

## SKRINING NOVEL ANTIKOAGULAN DARI EKSTRAK MANGROVE *Rhizophora sp* DAN AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIKOAGULAN SECARA *IN VITRO* DAN *IN VIVO*

Aini<sup>1</sup>, Idham Halid<sup>2</sup>, Jumari Ustiawaty<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medik, Politeknik Medica Farma Husada Mataram  
(Corresponden autor: aini.narmada@yahoo.co.id, jumari.ustiawaty@gmail.com)

### ABSTRAK

Daun *Rhizophora sp* mengandung senyawa fenolik golongan asam fenolat, tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol, polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, xanthoprotin. Tanaman ini berpotensi sebagai antibakteri, antimalaria, antiviral dan antioksidan. Senyawa flavonoid dan kumarin memiliki aktivitas antikoagulan yang dapat digunakan sebagai pengganti antikoagulan sintetik. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan novel antikoagulan dari spesies mangrove *Rhizophora sp* yang terdapat di Lombok, dengan melakukan uji aktivitas antikoagulan secara *in vitro* dan *in vivo*. Uji aktivitas antikoagulan secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Lee-White terdiri dari lima kelompok yaitu Tabung 1 (P1) adalah Kontrol positif (K+) yaitu dimasukan darah sebanyak 1 ml dan EDTA. Tabung 2 (P2) adalah kontrol negative (K-) yaitu hanya dimasukan darah sebanyak 1 ml. Tabung 3 (P3) yaitu dimasukan darah sebanyak 1 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Tabung 4 (P4) yaitu dimasukan darah sebanyak 2 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Tabung 5 (P5) yaitu dimasukan darah sebanyak 3 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Uji aktivitas antikoagulan secara *in vivo* dilakukan dengan pemberian perlakuan pada mencit dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 25 mg/kgBB. Kontrol positif menggunakan walfarin dengan dosis 0,04 mg/kgBB, dan kontrol positif menggunakan aquades, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pemberian dosis dilakukan 2 kali sehari selama 3 hari. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas antikoagulan ekstrak daun mangrove *Rhizophora sp* secara *in vitro* diketahui bahwa pada kontrol positif (K+) dan P3 tidak terjadi pembekuan darah (antikoagulasi), sedangkan pada kontrol negative (K-), P4, dan P5 terjadi pembekuan darah (koagulasi). Masa pembekuan (koagulasi) darah pada kontrol negative (K-) kisaran pada menit ke-2 sampai menit ke-15. Pada P4 masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-1 sampai menit ke-8. Pada P5 masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-2 sampai menit ke-19. Berdasarkan hasil uji aktivitas antikoagulan secara *in vivo* diketahui bahwa waktu perdarahan pada kontrol negative rata-rata 01:57 menit dan kontrol positif rata-rata 02:47 menit. Pada perlakuan menggunakan ekstrak mangrove dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 25 mg/kgBB secara berturut-turut diperoleh nilai rata-rata waktu perdarahan yaitu 00:46 menit, 00:36 menit, dan 00:25 menit. Dari hasil uji secara *in vivo* terlihat bahwa pada perlakuan pemberian ekstrak mangrove *Rhizophora sp* terjadi pemendekan waktu perdarahan dibandingkan waktu perdarahan kelompok kontrol. Sedangkan uji aktivitas antikoagulan secara *in vitro* disimpulkan bahwa ekstrak mangrove *Rhizophora sp* dapat digunakan sebagai antikoagulan dengan ketentuan untuk 1 ml darah diberikan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebanyak 120 µl.

**Kata Kunci:** ekstrak methanol daun mangrove, *Rhizophora sp*, antikoagulan, *in vitro*, *in vivo*

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang banyak memiliki fasilitas kesehatan di wilayah pedalaman dengan keterbatasan bahan ataupun alat penunjang dalam pemeriksaan sampel di laboratorium kerap terjadi. Kendala yang sering dihadapi pada fasilitas kesehatan di wilayah pedalaman adalah pada penanganan sampel darah untuk pemeriksaan darah lengkap terkait tentang antikoagulan.

Antikoagulan merupakan zat yang digunakan untuk mencegah pembekuan darah

dengan jalan menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah (Rosmiati dan Gan 1995). Antikoagulan diperlukan untuk mencegah terbentuknya dan meluasnya thrombus dan emboli serta untuk mencegah bekunya darah *in vitro* pada pemeriksaan laboratorium atau transfuse (Tangkery RAB, *et.al.* 2013).

Penggunaan antikoagulan dalam mencegah bekunya darah *in vitro* pada pemeriksaan skala laboratorium sangat diperlukan dalam pemeriksaan darah lengkap. Selain itu,

antikoagulan oral Warfarin yang merupakan turunan kumarin digunakan untuk mengobati atau mencegah penyakit-penyakit trombotik, diantaranya *myocardial infarction*, *ischemic stroke*, *venous thrombosis*, *heart valve replacement* dan *atrial fibrillation* (Poller L., 2004). Namun demikian, warfarin mempunyai rentang terapeutik yang sempit dan memberikan perbedaan respon yang besar diantara individu atau pasien. Kekurangan dosis akan menyebabkan kegagalan dalam mencegah tromboembolisme sedangkan kelebihan dosis akan meningkatkan resiko perdarahan (Levine MN, *et. al.*, 2004). Salah satu tanaman yang dapat di gunakan sebagai antikoagulan adalah daun mangrove *Rhizophora sp.*

Daun *Rhizophora sp* mengandung senyawa fenolik golongan asam fenolat, tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol, polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, xanthoprotein (Babuselvam *et al.*, 2012; Abidin *et al.*, 2013). Tanaman ini berpotensi sebagai antibakteri, antimalaria, antiviral dan antioksidan (Abidin *et al.*, 2013; Purwaningsih *et al.*, 2013; Yogananth, *et al.*, 2015).

Tanaman mangrove yang telah diketahui memiliki aktifitas antikoagulan adalah jenis mangrove *Aegiceras corniculatum* karena mengandung senyawa flavonoid. Tangkery, 2012; Tangkery, RAB., *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil uji fitokimia yang dilakukan oleh Tangkery (2012), diketahui bahwa batang mangrove *Aegiceras corniculatum* mengandung senyawa flavonoid. Flavonid berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, antibiotik, mencegah keropos tulang, dan meningkatkan efektivitas vitamin C (Mustarichie, *et. al.*, 2011). Ekstrak dari mangrove *Aegiceras corniculatum* diasumsikan dapat dijadikan sebagai bahan sediaan obat untuk penyakit trombolisis, darah tinggi, dan jantung (Tangkery, RAB., *et al.*, 2013). Menurut Macnair (2011) antikoagulan digunakan pada

mereka yang telah mengalami serangan jantung yang disebabkan oleh trombolisis atau gumpalan di arteri koroner. Antikoagulan dalam dunia kedokteran, dapat di pakai baik penggunaan laboratorium dan di klinik, untuk transfuse darah, pembedahan, dan mencegah tromboli (Warrow 1989).

Adanya kemampuan mangrove *Aegiceras corniculatum* sebagai antikoagulan diduga memiliki kemampuan yang sama dengan mangrove dari jenis *Rhizophora sp* karena masih dalam satu family. Selain itu, Mangrove *Rhizophora sp* juga mengandung flavonoid dan kumarin, yang diduga memiliki aktifitas sebagai antikoagulan, sama halnya dengan mangrove *Aegiceras corniculatum* yang memiliki aktifitas antikoagulan.

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan novel antikoagulan dari spesies mangrove *Rhizophora sp* yang terdapat di Lombok, dan juga melakukan uji *in vitro* dan *in vivo* sifat antikoagulan dari hasil ekstrak mangrove spesies *Rhizophora sp.*

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Politeknik “Medica Farma Husada” Mataram.

Penelitian ini menggunakan daun mangrove *Rhizophora sp* diperoleh dari kawasan konservasi mangrove Lembar. Sampel daun mangrove *Rhizophora sp* yang diambil dicuci menggunakan air mengalir untuk mengeluarkan kotoran yang melekat dan dikeringkan selama 3 hari menggunakan oven dengan suhu 50° C, kemudian daun diblender hingga halus.

### 1. Tahap Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode maserasi. Sampel yang sudah halus ditimbang sebanyak 100 gram dan direndam dengan etanol 96% selama 3 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari. Sampel disaring dengan menggunakan

kertas saring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat diuapkan dan dipisahkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

2. Uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikoagulan secara *in vitro*

Konsentrasi ekstrak mangrove yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan data penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa adanya aktifitas antikoagulan pada ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum* dengan konsentrasi 120 µl ekstrak untuk 1 ml darah (Tangkey RAB, *et.al.*, 2013).

Metode yang digunakan dalam pengujian ini yaitu metode Lee-White yang sudah dimodifikasi untuk menentukan waktu pembekuan darah yang diamati secara visual (Gandasoebrata 1992). Prosedur kerja metode Lee-White yang sudah dimodifikasi yaitu disiapkan 5 buah tabung reaksi dengan diameter 8 mm, yang bersih dan diberi label dari nomor 1 sampai nomor 5. Tabung tersebut diletakkan di dalam rak tabung.

Darah yang dibutuhkan dalam pengujian ini diambil dari vena kubiti 5 orang sukarelawan berumur 18-25 tahun dengan menggunakan alat suntik disposable 5 ml/cc. Masing-masing sukarelawan darahnya diambil sebanyak 5 ml. Keadaan fisik yang sehat dan tidak memiliki riwayat pendarahan yang berkepanjangan, dan tidak ada kelainan hemostasis.

Tabung 1 (P1) adalah Kontrol positif (K+) yaitu dimasukan darah sebanyak 1 ml

dan EDTA. Tabung 2 (P2) adalah kontrol negative (K-) yaitu hanya dimasukan darah sebanyak 1 ml. Tabung 3 (P3) yaitu dimasukan darah sebanyak 1 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Tabung 4 (P4) yaitu dimasukan darah sebanyak 2 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Tabung 5 (P5) yaitu dimasukan darah sebanyak 3 ml dan ekstrak mangrove 120 µl. Semua tabung dicampur dengan fortex. Setelah 3 menit tabung diangkat dan masing-masing tabung reaksi dimiringkan untuk melihat apakah sudah terjadipembekuan darah atau belum. Bila belum terjadi pembekuan letakkan kembali pada rak tabung reaksi dan setiap 30 detik dilakukan hal yang sama.

Pengukuran waktu pembekuan darah dimulai pada saat darah mulai keluar dari vena. Pengukuran dilakukan dengan stowatch dan diamati selama 120 menit.

3. Uji Aktifitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikoagulan secara *in vivo*

Uji aktivitas antikoagulan secara *in vivo* dilakukan untuk mengetahui waktu perdarahan dengan pemberian perlakuan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* pada mencit dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, 25 mg/kgBB. Kontrol positif menggunakan walfarin dengan dosis 0,04 mg/kgBB, dan kontrol negative menggunakan aquades, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Pemberian dosis dilakukan 2 kali sehari selama 3 hari.

## HASIL

1. Hasil uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikoagulan secara *in vitro*

Hasil uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikoagulan secara *in vitro* pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 1.

Table 1. Hasil uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikoagulan secara *in vitro*

Konsetrasi	Rata-rata Waktu Pembekuan Darah per Orang				
	1	2	3	4	5

Konsetrasi	Rata-rata Waktu Pembekuan Darah per Orang				
	1	2	3	4	5
P1 = Kontrol positif (1 ml darah + EDTA)	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku
P2 = Kontrol negatif (1 ml darah)	11.52	11.43	11.46	12.01	11.45
P3 (1 ml darah+120 µl ekstrak mangrove)	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku	Tidak Beku
P4 (2 ml darah+120 µl ekstrak mangrove)	11.20	11.13	11.17	11.13	11.16
P5 (3 ml darah+120 µl ekstrak mangrove)	10.15	10.33	11.02	12.11	10.55

Berdasarkan penelitian ini (Tabel 1) terlihat bahwa pada kontrol positif (K+) dan P3 tidak terjadi pembekuan darah sedangkan pada kontrol negative (K-), P4, dan P5 mengalami pembekuan darah (koagulasi). Masa pembekuan (koagulasi) darah pada kontrol negative (K-), tampak mengalami perbedaan waktu berkisar pada

menit ke-11 sampai menit ke-12. Pada Perlakuan P4 (2 ml darah dan ekstrak mangrove 120 µl) masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-11. Pada Perlakuan P5 (3 ml darah dan ekstrak mangrove 120 µl) masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-10 sampai menit ke-12.

2. Hasil uji aktifitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikuagulan secara *in vivo*

Hasil uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikuagulan secara *in vivo* pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 2.

Table 2. Hasil uji aktivitas ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebagai antikuagulan secara *in vivo*

Ulangan	Kontrol negatif (K-) (menit)	Kontrol positif (K+) (menit)	Pemberian ekstrak mangrove 5mg/kgBB (menit)	Pemberian ekstrak mangrove 10mg/kgBB (menit)	Pemberian ekstrak mangrove 25mg/kgBB (menit)
	T1	T2	T3	T4	T5
1	01:40	02:49	00:48	00:36	00:24
2	02:01	02:45	00:45	00:36	00:27
3	01:47	02:37	00:47	00:36	00:26
4	01:45	02:59	00:45	00:39	00:25
5	01:51	02:47	00:44	00:35	00:25
<b>Rata-Rata</b>	<b>01:57</b>	<b>02:47</b>	<b>00:46</b>	<b>00:36</b>	<b>00:25</b>

Berdasarkan hasil uji aktivitas antikoagulan secara *in vivo* diketahui bahwa waktu perdarahan pada kontrol negative rata-rata 01:57 menit. Kontrol positif rata-rata 02:47 menit. Pada perlakuan menggunakan ekstrak mangrove dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 25 mg/kgBB secara berturut-turut

diperoleh nilai rata-rata waktu perdarahan yaitu 00:46 menit, 00:36 menit, dan 00:25 menit. Dari hasil uji secara *in vivo* terlihat bahwa pada perlakuan pemberian ekstrak mangrove *Rhizophora sp* terjadi pemendekan waktu perdarahan dibandingkan waktu perdarahan kelompok kontrol.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan penelitian ini (Tabel 1) terlihat bahwa pada kontrol positif (K+) dan P3 tidak terjadi pembekuan darah. Tidak terjadinya pembekuan darah pada kontrol positif (K+) disebabkan karena kandungan ion kalsium pada EDTA mampu mencegah terjadinya pembekuan darah. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widmann (1994) yang mengatakan bahwa EDTA mempunyai fungsi sebagai antikoagulasi yang mengikat ion kalsium sehingga tidak terjadi proses dalam pembekuan darah. Sedangkan pada perlakuan P3 (ekstrak mangrove 120 $\mu$ l dalam 1 ml darah) memiliki sifat yang sama dengan EDTA, keduanya dapat mengikat salah satu faktor pembekuan darah yaitu kalsium, sehingga tidak terjadi pembekuan darah (koagulasi). Hal ini sesuai dengan pernyataan Tangkery, RAB., *et al.*, (2013) bahwa ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum* memiliki sifat yang sama dengan EDTA, keduanya dapat mengikat salah satu faktor pembekuan darah yaitu kalsium, sehingga darah tidak membeku.

Senyawa yang terdapat pada ekstrak mangrove *Rhizophora sp* yang di ketahui memiliki peran dalam mencegah terjadinya pembekuan darah adalah flavonoid dan kumarin. Pernyataan ini dipertegas oleh Babuselvam *et al.*, (2012) dan Abidin *et al.*, (2013) yang mengatakan bahwa daun *Rhizophora sp* mengandung senyawa fenolik golongan asam fenolat, tannin dihidroflavonol, asam kafeat, asam vanilat, asam p-hidroksi benzoate, alkaloid, kumarin, flavonoid, fenol, polifenol, quinon, resin, saponin, fitosterol, dan xanthoprotin. Kandungan senyawa flavonoid pada daun mangrove *Rhizophora sp* memiliki peran sebagai antikoagulan disebabkan karena senyawa flavonoid memiliki fungsi sebagai antioksidan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Mustarichie (2011) yang mengatakan bahwa flavonid yang berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, meningkatkan efektivitas vitamin C,

mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Antioksidan digunakan luas sebagai bahan kandungan suplemen makanan dengan harapan dapat mencegah penyakit seperti kanker dan jantung koroner (Aninymous, 2011).

Uji fitokimia yang dilakukan oleh Tangkery (2012) bahwa batang mangrove *Aegiceras corniculatum* mengandung senyawa flavonoid. Ekstrak dari *Aegiceras corniculatum* diasumsikan dapat dijadikan sebagai bahan sediaan obat untuk penyakit trombolisis, darah tinggi, dan jantung (Tangkery RAB, *et. al.*, 2013). Hal ini didukung dengan pendapat Macnair (2011) yang mengatakan antikoagulan digunakan pada mereka yang telah mengalami serangan jantung yang disebabkan oleh trombosis atau gumpalan di arteri koroner.

Selain flavonoid, kandungan senyawa kumarin pada daun mangrove *Rhizophora sp* memiliki peran sebagai antikoagulan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Chomah I, (2010) yang mengatakan bahwa senyawa kumarin dan turunannya ini yang di duga memiliki aktifitas sebagai antikoagulan. Kumarin memblok aktivasi vitamin K sehingga mengganggu proses  $\gamma$ -karboksilasi faktor-faktor koagulasi II, VII, XI, X (Chomah I., 2010). Antikoagulasi dalam dunia kedokteran, dapat dipakai baik penggunaan di laboratorium dan di klinik, untuk transfusi darah, pembedahan, dan mencegah tromboemboli (Warouw, V., 1989).

Berdasarkan hasil penelitian ini (tabel 1) terlihat bahwa pada kontrol negative (K-), P4, dan P5 mengalami pembekuan darah. Masa pembekuan darah pada kontrol negative (K-), tampak mengalami perbedaan waktu berkisar pada menit ke-11 sampai menit ke-12. Sampel darah K- yang diambil masih dalam batas masa pembekuan darah normal. Hal ini sesuai dengan pernyataan Bithhell (1993) bahwa pembekuan darah normal terjadi pada kisaran waktu 3-18 menit.

Pada Perlakuan P4 (2 ml darah dan

ekstrak mangrove 120 µl) masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-11. Pada Perlakuan P5 (3 ml darah dan ekstrak mangrove 120 µl) masa pembekuan darah berkisar pada menit ke-10 sampai menit ke-12. Berdasarkan hasil penelitian ini terlihat bahwa ekstrak mangrove *Rhizophora sp* dapat digunakan sebagai antikoagulan dengan ketentuan untuk 1 ml darah diberikan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebanyak 120 µl, namun jika ekstrak mangrove 120 µl dimasukkan ke dalam darah dengan volume 2 ml dan 3 ml maka akan terjadi koagulasi. Hal ini kemungkinan disebabkan kemampuan dari ekstrak mangrove *Rhizophora sp* dalam menghambat pembekuan darah disesuaikan dengan volume darah yang digunakan. Pernyataan ini diasumsikan sama dengan penggunaan dosis standar EDTA 10% yaitu untuk 1 ml darah dibutuhkan EDTA sebanyak 30-45 µl, jika volume darah ditingkatkan maka EDTA tidak akan memberikan efek antikoagulan.

Sampel darah yang diberi perlakuan penambahan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* diamati selama 120 menit. Pemilihan waktu selama 120 menit untuk mengamati sampel darah tersebut, karena waktu 120 menit merupakan ketetapan waktu dimana semua faktor pembekuan darah tidak akan terbentuk, sehingga darah tidak dapat membeku atau tidak terkoagulasi (Tangkery, RAB., *et al.*, 2013). Mutschler (1991) menyatakan akan diperlukan waktu selama 2 jam sampai terjadinya efek yang diinginkan, yaitu darah tidak membeku, dan kerja dari antikoagulasi akan bertahan sekitar 4-6 jam.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa

1. Uji aktifitas antikoagulan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* secara *in vitro* pada kelompok perlakuan P3 (ekstrak mangrove 120µl dalam 1ml darah) tidak terjadi pembekuan darah, sedangkan kelompok P4 (ekstrak mangrove 120µl

dalam 2ml darah), dan P5 (ekstrak mangrove 120µl dalam 3ml darah), mengalami pembekuan darah. Kisaran masa pembekuan darah pada P4 terjadi pada menit ke-1 sampai menit ke-8 dan P5 terjadi pada menit ke-2 sampai menit ke-19.

2. Ekstrak mangrove *Rhizophora sp* dapat digunakan sebagai antikoagulan secara *in vitro* dengan ketentuan untuk 1 ml darah diberikan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* sebanyak 120 µl. Jika ekstrak mangrove 120 µl dimasukkan ke dalam darah dengan volume 2 ml dan 3 ml maka akan terjadi koagulasi.
3. Nilai rata-rata waktu perdarahan pada uji aktifitas antikoagulan ekstrak mangrove *Rhizophora sp* secara *in vivo* dengan dosis 5 mg/kgBB, 10 mg/kgBB, dan 25 mg/kgBB secara berturut-turut yaitu 00:46 menit, 00:36 menit, dan 00:25 menit. Semakin besar dosis ekstrak mangrove *Rhizophora sp* yang diberikan semakin pendek waktu perdarahannya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, NAZ. Halim N. A. H. and Ropisah. 2013. Basic Study of Chemical Constituents in *R. mucronata* Species. The Open Conference Proceedings Journal, 4(Suppl-2, M7) 27-28. Faculty of Applied Science, Universiti Teknologi MARA Negeri Sembilan, Ka. Malaysia
- Aninonous. 2011. *Aegiceras corniculatum*. Wetlands International Indonesia Programe.
- Babuselvam, M., Kathiresan K., Ravikumar S., Uthiraselvam M., dan Rajabudeen E.. 2012. Scientific Evaluation of Aqueous Extracts of Fresh and Dried Leaves from *Rhizophora mucronata* Lamk (Rhizophoraceae) in Rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 6 (11): 814-817
- Bhitell, T.C 1993. The diagnostic Approach to the Bleeding Disorders. In : Lee, R, G., Bethell, T., Foerster, J, Athens, J, W,

- Lukens, J, N, ed. Wintrobe's Clinical Hematology. Ninth edition. Malvern, Pennsylvania: Lea and Febiger.
- Chomah I, 2010. Uji Efek Antikoagulan Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) pada Mencit Jantan Galur BALB-C. Bagian Farmasi Klinik. Fakultas Farmasi. Universitas Jember.
- Gandasoebrata, R. 1992. Hematologi. Dalam: Gandasoebrata R. penuntun Laboratorium Klinik Cetakan Ketujuh. Dian Rakyat. Jakarta.
- Levine MN, Raskob G, Beyth RJ, Kearon C, Schulman S., 2004. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy. Chest Journal. 126 (3 suppl): 287–310.
- Macnair, 2011. Antikoagulan. [http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/medical\\_notes/ab/990593.stm](http://news.bbc.co.uk/1/hi/health/medical_notes/ab/990593.stm). Diunduh tanggal 9 Mei 2018
- Mustarichie, R., I. Musfiroh, J. Levita 2011. Metode Penelitian Tanaman Obat. Widya Padjadjaran. Bandung. ISBN: 978-602-8323-54-3
- Mutschler, E. 1991. Dinamika Obat. Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi Edisi Ke-5. Penerbit ITB. Bandung.
- Poller L., 2004. International Normalized Ratios (INR): the first 20 years. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2(6): 849–860.
- Purwaningsih, S., E. Salamah, Y.P. Sukarno dan E. Deskawati. 2013. Aktivitas Antioksidan Dari Buah Mangrove (*Rhizophora mucronata* Lamk.) pada Suhu Yang Berbeda. JPHPI., 16(3): 199-206
- Rosmiati, H. dan V. H. S. Gan. 1995. Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik dan Hemostatik dalam: Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. S. Gan, R. Setiabudi, U. Sjamsuddin, Z.S. Bustani, (editor). Farmakologi FKUI, Jakarta.
- Tangkery, R. 2012. Uji Fitokimia Pada Mangrove. Hasil PKL. FPIK UNSRAT. Manado.
- Tangkery RAB, Paransa DS dan Rumengan A., 2013. Uji Aktivitas Antikoagulan Ekstrak Mangrove *Aegiceras corniculatum*. Jurnal Pesisir dan Laut Tropis, 1(1):7-14
- Warouw, V. 1989. Telaah Efek antikoagulan Dari Beberapa Jenis Rumput Laut (Rhodophyceae) Di Perairan Sulawesi Utara. Skripsi. FPIK UNSRAT. Manado.
- Widmann, F. K. 1994. Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium, *terjemahan* Kresno, S. B., R. Gandasoebrata dan T. Latu. EGC. Jakarta.
- Yogananth, N, Anuradha V., Ali MYS, Muthezhilan R, Chanthuru A. 2015. Chemical Properties of Essential Oil From *R. mucronata* mangrove Leaf Against Malarial Mosquito *Anopheles stephensi* and Filarial Mosquito *Culex quinquefasciatus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.*, 5(1): 67-79