

Uji Aktivitas Antipembekuan Darah dan Docking dari Daun Kaki Unta (*Waltheria indica* L.)

Pertiwi Awilda ^{a, 1*}, Bawaihi ^{a, 2}, Muhammad Jayyid J. ^{a, 3}, Ratna Mildawati ^{b, 4}, Samsul Hadi ^{c, 5}

^a Farmasi, Universitas Nahdlatul Ulama Kalimantan Selatan, Banjar, Kalimantan Selatan 70652, Indonesia

^b STIKES Ganesha Husada, Kesehatan, Kediri, Jawa Timur 64182, Indonesia

^c Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat Banjarmasin, Kalimantan Selatan 70123, Indonesia

¹pertiwiawilda.oppo@gmail.com; ²bawaichang@gmail.com; ³muhammadjayyid@gmail.com; ⁴ratnamildawati@gmail.com;

⁵samsul.hadi@ulm.ac.id

*korespondensi penulis

INFO ARTIKEL	ABSTRAK
Sejarah artikel: Diterima : 02-06-2025 Revisi : 04-06-2025 Disetujui : 08-06-2025 Kata kunci: <i>W. indica</i> <i>in vitro</i> <i>in vivo</i> Antipembekuan	Di Indonesia, prevalensi penyakit jantung koroner (PJK) adalah 1,5% di semua kelompok umur, sehingga masih menjadi masalah serius. Jika berbicara tentang penyakit kardiovaskular, PJK berada di urutan teratas. Tujuan dari penelitian ini adalah uji aktivitas <i>W. indica</i> berkaitan dengan kemampuan sebagai antikoagulan dan molecular docking. Darah tikus digunakan untuk teknik pengujian <i>in vitro</i>, sedangkan waktu pendarahan tikus diukur untuk pengujian <i>in vivo</i> (hewan coba dibagi menjadi 5 ekor mencit dan masing masing kelompok 5 ekor) dan analisis data dengan one way anova $p < 0.05$, dengan menggunakan perangkat lunak PLANT dalam docking, penelitian <i>in silico</i> digunakan untuk mengidentifikasi senyawa dari <i>W. indica</i> yang mungkin memiliki sifat antikoagulan, Discovery Studio kemudian digunakan untuk mengidentifikasi residu yang terlibat dalam interaksi dan skor docking digunakan dalam analisis data. Hasil uji <i>in vitro</i> untuk ekstrak etanol menunjukkan adanya koagulasi pada menit ke-30, fraksi n-heksana pada menit ke-10, fraksi etil asetat dan n-butanol pada menit ke-60, dan pada uji <i>in vivo</i> pendarahan hingga 349 ± 23 detik untuk dosis 100 mg/kg BB, 425 ± 27 detik untuk dosis 200 mg/kg BB, dan 546 ± 34 detik untuk dosis 300 mg/kg BB, hal ini lebih baik dari pada kontrol, dan dengan docking mengungkapkan bahwa senyawa yang berpotensi dalam pengujian ini adalah kuersetin. Kesimpulannya <i>W. indica</i> berpotensi sebagai antipembekuan darah dan berdasarkan molekular docking kuersetin berpotensi sebagai penghambat agregasi platelet.
Key word: <i>W. indica</i> <i>in vitro</i> <i>in vivo</i> Anticoagulant	ABSTRACT In Indonesia, the prevalence of coronary heart disease (CHD) is 1.5% in all age groups, so it is still a serious problem. When talking about cardiovascular disease, CHD is at the top. The purpose of this study was to test the activity of <i>W. indica</i> related to its ability as an anticoagulant and molecular docking. Rat blood was used for <i>in vitro</i> testing techniques, while the bleeding time of mice was measured for <i>in vivo</i> testing (the experimental animals were divided into 5 mice and each group consisted of 5 mice) and data analysis with one way anova $p < 0.05$, using PLANT software in docking, <i>in silico</i> research was used to identify compounds from <i>W. indica</i> that may have anticoagulant properties, Discovery Studio was then used to identify residues involved in the interaction and docking scores were used in data analysis. The results of <i>in vitro</i> tests for ethanol extracts showed coagulation at 30 minutes, n-hexane fraction at 10 minutes, ethyl acetate and n-butanol fractions at 60 minutes, and in <i>in vivo</i> bleeding tests up to 349 ± 23 seconds for a dose of 100 mg/kg BW, 425 ± 27 seconds for a dose of 200 mg/kg BW, and 546 ± 34 seconds for a dose of 300 mg/kg BW, this is better than the control, and docking revealed that the potential compound in this test is quercetin. The conclusion is that <i>W. indica</i> has the potential as an anticoagulant and based on molecular docking quercetin has the potential to inhibit platelet aggregation. This is an open access article under the CC-BY-SA license. 

Pendahuluan

Salah satu penyakit tidak menular yang menjadi risiko kesehatan di banyak negara adalah penyakit kardiovaskular. Penyebab penyakit kardiovaskular adalah kesehatan jantung dan pembuluh darah yang terganggu. Sekitar 80% kematian terkait penyakit kardiovaskular, atau lebih dari tiga perempat dari semua kematian, terjadi di negara berpenghasilan rendah hingga menengah seperti Indonesia (Wicaksana et al., 2020). Penyakit jantung koroner disebut PJK, adalah salah satu bentuk penyakit yang paling umum. Penyempitan arteri darah yang disebabkan oleh penyumbatan pembuluh darah mungkin menjadi penyebab penyakit jantung koroner ini. Informasi ini menunjukkan bahwa penyakit jantung masih menjadi masalah yang signifikan di Indonesia. Menurut data, 1,5% orang Indonesia dari semua usia memiliki kasus PJK. Penyakit jantung koroner merupakan penyakit kardiovaskular paling serius di antara tujuh penyakit tidak menular di Indonesia. Akibatnya, komunitas medis harus menemukan cara yang bisa diterapkan untuk mengakhiri PJK. Agen antipembekuan darah merupakan salah satu pengobatan farmakologis untuk penyakit jantung koroner. Kaki unta merupakan salah satu tanaman yang memiliki potensi untuk tindakan ini.

Tanaman yang secara ilmiah dikenal sebagai *Waltheria indica*, atau kaki unta, adalah anggota famili Sterculiaceae. Kuat dan berkayu, tanaman kaki unta adalah tunggul tahunan. Tanaman ini umum di daerah tropis dan subtropis. Dengan diameter batang 2 cm dan tinggi sekitar 2 m, tanaman ini adalah semak dengan umur pendek. Akarnya fleksibel dan berwarna gelap. *Waltheria indica* digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati penyakit generatif seperti asma dan peradangan, serta gejala ringan seperti sakit tenggorokan dan batuk (Yabré et al., 2024). Alkaloid, flavonoid, sterol, terpena, glikosida, saponin, antrakuinon, dan gula termasuk di antara beberapa kelompok kimia yang ditemukan dalam tanaman ini (Zongo et al., 2013). Zat-zat ini mungkin memiliki sifat pengencer darah. Flavonoid dapat digunakan sebagai antiplatelet dalam pengobatan patologi kardiovaskular karena telah dibuktikan bahwa flavonoid mengganggu agregasi platelet dengan mengubah metabolisme asam arakidonat (Zaragoza et al., 2022). Hasil penelitian adalah sebagai berikut: *W. Indica* menghambat ekspresi L-IB, TNF- α , TNFR1, dan NF- κ B, yang memiliki sifat antiinflamasi. Alkaloid kuinolon adalah senyawa yang berasal dari akar *W. indica* yang mungkin memiliki sifat antiinflamasi (Liu et

al., 2023). Karena penekanan neuron sensorik, *W. indica* memiliki sifat antinoseptif selain sifat antiinflamasi (Avoseh et al., 2019). Dengan demikian, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi tanaman kaki unta (*W. indica*) sebagai pengobatan inovatif untuk penyakit jantung koroner dengan memeriksa sifat antiplatelet dan antikoagulannya.

Banyak penelitian telah dilakukan terhadap efek farmakologis tanaman *W. indica*. *W. indica* mengandung komponen terpenoid, alkaloid, dan flavonoid dengan sifat antioksidan, analgesik, antibakteri, antijamur, antidiare, antimalaria, antivirus, antikonvulsan, dan antianemia (Nirmala & Sridevi, 2021). Telah dibuktikan bahwa alkaloid dan flavonoid bersifat antipembekuan darah. Di sisi lain, antipembekuan darah belum diteliti. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan menggunakan teknik *in vitro* dan *in vivo* *W. indica* untuk memastikan sifat antipembekuan darah. Selanjutnya, docking digunakan untuk melanjutkan penelitian.

Metode

1. Alat dan Bahan

Daun *Waltheria indica*, DMSO (Merck), NaCMC (Sigma), etanol 96% (teknis), N-heksan (teknis), etil asetat (teknis), n-butanol (teknis), tikus wistar, mencit B6/C, Sonde menict, software PLANT, discovery studio, Marvin Bean.

2. Jalannya Penelitian

Eksktraksi *W. Indica*

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Serbuk daun Kaki Unta diekstraksi dengan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam dengan sesekali pengadukan. Selanjutnya, disaring menggunakan kertas saring. Ekstrak cair kemudian dipekatkan dengan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot tetap (Rohama et al., 2023)

Uji pembekuan darah secara *in vitro*

Kontrol yang digunakan yaitu DMSO dengan penambahan DMSO 50 μ L pada sampel darah 0,5 mL dan kontrol positif yang digunakan yaitu EDTA dengan menambahkan 0,5 mL EDTA kedalam darah 0,5 mL. Larutan uji ekstrak etanol 96%, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan n-butanol dibuat dalam 3 replikasi. Larutan uji ditambahkan sebanyak 50 μ L kedalam sampel darah 0,5 mL. Semua perlakuan diamati selama 2 jam, darah membeku apabila viskositas darah meningkat menjadi lebih kental hingga membeku.

Diambil darah hasil uji antikoagulan metode Lee White (Metode ini mengukur waktu yang dibutuhkan darah utuh untuk membentuk bekuan secara alami tanpa penambahan antikoagulan, setelah ditampung dalam tabung kaca) (Astuti & Mooy, 2024). Darah tersebut kemudian ditotolkan diatas preparat dan diapus kemudian difiksasi dengan etanol setelah itu preparat direndam dalam pelarut giemsa lalu dibilas dengan air mengalir dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 100 kali.

Uji *in vivo* pembekuan darah

Mencit dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompoknya terdiri atas 5 ekor mencit (kolompok kontrol, kontrol positif, dosis ekstrak etanol 100; 200; 300 mg/kg BB). Pengujian dilakukan dengan memberikan bahan uji dengan dosis selama 9 hari berturut-turut. Pada hari ke-9 ekor mencit dibuat pendarahan. Parameter yang digunakan yaitu waktu pendarahan, waktu koagulasi(Putri et al., 2014).

Uji *in silico*

Uji *in silico* menggunakan PASS server untuk seleksi aktivitas(Filimonov et al., 2014) dan dilanjutkan doking menggunakan software PLANTS(Gorgulla et al., 2021). Protein yang digunakan mempunyai kode 4PXZ, merupakan target dalam agregasi platelet, sehingga dengan menginhibisi protein tersebut dapat mencegah pembekuan darah. Penelitian *in silico* dimulai dengan menghilangkan molekul yang tidak dipergunakan yaitu CLR, OLC, PEG. Tahapan selanjutnya adalah redocking ligand native dengan koordinat (X:13.3997; Y: -2.489; Z: 53.8628) dan radius 12.7759. Hasil dari redocking digunakan sebagai validasi metode docking, data yang digunakan adalah RMSD dari ligand native dan ligand native redocking dengan syarat nilainya dibawah 2 Å. Setelah itu docking terhadap ligand uji yang diambil dari database www.knapsackfamily.com, yang sebelumnya sudah dibuat konformasinya menggunakan Marvin Bean(ChemAxon, 2016). Hasil dari docking ini adalah skore doking. Pose tiga dimensi dari senyawa uji dilihat menggunakan discovery studio(Biovia, 2019).

Hasil dan Pembahasan

Uji *In vitro*

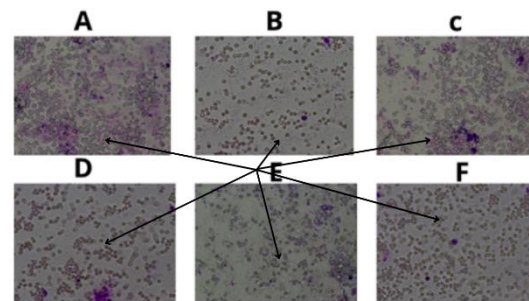
Pada uji In vitro kontrol dan fraksi n-heksan mengalami pembekuan dimulai menit ke -10. Untuk ekstrak etanol mengalami pembekuan pada menit ke-30. Untuk fraksi etil asetat dan n-heksan mengalami pembekuan pada menit ke-60. Untuk EDTA pada menit ke-60 tidak terjadi pembekuan

darah seperti terlihat pada Tabel 1. Diketahui bahwa darah pada EDTA tetap cair tanpa gumpalan selama pengamatan 1 jam berlangsung. Hal ini sesuai dengan sifatnya yang dapat mempertahankan sel dari lisis .

Tabel 1. Tingkat pembekuan darah

Kelompok	Tingkat Pembekuan Darah selama 1 jam		
	Menit ke-10	Menit ke-30	Menit ke-60
Kontrol	+	+	+
Kontrol positif (EDTA)	-	-	-
Ekstrak ethanol 96 %	-	+	+
Fraksi n-heksan	+	+	+
Fraksi etil asetat	-	-	+
Fraksi n-butanol	-	-	+

(-) belum membeku; (+) sudah membeku



Gambar 1. A. Kontrol normal; B. EDTA; C. Ekstrak etanol 96 %; D. Fraksi N-heksan; E. Fraksi etil asetat; F. Fraksi n-butanol

Terlihat massa darah pada EDTA (Gambar 1B) tampak cair, ditandai dengan adanya sel darah yang tersebar dan tidak menempel. Kondisi sel darah yang tidak membeku biasanya berbentuk bulat dan tidak berkelompok serta memiliki inti yang kosong. Tampak darah pada kontrol normal (Gambar 1A) terlihat terjadi pengelompokkan walaupun darah masih tersebar dan menggumpal. Hal ini sejalan dengan tampak makroskopisnya yang masih cair namun sedikit ada gumpalan. Sedangkan pada ekstrak (Gambar 1C) dan Fraksi n-heksan (Gambar 1D) massa darah terlihat sedikit menggerobol walaupun tersebar. Fraksi etil asetat (Gambar 1E) dan fraksi n-butanol (Gambar 1F) memiliki tampak jelas eritrosit berbentuk bulat dan yang paling tidak berkelompok. Pada pengujian menggunakan metode Lee-White dan Eustrek menunjukkan bahwa Fraksi etil asetat dan n-heksan memiliki aktivitas anti pembekuan darah. Hal itu dibuktikan dengan konsistensi darah yang tetap cair secara makroskopis dan bentuk sel darah terpisah pada apusan darah (mikroskopis).

Uji *in vivo*

Berdasarkan data *in vivo*, waktu perdarahan tertinggi ke rendah setelah diberikan perlakuan selama 9 hari secara oral adalah aspirin, ekstrak 300 mg/KgBB, ekstrak 200 mg/KgBB, ekstrak 100 mg/KgBB, dan kontrol normal (Tabel 2). Waktu perdarahan terendah diperoleh oleh kontrol normal karena fungsinya yang hanya sebagai *suspending agent* dan tidak memiliki aktivitas antiplatelet. Dari ketiga ekstrak, dosis 300 mg/KgBB mampu menghasilkan waktu perdarahan yang lebih baik walaupun tidak sebanding dengan kontrol positif. Hasil sesudah perlakuan yang diperoleh kemudian dianalisis untuk melihat distribusi data yang dihasilkan normal atau tidak. Hasil normalitas pada *Shapiro-Wilk* menunjukkan $p > 0.05$ menandakan data terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan ke uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan $p < 0.05$, sehingga disimpulkan terdapat perbedaan signifikan antara kelompok uji. Berdasarkan data tersebut, dapat dilihat semua perlakuan mengalami kenaikan waktu perdarahan.

Tabel 2. Uji *in vivo* anti pembekuan darah

Kelompok	Waktu pendarahan (detik)
Kontrol normal	136 ± 19
Aspirin 0,026 mg/KgBB	609 ± 23
Dosis ekstrak 100 mg/kgBB	349 ± 23
Dosis ekstrak 200 mg/kgBB	425 ± 27
Dosis ekstrak 300 mg/kgBB	546 ± 34

Jika dibandingkan uji aktivitas pembekuan darah dari kubis merah yaitu 38,76 mg/kgBB (Putri et al., 2014), kulit nanas sebesar 112 mg/kgBB (Fadilla et al., 2024), sari buah kurma 21 mg/kgBB (Nanda & Yenita, 2025) kemampuan *W. indica* masih lebih lemah karena untuk optimal mencegah pembekuan darah membutuhkan 300 mg/kgBB.

Uji *In silico*

Penelitian dimulai dengan dengan pencarian senyawa yang terkandung dari *W. indica*. Berdasarkan dari penelusuran literatur diperoleh 15 senyawa. Senyawa tersebut kemudain diseleksi aktivitasnya menggunakan PASS online. Berdasarkan PASS online diperoleh 11 senyawa yang berpotensi mempunyai kemampuan antipembekuan darah dengan skor lebih dari 0,5. Dari 11 senyawa ini selanjutnya dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode docking. Software yang digunakan untuk docking adalah PLANTS, algoritma dalam metode ini

adalah ANT colony, dan sistem operasi menggunakan Command_Prompt.

Tabel 3. Prediksi aktivitas senyawa menggunakan PASS Online

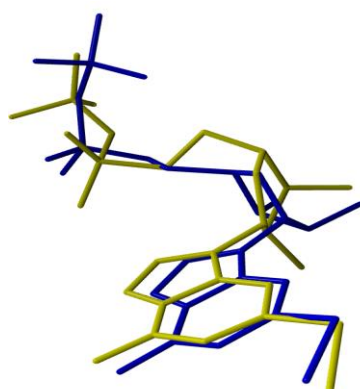
Nama	PASS online	
	Pa	Pi
2,3-Dihydro-3,5-Dihydroxy-6-methyl-4h-pyran-4-one	0,601	0,011
3-dihydro-2H-1-benzofuran-5-carboxylic acid	0,501	0,065
5,2',5'-trihydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone	0,573	0,020
5-hydroxy-3,7,4'-trimethoxyflavone	0,596	0,013
chrysosplenol E	0,590	0,014
Epicatechin	0,514	0,054
flindulatin	0,580	0,017
oxyanin A	0,573	0,020
Quercetin	0,563	0,025
tiliroside	0,620	0,007
vitexicarpin	0,588	0,015

Berdasarkan redocking ligand native diperoleh nilai RMSD molecul sebesar 1.4445 Å, dengan nilai dibawah 2 Å, maka docking yang dilakukan memenuhi syarat validasi docking (Shivanika et al., 2022). Karena telah memenuhi syarat validasi docking maka koordinat dan radius yang dilakukan ligand native dapat digunakan untuk docking ligand uji. Berdasarkan docking yang telah dilakukan diperoleh empat senyawa yang mendekati ligand native, sehingga empat senyawa ini dianalisis lebih lanjut. 3-dihydro-2H-1-benzofuran-5-carboxylic acid dengan skor -77.3732 memiliki ikatan hidrogen dengan protein pembekuan darah yaitu SER156; ASN191; MET152; HIS187; CYS194, disamping itu ligand ini mempunyai persamaan residu yang berikatan dengan ligan native yaitu ASN191; TYR105; VAL102; VAL190. Epicatechin mendapatkan skor -78.0958 dengan membentuk ikatan hidrogen bersama SER101; LYS179; CYS194; CYS97; CYS175; VAL102; ASN159; HIS187 ketika dikomparatifkan dengan ligand native asam amino yang sama adalah SER101; LYS179; CYS194; CYS97; VAL102; TYR105; VAL190; CYS194. Quercetin memiliki kesamaan residu asam amino ketika dibandingkan ligand native yaitu SER101; ASN191; CYS194; CYS97; TYR105; VAL190; VAL102, dengan kesamaan residu ini dan ikatan hidrogen yang terbentuk bersama SER101; ASN191; CYS194; ARG256; CYS97; TYR105; MET152; HIS187 maka diperoleh skor docking -78.8167. Tiliroside mampu membentuk ikatan hidrogen dengan ARG19; TYR21;

SER101; LYS179; GLN263; CYS97; VAL102; ARG93; LYS280; TYR105; CYS175; PHE277; VAL190; MET152 dan memiliki residu yang sama dengan ligand native yaitu SER101; LYS179; GLN263; CYS97; VAL102; TYR105; VAL190; TYR259; PHE106; LEU155; CYS194, dengan dua hal itu mendapatkan skor docking -75.7118.

Tabel 4. Nilai skor docking dan residu yang terlibat interaksi

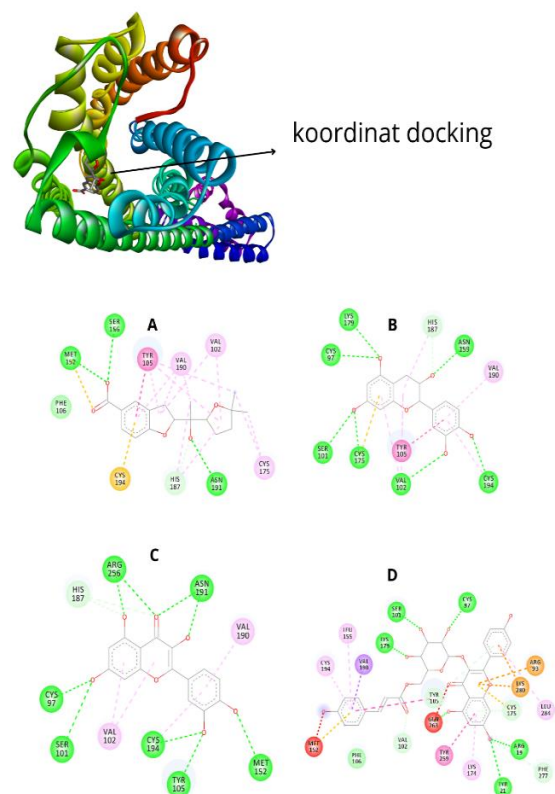
Nama	Skore docking	Residu
Native (2-(methylsulfanyl) adenosine 5'-(trihydrogen diphosphate)	-120.845	SER101; TYR105; LYS179; TYR259; GLN263; ASN191; CYS97; CYS194; PHE106; LEU155; VAL190; VAL102
3-dihydro-2H-1-benzofuran-5-carboxylic acid	-77.3732	SER156; ASN191; MET152; HIS187; CYS194; TYR105; VAL102; VAL190; CYS175;
Epicatechin	-78.0958	SER101; LYS179; CYS194; CYS97; CYS175; VAL102; ASN159; HIS187; TYR105; VAL190; CYS194
Kuersetin	-78.8167	SER101; ASN191; CYS194; ARG256; CYS97; TYR105; MET152; HIS187; VAL190; VAL102
tiliroside	-75.7118	ARG19; TYR21; SER101; LYS179; GLN263; CYS97; VAL102; ARG93; LYS280; TYR105; CYS175; PHE277; VAL190; MET152; TYR259; PHE106; LEU155; CYS194; LYS174; LEU284



Gambar 2. RMSD ligand native dan hasil redocking
*Biru ligand native; kuning ligand redocking

Kemampuan antipembekuan darah diperkuat dengan penelitian Daun W. Indica

mengandung zat kimia steroid dan triterpenoid yang dapat memblokir fungsi COX-2(Termer et al., 2021). TNF α , NO, dan IL-12 yang dihasilkan oleh sel makrofag dapat dihambat oleh zat kimia flavonoid, khususnya epikatekin, quercetin, dan tiliroside(Rao et al., 2005). Ekstrak air dari batang W. Indica memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH IC50 sebesar 1830 $\mu\text{g/mL}$, penghambatan lipid peroksidase (%) sebesar 74,31, dan penghambatan lipoksigenase (%) sebesar 94,63(Yougbaré-Ziérou et al., 2016). Dengan menggunakan metode DPPH IC50, kapasitas antioksidan ekstrak tanaman tersebut adalah 1020 $\mu\text{g/mL}$; superanoin oksida memiliki IC50 sebesar 410 $\mu\text{g/mL}$; dan kelator besi memiliki IC50 sebesar 420 $\mu\text{g/mL}$ (P & Alagumanivasagam, 2016). Pada dosis 250 dan 500 mg/kg BB, ekstrak etanol dapat menurunkan kadar glukosa darah(Bakoma, 2015).



Gambar 3. Koordinat docking dan interaksi 2D antara ligand dan protein; (A) 3-dihydro-2H-1-benzofuran-5-carboxylic acid; (B) Epicatechin; C. Quercetin; D. tiliroside

Kemampuan antipembekuan darah diperkuat dengan penelitian Daun W. Indica mengandung zat kimia steroid dan triterpenoid yang dapat memblokir fungsi COX-2(Termer et al., 2021). TNF α , NO, dan IL-12 yang dihasilkan oleh sel makrofag dapat dihambat oleh zat kimia flavonoid, khususnya epikatekin, quercetin, dan

tiliroside(Rao et al., 2005). Ekstrak air dari batang *W. Indica* memiliki aktivitas antioksidan dengan metode DPPH IC₅₀ sebesar 1830 µg/mL, penghambatan lipid peroksidase (%) sebesar 74,31, dan penghambatan lipoksigenase (%) sebesar 94,63(Yougbaré-Ziébrou et al., 2016). Dengan menggunakan metode DPPH IC₅₀, kapasitas antioksidan ekstrak tanaman tersebut adalah 1020 µg/ml; superanoin oksida memiliki IC₅₀ sebesar 410 µg/ml; dan kelator besi memiliki IC₅₀ sebesar 420 µg/ml(P & Alagumanivasagam, 2016). Pada dosis 250 dan 500 mg/kg BB, ekstrak etanol dapat menurunkan kadar glukosa darah(Bakoma, 2015).

Korelasi antara hasil *in vitro*, *in vivo*, dan *in silico* dalam penelitian ini menunjukkan konsistensi dan saling mendukung dalam mengungkap potensi antipembekuan darah dari ekstrak daun *W. indica* (kaki unta). Hasil *in vitro* menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dan n-butanol mampu menunda pembekuan darah hingga menit ke-60, sebanding dengan kontrol positif (EDTA), yang menunjukkan kemampuan antikoagulan. Pengujian *in vivo* memperkuat temuan ini, di mana terjadi peningkatan waktu perdarahan secara signifikan terutama pada dosis 300 mg/kg BB yang menunjukkan efektivitas ekstrak dalam memperlambat koagulasi darah. Selanjutnya, pendekatan *in silico* melalui molecular docking menunjukkan bahwa senyawa aktif seperti kuersetin dan epicatechin memiliki afinitas ikatan kuat terhadap protein target agregasi platelet (kode PDB: 4PXZ), dengan skor docking yang mendekati ligand native. Kesamaan residu asam amino dalam interaksi menguatkan prediksi aktivitas biologis senyawa *W. indica*. Dengan demikian, hasil dari ketiga pendekatan ini saling melengkapi dan memberikan dasar ilmiah bahwa *W. indica* berpotensi sebagai agen antipembekuan darah.

Kesimpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian *in vitro* dan *in vivo* serta diperkuat dengan uji *in silico* *waltheria indica* berpotensi dalam antipembekuan darah, dan berdasarkan molekular docking kuersetin berpotensi sebagai penghambat agregasi platelet, namun penelitian memiliki keterbatasan sehingga diperlukan penelitian mengenai aktivitas antikoagulan dan antiplatelet.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terimakasih terhadap DRTPM dengan nomor kontrak 066/E5/PG.02.00/PL.BACTH.2/2024 dan 152/LL11/KM/2024,069/UNUKASE/LPPM/Pn/VIII/2024.

Daftar pustaka

- Astuti, A., & Mooy, T. (2024). Uji Antikoagulan Alami Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanni*) Menggunakan Metode Lee-White dan Analisis Apusan Darah. *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Gizi*, 2, 141–150. <https://doi.org/10.55606/jig.v2i4.3213>
- Avoseh, O. N., Ogunwande, I. A., Lawal, O. A., Atabo, J., Ascrizzi, R., & Guido, F. (2019). Anti-inflammatory and anti-nociceptive activities of essential oil of *Waltheria indica*. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 18(6).
- Bakoma, B. (2015). Phytochemical screening, antioxidant and hypoglycemic activity of *Coccoloba Uvifera* leaves and *Waltheria Indica* roots extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7.
- Biovia, D. S. (2019). *Discovery Studio Visualizer*. https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download#_ga=2.4935860.685747970.1587999055-a5d1c1c0-3176-11e9-a86f-e302515d21c8
- ChemAxon. (2016). ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry and Biology. In *MarvinSketch, Version 16.10.31*. <https://chemaxon.com/>
- Fadilla, U., Aldi, Y., Afriwardi, A., & Umar, S. (2024). Uji Aktivitas In Vivo Dan In Vitro Anti Platelet Bromelin Terhadap Penyakit Kardiovaskular. *Jurnal Farmasi Higea*, 16, 188. <https://doi.org/10.52689/higea.v16i2.603>
- Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Gloriovova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., & Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444–457. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>
- Gorgulla, C., Çınaroğlu, S. S., Fischer, P. D., Fackeldey, K., Wagner, G., & Arthanari, H. (2021). VirtualFlow Ants-Ultra-Large Virtual Screenings with Artificial Intelligence Driven Docking Algorithm Based on Ant

- Colony Optimization. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11). <https://doi.org/10.3390/ijms22115807>
- Liu, F., O'Donnell, T. J., Park, E.-J., Kovacs, S., Nakamura, K., Dave, A., Luo, Y., Sun, R., Wall, M., Wongwiwatthanakut, S., Silva, D. K., Williams, P. G., Pezzuto, J. M., & Chang, L. C. (2023). Anti-inflammatory Quinoline Alkaloids from the Roots of *Waltheria indica*. *Journal of Natural Products*, 86(2), 276–289. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.2c00861>
- Nanda, C. B., & Yenita, Y. (2025). Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) Efektif Terhadap Waktu Pembekuan Darah pada Mencit Jantan (*Mus musculus* L.) yang Diberi Aspirin. *Jurnal Pandu Husada*, 6(1), 7–14.
- Nirmala, C., & Sridevi, M. (2021). Ethnobotanical, phytochemistry, and pharmacological property of *Waltheria Indica* Linn. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 7(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00174-3>
- P, V., & Alagumanivasagam, G. (2016). *In-vitro antioxidant activities of ethanolic extract of whole plant of Waltheria indica* (Linn.). 8, 299–302.
- Putri, R. R. R. F., Ulfa, E. U., & Riyanti, R. (2014). Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. capitata L.). *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 2(1), 111–114.
- Rao, Y. K., Fang, S.-H., & Tzeng, Y.-M. (2005). Inhibitory effects of the flavonoids isolated from *Waltheria indica* on the production of NO, TNF-alpha and IL-12 in activated macrophages. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 28(5), 912–915. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.912>
- Rohama, R., Melviani, M., & Rahmadani, R. (2023). Aktivitas Antibakteri dan Penetapan Kadar Flavonoid Fraksi Daun Kalangkala (*Litsea angulata*) Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis: Antibacterial Activity and Determination of Flavonoid Levels of Kalangkala Leaf Fraction (*Litsea angulata*) and Thin Layer C. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 9(1 SE-Articles), 267–276. <https://doi.org/10.33084/jsm.v9i1.5194>
- Shivanika, C., Kumar, D., Ragunathan, V., Tiwari, P., Sumitha, & Brindha, D. (2022). Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(2), 585–611. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1815584>
- Termer, M., Carola, C., Salazar, A., Keck, C. M., Hemberger, J., & von Hagen, J. (2021). Identification of plant metabolite classes from *Waltheria Indica* L. extracts regulating inflammatory immune responses via COX-2 inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*, 270, 113741. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113741>
- Wicaksana, A., Jumayanti, & Sunaryo, E. Y. A. (2020). Kualitas Hidup Pasien dengan Penyakit Kardiovaskular di Yogyakarta. *Jurnal Kesehatan*, 13, 1–12. <https://doi.org/10.23917/jk.v13i1.11096>
- Yabré, Z., Boly, R., Ouédraogo, R., Couliadiaty, A. G. V., Somda, G. D., Semdé, R., Ouédraogo, N., & Youl, E. N. H. (2024). A review of the safety profile, antioxidant, anti-inflammatory, and bronchorelaxant activities of *Waltheria indica* Linn (Malvaceae): A potential antiasthmatic phytomedicine. *Heliyon*, 10(12), e32402. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32402>
- Youghbaré-Ziébro, M. N., Marius, L., Noufou, O., YARO, B., & GUISSOUN, I. (2016). Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the leafy stems of *Waltheria indica* L. (Sterculiaceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6, 124–129. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60219>
- Zaragoza, C., Álvarez-Mon, M. Á., Zaragoza, F., & Villaescusa, L. (2022). Flavonoids: Antiplatelet Effect as Inhibitors of COX-I. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(3). <https://doi.org/10.3390/molecules27031146>
- Zongo, F., Ribuo, C., Boumendjel, A., & Guissou, I. (2013). Botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Waltheria indica* L. (syn. *Waltheria americana*): a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(1), 14–26. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.080>