yang digunakan.

**2.3 Sokhlet.** Sokletasi adalah ekstraksi yang selalu menggunakan pelarut yang baru dan menggunakan instrumen khusus dalam pengerjaannya sehingga ekstraksi berjalan sesuai dengan jumlah pelarut yang sama disertai adanya pendinginan kembali

**2.4 Refluks.** Metode refluks adalah ekstraksi dimana titik didih pelarut yang digunakan dengan jangka waktu tertentu serta jumlah pelarut yang tetap yang disertai adanya pendinginan kembali atau dalam kondisi refluks. Metode refluks pada dasarnya dilakukan pengulangan residu hingga 3-5 kali

**2.5 Destilasi uap.** Destilasi uap adalah ekstraksi yang dilakukan untuk senyawa-senyawa yang mudah menguap seperti minyak esensial (minyak atsiri). Uap akan terkondensasi dan menghasilkan destilat yang terpisah menjadi dua bagian yang tidak saling bercampur.

## D. Trombosit

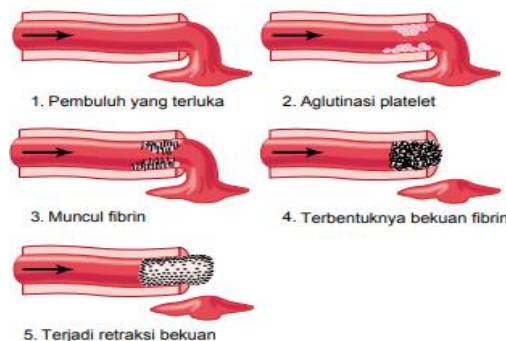
### 1. Pengertian trombosit

Trombosit atau keping darah (platelet) adalah hasil fragmentasi dari sitoplasma megakariosit yang terbentuk di sumsum tulang belakang. Susunan hematopoietik dalam sumsum tulang belakang yang berperan dalam produksi sel darah dalam tubuh terdapat sel yang sangat besar yakni megakariosit. Regulator utama produksi trombosit adalah hormon trombopoietin (TPO) yang disintesis di hati dan ginjal. Akibat stimulus dari trombopoietin, perifer sitoplasma megakariosit akan mengalami fragmentasi atau melepaskan diri dan menghasilkan trombosit.

Trombosit memiliki bentuk cakram bikonveks yang berdiameter sekitar 0,75-2,25 mm, trombosit memiliki berat jenis yang kecil, dan tidak memiliki inti. Dalam sitoplasma trombosit mengandung sejumlah RNA yang walaupun jumlahnya terbatas dapat membantu trombosit untuk melakukan sintesis protein (Lestari, 2019).

### 2. Fungsi trombosit

Trombosit memiliki peran yang penting dalam sistem hemostasis tubuh yakni menghentikan pendarahan saat terjadi luka pada pembuluh darah. Mekanisme kerjanya terjadi dengan menutup pembuluh darah yang mengalami kerusakan melalui pembentukan benang-benang fibrin, membentuk jaringan yang menutup kerusakan pada pembuluh darah akibat luka.



**Gambar 2. Mekanisme sumbat trombosit (Hall dan Arthur, 2011).**

Pembuluh darah akan mengalami vasokonstriksi yakni penyempitan atau pengkerutan pembuluh darah apabila terdapat luka agar tidak banyak darah yang keluar. Bagian yang luka di dalam sel endotel akan terjadi fungsi adhesi dimana trombosit akan menempel dan berubah bentuk menjadi trombosit yang aktif dimana trombosit akan mengalami *release reaction* atau pengeluaran isi granula dan salah

satu granula yang dikeluarkan trombosit adalah tromboksan A<sub>2</sub>. Tromboksan A<sub>2</sub> berperan dalam proses protrombotik dengan merangsang aktivasi dan agregasi platelet. Saat terjadi agregasi, trombosit melepaskan isi (granula) seperti tromboksan A<sub>2</sub> dan ADP yang kemudian merangsang trombosit lain untuk berikatan dengan area yang terluka. Proses agregasi trombosit memungkinkan trombosit untuk memberikan sinyal kepada trombosit lain dan berbagai faktor pembekuan darah agar bergerak menuju area luka, membantu menutup luka dengan pembentukan benang-benang fibrin dan akan mengakhiri pendarahan. (Durachim dan Astuti, 2018). Trombosit juga berperan dalam mengatasi infeksi virus dan bakteri. Trombosit juga dapat membentuk plak dalam pembuluh darah yang dapat menghambat aliran darah sehingga dapat memicu terjadinya stroke dan serangan jantung.

### **3. Mekanisme pembentukan trombosit**

Trombosit berasal dari sel megakariosit pada sumsum tulang. Susunan hematopoietik pada sumsum tulang belakang terdapat sel megakariosit yang sangat besar dan kemudian akan memecah menghasilkan keping-keping darah atau yang biasa disebut trombosit. Megakariosit terbentuk dari megakarioblas yang terbentuk melalui proses diferensiasi dari sel induk hematopoietik. Proses diferensiasi sel induk hematopoietik merupakan langkah awal pembentukan megakariosit yang nantinya akan berperan dalam produksi trombosit. Pembentukan trombosit dipengaruhi oleh hormon trombopoietin pada perifer sitoplasma megakariosit. Hormon trombopoietin diproduksi di hati dan jika hormon trombopoietin mengalami stimulus maka sel megakariosit akan berfragmentasi atau melepaskan trombosit (Hall dan Arthur, 2011).

Trombopoietin berhubungan dengan jumlah trombosit yang bersirkulasi dalam darah. Jumlah trombopoietin dalam serum darah akan tetap rendah apabila jumlah trombosit dalam sirkulasi darah cukup, namun ketika jumlah trombosit dalam sirkulasi darah menurun, kadar trombopoietin dalam darah meningkat untuk merangsang produksi trombosit lebih banyak oleh sumsum tulang belakang.

Megakariosit mengalami pematangan sel atau maturasi dengan replikasi inti endomitotik secara serentak. Selama proses ini volume sitoplasma bertambah seiring dengan penambahan lobus inti menjadi dua kali lipat. Selanjutnya, terjadi replikasi inti lebih lanjut, namun

pertumbuhan sel berhenti. Sitoplasma menjadi granular dan akhirnya melepaskan trombosit dalam bentuk platelet atau keping darah.

Setiap megakariosit menghasilkan kurang lebih sekitar 4.000 trombosit. Waktu dari mulai sel induk hematopoietik mengalami diferensiasi sampai menghasilkan trombosit adalah sekitar 10 hari. Trombosit yang telah dilepas dari sumsum tulang akan berada dalam limfa sekitar 24 sampai 36 jam. Trombosit merupakan struktur yang aktif dimana akan bekerja berpindah secara cepat apabila terjadi kerusakan pembuluh darah. Trombosit dalam darah dapat hidup selama 8-12 hari (Aliviameita dan Puspitasari, 2019).

Keadaan dimana jumlah trombosit yang bersirkulasi dalam darah kurang disebut trombositopenia yang dapat menyebabkan pendarahan. Jumlah trombosit dalam darah pada penderita trombositopenia berada di bawah 50.000/ $\mu$ L. Penurunan produksi trombosit disebabkan karena sel megakariosit mengalami supresi (penekanan) sumsum tulang yang disebabkan karena beberapa faktor seperti mengonsumsi alkohol, terinfeksi virus, infiltrasi sumsum tulang (leukemia, tumor), radiasi, dan kemoterapi.

Penurunan produksi trombosit yang disebabkan karena kemoterapi terjadi ketika meningkatnya proses mielosupresif. Mielosupresif adalah kondisi adanya gangguan sel punca yang terdapat pada sumsum tulang belakang, penggunaan kemoterapi dapat mengakibatkan kerusakan pada sel stem dan progenitor megakariosit di sumsum tulang, yang kemudian mengurangi jumlah trombosit yang masuk kedalam sirkulasi darah.

Penurunan jumlah trombosit juga dapat dipengaruhi oleh sistem imun dalam tubuh seperti *Immune Thrombocytopenic Purpura* (ITP) yang merupakan penyakit autoimun yang disebabkan karena terbentuknya antibodi terhadap glikoprotein pada membran trombosit (*antibody-mediated destruction of platelets*) dan gangguan produksi megakariosit yang menyebabkan destruksi atau penghancuran trombosit (Bimlesh *et al.*, 2016).

## **E. Waktu Pembekuan Darah**

### **1. Pengertian waktu pembekuan darah**

Waktu pembekuan darah atau biasa disebut *clotting time* adalah waktu yang dibutuhkan bagi darah untuk menggumpal atau waktu yang diperlukan sejak pengambilan sampel darah hingga terjadinya

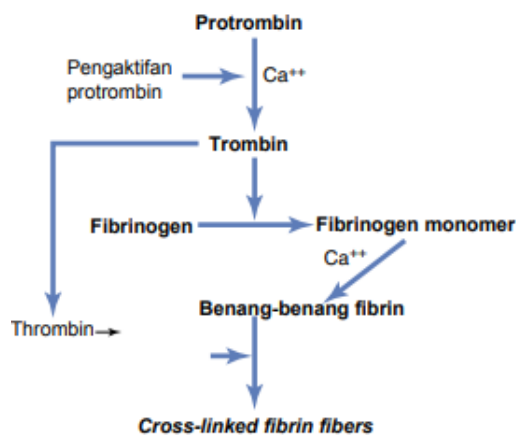


pembekuan. Zat penting yang mempengaruhi pembekuan darah terdapat berbagai macam yang dikenal sebagai prokoagulan dan antikoagulan dalam darah. Prokoagulan adalah zat yang mempermudah terjadinya pembekuan darah, sedangkan antikoagulan adalah kebalikannya yakni zat yang menghambat pembekuan darah (Kiswari, 2014).

Pembekuan darah bergantung pada keseimbangan antara kedua zat yakni prokoagulan dan antikoagulan, dimana saat aliran darah dalam keadaan normal, antikoagulan lebih dominan agar darah dalam sirkulasi pembuluh darah tidak membeku namun apabila pembuluh darah mengalami luka atau sobekan maka akan terjadi aktivasi prokoagulan pada daerah yang luka sehingga terjadi pembekuan darah (Hall dan Arthur, 2011).

## 2. Mekanisme pembekuan darah

Mekanisme pembekuan darah secara umum terjadi melalui tiga tahapan utama yakni terbentuknya aktivator protrombin akibat dari pembuluh darah yang mengalami sobekan atau luka. Aktivator protrombin yang terbentuk akan mengkatalisis perubahan protrombin menjadi trombin dengan adanya ion  $\text{Ca}^{++}$  dalam jumlah yang cukup. Trombin yang terbentuk bekerja sebagai enzim yang menyebabkan polimerisasi molekul-molekul fibrinogen diubah menjadi benang-benang fibrin, benang-benang ini berperan dalam menggabungkan trombosit, sel darah, dan plasma untuk membentuk pembekuan darah dalam rentang waktu singkat sekitar 10-15 detik (Hall dan Arthur, 2011).



Gambar 3. Mekanisme pembekuan darah (Hall dan Arthur, 2011).

Trombosit juga menjadi salah satu faktor yang berperan penting dalam proses pembekuan darah. Jumlah trombosit yang beredar dalam

sirkulasi darah apabila berkurang maka dapat memicu kegagalan dalam proses pembekuan darah. Peran trombosit dalam mekanisme pembekuan darah adalah: Trombosit melepaskan zat prokoagulan dan faktor stabilisasi sehingga benang-benang fibrin yang berdekatan membentuk ikatan silang yang semakin banyak. Trombosit juga memiliki kemampuan untuk mengaktifkan molekul kontraktil, seperti aktin miosin dan trombostenin trombosit dimana molekul-molekul tersebut dapat menyebabkan kontraksi kuat pada trombosit yang terikat pada fibrin sehingga menyebabkan jaringan fibrin menciut menjadi massa yang lebih kecil sehingga membantu retraksi pembekuan darah

## **F. Penginduksian Hewan Uji**

### **1. Heparin**

Heparin merupakan jenis glikosaminoglikan yang bermuatan negatif. Zat ini biasa dilepaskan oleh sel mast dan basofil selama proses pembekuan darah. Heparin digolongkan sebagai antikoagulan. Kadar heparin dalam keadaan normal dalam darah rendah, namun dalam kondisi fisiologis seperti terjadinya luka atau sobekan pada pembuluh darah maka kadar heparin akan meningkat dan berperan sebagai antikoagulan (Roveny, 2016).

Heparin secara umum hadir dalam jaringan manusia dan sel-sel peradangan seperti sel mast dalam jaringan ikat. Heparin sulfat, disisi lain terdapat pada sel endotel sepanjang dinding pembuluh darah. Heparin dapat menghambat enzim proteasi koagulasi dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein plasma seperti antitrombin III dan meningkatkan proses inaktivasi trombin (Depkes, 2014).

Heparin sering digunakan dalam kedokteran untuk penanganan dan pencegahan penyakit tromboemboli. Penggunaan heparin yang tepat dapat menurunkan resiko kematian dan kejadian penyakit trombosis akut, namun penggunaan heparin juga dapat mengakibatkan komplikasi seperti perdarahan atau trombositopenia, Oleh karena itu, perlu dilakukan pemantauan atau monitoring terhadap penggunaan heparin (Mulyadi dan Soemarsono, 2007).

### **2. Mekanisme heparin dalam menurunkan kadar trombosit**

Efek samping dari penggunaan heparin adalah trombositopenia. *Heparin Induced Thrombocytopenia* (HIT) merupakan dampak serius penggunaan heparin, ditandai dengan penurunan jumlah dan agregasi trombosit setelah penggunaan heparin. Mekanisme heparin dalam

menurunkan kadar trombosit adalah dengan menghambat adenilsiklase dan mengurangi kadar *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) didalam sel trombosit melalui ikatan yang kuat dengan trombosit, hal ini mengurangi ambang aktivasi trombosit, memicu agregasi trombosit dan akhirnya menyebabkan trombositopenia.

Trombositopenia akibat heparin juga dapat diperantarai oleh sistem imunitas tubuh. Mekanisme trombositopenia akibat heparin yang diperantarai oleh sistem imunitas adalah antibodi IgG yang mengenal neopitop dikatup positif kemokin *platelet factor 4* (PF4). PF4 memiliki fungsi untuk menghambat pembentukan megakariosit (sel yang membentuk trombosit) dan angiogenesis serta mengatur sistem kekebalan tubuh. Heparin ketika berikatan dengan PF4, ikatan ini dianggap sebagai antigen oleh sistem imun sehingga respon imun melepaskan antibodi IgG untuk memerangi ikatan PF4-heparin dengan cara membentuk kompleks imun PF4-heparin membentuk. IgG juga mempunyai bagian *fragment constant region* (Fc) yang dapat berikatan dengan reseptor trombosit Fc $\gamma$  RIIa menghasilkan aktivasi dan agregasi trombosit yang lebih agresif.

## **G. Metode Pengujian Trombosit dan Waktu Pembekuan Darah**

### **1. Metode uji jumlah trombosit**

**1.1. Cara langsung.** Cara langsung biasa dikenal dengan metode *Rees Ecker*. Pengencer *Rees ecker* yang digunakan sebanyak 2000  $\mu$ L, kemudian tambahkan darah EDTA sebanyak 10  $\mu$ L kemudian dihomogenkan dan didiamkan beberapa menit kemudian diambil 10  $\mu$ L, dan dimasukkan ke dalam kamar hitung *improved neubauer* dan diperiksa di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa objektif perbesaran 40x. Trombosit yang dihitung dalam seluruh bidang besar ditengah-tengah (1 mm<sup>2</sup>), dan jumlah trombosit dikali 2000 untuk menghasilkan jumlah trombosit per  $\mu$ L darah (Praptomo, 2018).

**1.2. Cara tidak langsung.** Cara tidak langsung dengan metode *Fonia* pada sediaan darah apus. Metode dilakukan dengan menyiapkan darah dalam tabung EDTA dan ditetaskan magnesium sulfat 14% sebanyak satu tetes dan darah ditetaskan melalui tetesan magnesium sulfat 14% tersebut. Jumlah darah sekitar  $\frac{1}{4}$  dari jumlah magnesium sulfat maka dilakukan pencampuran kemudian pengecatan giemsa. Penghitungan jumlah trombosit dalam setiap 1000 eritrosit memungkinkan penentuan jumlah mutlak trombosit dari jumlah mutlak

eritrosit. Namun, cara ini dianggap lebih kasar atau kurang presisi daripada metode penghitungan langsung jumlah trombosit (Praptomo, 2018).

**1.3. Cara otomatis.** Cara otomatis dilakukan dengan menggunakan alat *hematologi analyzer*. Pemeriksaan dengan cara otomatis memiliki keuntungan yakni lebih praktis dan hasil yang didapatkan lebih akurat. Cara kerja dari alat *hematologi analyzer* adalah *self check*, yakni sampel darah yang akan dicek dipastikan homogen dengan antikoagulan. Langkah pertama adalah menekan tombol “*whole blood*” kemudian tekan tombol “ID” dan masukkan nomor sampel dilanjutkan dengan menekan “*enter*”. Sampel diletakkan pada adaptor kemudian ditutup dan tekan tombol “*run*”. Hasil akan muncul secara otomatis pada layar display alat. Hasil pemeriksaan pada alat *hematologi analyzer* adalah pemeriksaan darah secara lengkap sehingga untuk melihat hasil jumlah trombosit maka dilihat hasil PLT (*Platelet Count*) pada layar (Ramadhani dan Raga, 2022).

## **2. Metode pengukuran waktu pembekuan darah**

**2.1 Cara dengan tabung (metode Lee-White).** Perhitungan waktu dimulai dari saat pendarahan pertama terlihat, yaitu saat darah mulai masuk ke dalam spuit hingga darah membeku dalam tabung dengan ukuran yang telah ditentukan.

**2.2 Cara dengan kaca objek.** Menghitung pembekuan darah berdasarkan pada terbentuknya benang fibrin pada tetesan darah di *obyek glass*.

**2.3 Cara dengan tabung kapiler.** Pengukuran waktu pembekuan darah dilakukan dengan mengamati terbentuknya benang fibrin pada pipa kapiler yang dipatahkan tiap selang waktu 1 menit.

## **H. Hewan Uji**

Hewan uji merupakan hewan yang digunakan dalam penelitian secara biologis maupun biomedis atau hewan-hewan yang secara intensif dipelihara dalam lingkungan laboratorium. Tikus merupakan salah satu mamalia yang memegang peran penting dalam penelitian karena kemampuannya yang sangat baik dalam beradaptasi. Salah satu jenis tikus yang sering digunakan dalam penelitian laboratorium dan dipelihara khusus adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*).



**Gambar 4. Tikus putih galur wistar (Akbar, 2010).**

### **1. Sistematika hewan uji**

Klasifikasi tikus menurut (*Integrated Taxonomic Information System*, 2023) adalah :

Kingdom : *Animalia*  
 Filum : *Chordata*  
 Kelas : *Mammalia*  
 Ordo : *Rodentia*  
 Familia : *Muridae*  
 Genus : *Rattus*  
 Spesies : *Rattus norvegicus*

### **2. Karakteristik hewan uji**

Tikus putih memiliki sejumlah karakteristik yang menguntungkan dalam penggunaannya sebagai hewan uji pada penelitian. Tikus putih memiliki tingkat perkembangbiakan yang cepat, ukuran tubuh yang lebih besar daripada mencit, serta mudah dipelihara dalam jumlah yang besar. Secara khusus, tikus putih memiliki ciri-ciri berupa kepala yang kecil, warna bulu albino, dan ekor yang proporsionalnya lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhan yang cepat, kemampuan laktasi yang tinggi, sifat temperamen yang baik serta ketahanan terhadap arsenik tiroksid. (Frianto *et al.*, 2015).

Galur-galur tikus putih antara lain galur *Sprague dawley*, galur *Wistar*, dan galur *Long evans*, memiliki khusus yang bermanfaat sebagai hewan uji. Galur *Sprague dawley* memiliki ciri-ciri seperti berwarna *albino* putih, kepala yang kecil dan ekor yang lebih panjang dari tubuhnya, sementara itu, galur *Wistar* ditandai dengan kepala yang besar dan ekor yang lebih pendek, sedangkan galur *Long evans* lebih kecil daripada tikus putih dan memiliki warna hitam pada kepala dan bagian depan tubuhnya. Setiap galur memiliki keunikan yang memperkaya penggunaan dalam berbagai penelitian (Akbar, 2010).

## **I. Landasan Teori**

Trombosit adalah hasil derivat dari megatrosit yang merupakan sel sumsum tulang belakang. Keping darah atau trombosit yang

dihasilkan dari sel megakariosit juga dapat berfungsi dalam pembekuan darah (Lestari, 2019). Jumlah trombosit normal pada manusia adalah sekitar 150.000-450.000/ $\mu$ L. Jumlah trombosit harus berada pada *range* atau rentang normal karena akan mempengaruhi kondisi kesehatan tubuh. Jumlah trombosit yang kurang dari rentang normal dikenal dengan trombositopenia.

Trombosit merupakan salah satu faktor yang terlibat dalam proses hemostasis yang merupakan mekanisme tubuh dalam melindungi tubuh dari pendarahan dan juga kehilangan darah. Trombosit juga berperan penting dalam proses pembekuan darah, dimana trombosit akan saling menempel atau beradhesi dan selanjutnya terbentuk benang-benang fibrin sehingga pendarahan bisa terhenti (Umar dan Sujud, 2020).

Trombositopenia adalah keadaan dimana jumlah trombosit dalam sistem sirkulasi darah kurang dari 150.000/ $\mu$ L. Penurunan jumlah trombosit dapat disebabkan karena proses penghancuran platelet yang meningkat atau juga karena penurunan produksi platelet (Hasugian *et al.*, 2018). Trombositopenia sering dihubungkan dengan derajat keparahan Demam Berdarah Dengue (DBD). Salah satu kriteria laboratorium untuk mendukung diagnosis DBD adalah jumlah trombosit yang kurang dari 100.000/ $\mu$ L (WHO, 2011).

Tanaman patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) memiliki kandungan senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat berpotensi dalam meningkatkan jumlah trombosit. Senyawa fenolik yang terkandung dalam patikan kebo dapat membentuk kompleks tanin yang kuat, hal tersebut dapat memberikan efek positif terhadap jumlah trombosit dalam darah. Senyawa flavonoid dapat meningkatkan megatrosit untuk menghasilkan jumlah trombosit yang cukup. Peran senyawa flavonoid dan tanin dalam meningkatkan trombosit adalah melalui mekanisme rangsangan terhadap faktor stimulasi koloni makrofaga granulosit (GM-CSF) dan Interleukin 3 (IL-3) yang dapat memicu pembentukan sel megakariosit serta memiliki efek dapat memperkuat limpa. Senyawa antioksidan juga dapat melindungi sel punca dan trombosit dari radikal bebas yang diakibatkan karena cedera.

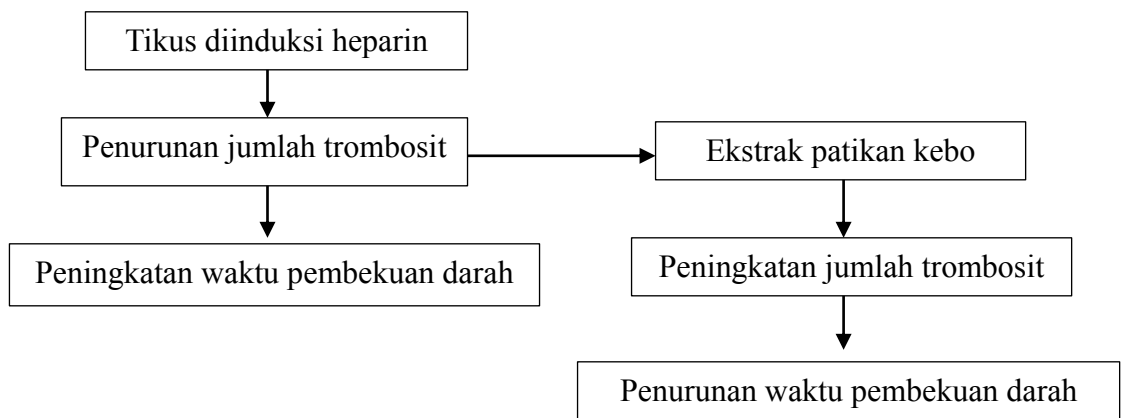
Berdasarkan landasan teori di atas, peneliti ingin mencoba untuk mengetahui lebih lanjut mengenai efektivitas dari ekstrak patikan kebo (*Euphorbia hirta* L.) terhadap peningkatan jumlah trombosit dan waktu pembekuan darah pada tikus putih jantan yang diinduksi heparin.

## **J. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori yang telah diuraikan, maka dibuat hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak herba patikan kebo dapat meningkatkan jumlah trombosit dan mempengaruhi waktu pembekuan darah pada tikus yang diinduksi heparin.
2. Dosis efektif ekstrak herba patikan kebo yang menunjukkan peningkatan jumlah trombosit pada tikus yang diinduksi heparin.

### K. Kerangka Penelitian



Gambar 5. Kerangka pikir penelitian.