

Effectiveness Test of *Pluchea indica* L. Leaf Filtrate as a Natural Anticoagulant In Vitro

Uji Efektivitas Filtrat Daun Beluntas *Pluchea indica* L. Sebagai Antikoagulan Alami Secara *In Vitro*

***Hanifah Najla Ginis Saputri¹, Nurul Amalia², Muhammad Arsyad³**

^{1,2,3}Prodi D III Analis Kesehatan, Universitas Borneo Lestari, Kalimantan Selatan, Indonesia

(*) Corresponding Author: imun.amelia25@gmail.com, arsyad@unbl.ac.id

Article info

Keywords:

Pluchea indica L.;
anticoagulant;
erythrocyte
morphology; EDTA

Abstract

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is a standard anticoagulant used in hematological examinations to prevent blood coagulation and preserve cell morphology. Beluntas leaves (*Pluchea indica* L.) contain secondary metabolites such as flavonoids, tannins, alkaloids, and saponins that may affect the coagulation process. This study aimed to determine the effectiveness of beluntas leaf filtrate (*Pluchea indica* L.) as a natural anticoagulant compared with EDTA based on blood clotting time and erythrocyte morphology. This study used a pre-experimental design with a post-test only controlled group design. The filtrate was prepared from fresh and healthy beluntas leaves that were washed, dried, cut into small pieces, ground using a mortar and pestle, then squeezed through a filter cloth and filtered again using filter paper. Venous blood samples were divided into four groups: 500 µL, 600 µL, and 700 µL of beluntas leaf filtrate, and EDTA as the positive control, with six repetitions in each group, resulting in 24 samples. Blood clotting time was observed, while erythrocyte morphology was examined using peripheral blood smears stained with Wright stain at 100× magnification. Data were analyzed using the Kruskal-Wallis test and Fisher's Exact Test. The results showed clot formation on the tube wall at 125, 130, and 140 minutes for 500, 600, and 700 µL of filtrate, respectively, while EDTA showed no clot formation for up to 1440 minutes. Crenation was observed in 83.3% of the 500 µL group and 100% of the 600 and 700 µL groups, whereas all EDTA samples showed normal morphology. Statistical tests showed significant differences in clotting time and erythrocyte morphology ($p < 0.001$). Beluntas leaf filtrate delayed coagulation but was not yet effective as a substitute for EDTA.

Kata kunci:

Pluchea indica L.;
Antikoagulan;
morfologi
eritrosit;
EDTA

Abstrak

Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) merupakan antikoagulan standar dalam pemeriksaan hematologi untuk mencegah pembekuan darah dan mempertahankan morfologi sel. Daun beluntas (*Pluchea indica* L.) mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin yang berpotensi memengaruhi proses koagulasi. Penelitian ini bertujuan mengetahui efektivitas filtrat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antikoagulan alami dibandingkan EDTA berdasarkan waktu pembekuan darah dan morfologi eritrosit. Penelitian menggunakan desain pre-eksperimental dengan rancangan post-test *only* controlled group design. Filtrat disiapkan dari daun beluntas segar dan sehat yang dicuci, dikeringkan, dipotong, dihaluskan menggunakan mortar dan stamper, kemudian diperas dengan kain saring dan disaring kembali menggunakan kertas saring. Sampel darah vena dibagi menjadi empat kelompok, yaitu

filtrat 500 μ L, 600 μ L, 700 μ L, dan EDTA sebagai kontrol positif, masing-masing enam kali pengulangan sehingga diperoleh 24 sampel. Waktu pembekuan diamati, sedangkan morfologi eritrosit diperiksa melalui sediaan apus darah tepi dengan pewarnaan Wright pada perbesaran 100 $\times$. Data dianalisis menggunakan uji Kruskal-Wallis dan Fisher's Exact Test. Hasil menunjukkan waktu penggumpalan pada dinding tabung terjadi pada menit ke-125, 130, dan 140 pada filtrat 500, 600, dan 700 μ L, sedangkan EDTA tidak menggumpal hingga 1440 menit. Krenasi ditemukan pada 83,3% kelompok 500 μ L dan 100% kelompok 600 serta 700 μ L, sedangkan EDTA seluruhnya normal. Uji statistik menunjukkan perbedaan bermakna pada waktu pembekuan dan morfologi eritrosit ($p < 0,001$). Filtrat daun beluntas mampu memperlambat pembekuan, tetapi belum efektif menggantikan EDTA.

PENDAHULUAN

Pemeriksaan hematologi merupakan salah satu pemeriksaan laboratorium yang berperan penting dalam menegakkan diagnosis, memantau kondisi pasien, serta mengevaluasi keberhasilan terapi. Agar hasil pemeriksaan akurat, sampel darah harus tetap berada dalam keadaan cair sehingga memerlukan penggunaan antikoagulan. EDTA merupakan antikoagulan yang paling banyak digunakan dalam pemeriksaan hematologi karena mampu mengikat ion kalsium (Ca^{2+}) yang berperan dalam proses koagulasi, sehingga pembentukan fibrin dapat dicegah dan morfologi sel darah tetap terjaga. Meskipun demikian, penggunaan EDTA masih bergantung pada bahan sintesis sehingga mendorong pengembangan antikoagulan alami yang lebih mudah diperoleh dan berpotensi memiliki aktivitas biologis serupa (Na & Dan, 2023; Lorde *et al.*, 2024).

Indonesia memiliki berbagai tanaman obat yang berpotensi dimanfaatkan sebagai antikoagulan alami, salah satunya adalah daun beluntas (*Pluchea indica* L.). Daun beluntas diketahui mengandung berbagai metabolit sekunder, seperti flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin yang berpotensi memberikan berbagai aktivitas biologis (Java *et al.*, 2022; Putra *et al.*, 2025). Flavonoid dilaporkan mampu menghambat aktivasi trombosit dan meningkatkan proses fibrinolisis sehingga berkontribusi terhadap aktivitas antikoagulan (Balykina *et al.*, 2024). Selain itu, alkaloid diketahui dapat menghambat pembentukan trombin dan faktor Xa dalam jalur koagulasi (Rohmah & Fickri, 2020). Saponin juga dilaporkan memiliki aktivitas antikoagulan melalui penghambatan agregasi trombosit dan faktor pembekuan darah (Mieres-castro & Mora-poblete, 2023), sedangkan tanin berperan dalam menghambat aktivasi trombosit dan aktivitas trombin sehingga dapat memperlambat pembentukan bekuan darah (Marci *et al.*, 2022).

Pembentukan bekuan darah merupakan bagian dari mekanisme hemostasis yang melibatkan trombosit serta berbagai faktor koagulasi yang terdapat di dalam plasma. Aktivasi jalur koagulasi intrinsik maupun ekstrinsik akan menghasilkan trombin, yang selanjutnya mengubah fibrinogen menjadi fibrin sehingga terbentuk bekuan darah yang stabil. Dalam pemeriksaan laboratorium hematologi, penggunaan antikoagulan diperlukan untuk menghambat proses pembekuan tersebut agar sampel darah tetap dalam keadaan cair dan dapat digunakan untuk mengevaluasi komponen seluler secara akurat. Oleh karena itu, bahan alami yang memiliki aktivitas antikoagulan berpotensi dikembangkan sebagai alternatif antikoagulan guna mendukung pemeriksaan hematologi. Upaya mencari alternatif pengganti EDTA penting dilakukan untuk mengeksplorasi sumber antikoagulan alami yang mudah diperoleh dan berpotensi mempertahankan kualitas sampel darah selama pemeriksaan. Penelitian terhadap bahan alami juga diperlukan untuk mengetahui kemampuan dan keterbatasannya dalam mencegah pembekuan serta mempertahankan morfologi sel darah, sehingga dapat menjadi dasar pengembangan antikoagulan alternatif yang sesuai untuk pemeriksaan hematologi (Favaloro *et al.*, 2020).

Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan kandungan fitokimia dan aktivitas antikoagulan senyawa bioaktif daun beluntas, penelitian mengenai efektivitas filtrat daun

beluntas sebagai antikoagulan alami berdasarkan morfologi eritrosit masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi efektivitas variasi volume filtrat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antikoagulan alami dengan membandingkan morfologi eritrosit terhadap antikoagulan standar EDTA.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian pre-eksperimental dengan rancangan *post-test only controlled group design* yang bertujuan mengetahui efektivitas filtrat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) sebagai antikoagulan alami berdasarkan waktu penggumpalan dan morfologi eritrosit dengan EDTA sebagai kontrol positif. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Universitas Borneo Lestari Banjarbaru pada Maret–April 2026.

Populasi penelitian adalah darah vena individu sehat dengan 24 sampel yang diperoleh secara *random sampling* dan dibagi menjadi empat kelompok, yaitu filtrat daun beluntas 500, 600, 700 μ L, dan EDTA, masing-masing enam kali pengulangan. Jumlah pengulangan ditentukan menggunakan rumus Federer. Darah sebanyak 1 mL digunakan untuk setiap perlakuan.

Filtrat dibuat dari daun beluntas segar yang dicuci, dipotong, dihaluskan, diperas, dan disaring hingga diperoleh filtrat berwarna hijau tua, kemudian disimpan dalam botol reagen gelap. Darah dan filtrat dihomogenkan menggunakan rotator. Waktu penggumpalan diamati setiap 30 detik dengan memiringkan tabung dan dicatat berdasarkan terbentuknya gumpalan pada dinding tabung. Pada menit ke-120 dibuat apusan darah tepi, diwarnai dengan Wright, kemudian diamati secara mikroskopis pada perbesaran 100 $\times$ menggunakan oil imersi. Morfologi eritrosit dinilai berdasarkan kategori normal dan abnormal, terutama krenasi dan hemolisis.

Data waktu penggumpalan dianalisis secara deskriptif dan menggunakan uji Kruskal-Wallis, sedangkan morfologi eritrosit dianalisis secara deskriptif dan menggunakan *Chi-square*. Karena *expected count* kurang dari 5, digunakan *Fisher's Exact Test*. Analisis dilakukan menggunakan IBM SPSS Statistics versi 22 dengan tingkat signifikansi 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Tabel 1. Analisis Waktu Terjadinya Penggumpalan pada Dinding Tabung

Kelompok	N	Mean (menit)	Median	Std. Deviasi	Minimum	Maximum
Filtrat 500 μ L	6	125,00	125,00	0,000	125	125
Filtrat 600 μ L	6	130,00	130,00	0,000	130	130
Filtrat 700 μ L	6	140,00	140,00	0,000	140	140
Kontrol positif (EDTA)	6	1440,00	1440,00	0,000	1440	1440

Sumber: Data primer diolah, 2026

Berdasarkan analisis deskriptif, kelompok filtrat 500 μ L memiliki rata-rata waktu terjadinya penggumpalan pada dinding tabung sebesar 125 menit, filtrat 600 μ L sebesar 130 menit, dan filtrat 700 μ L sebesar 140 menit. Kontrol positif EDTA tidak menunjukkan penggumpalan selama waktu pengamatan 1440 menit atau 24 jam. Nilai minimum dan maksimum pada setiap kelompok sama dengan nilai rata-ratanya dan standar deviasi seluruh kelompok adalah 0,000 menit.

Tabel 2. Hasil Uji *Kruskal-Wallis* Waktu Terjadinya Penggumpalan

Statistik	Nilai	p-value
<i>Kruskal-Wallis H</i>	23,000	<0,001
<i>df</i>	3	-
<i>N Valid Cases</i>	24	-

Sumber: Data primer diolah, 2026

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai H sebesar 23,000 dengan $df = 3$ dan $p < 0,001$. Karena $p < 0,05$, terdapat perbedaan waktu terjadinya penggumpalan pada dinding tabung yang signifikan antara kelompok filtrat 500 μL , 600 μL , 700 μL , dan kontrol positif EDTA.

Tabel 3. Distribusi Morfologi Eritrosit Berdasarkan Kelompok Perlakuan

Kelompok	Normal n (%)	Abnormal/Krenasi n (%)	Total	Abnormal (%)	Keterangan
Filtrat 500 μL	1 (16,7%)	5 (83,3%)	6	83,3%	Dominan krenasi
Filtrat 600 μL	0 (0%)	6 (100%)	6	100%	Seluruhnya krenasi
Filtrat 700 μL	0 (0%)	6 (100%)	6	100%	Seluruhnya krenasi
Kontrol positif (EDTA)	6 (100%)	0 (0%)	6	0%	Normal
Total	7 (29,2%)	17 (70,8%)	24	70,8%	

Sumber: Data primer diolah, 2026

Dari 24 sampel, terdapat 17 (70,8%) sampel dengan morfologi eritrosit abnormal dan 7 (29,2%) dengan morfologi normal. Pada filtrat 500 μL , 5 (83,3%) sampel menunjukkan krenasi dan 1 (16,7%) masih menunjukkan morfologi normal. Pada filtrat 600 μL dan 700 μL , seluruh sampel (100%) mengalami krenasi. Sebaliknya, seluruh sampel pada kelompok EDTA (100%) menunjukkan morfologi eritrosit normal.

Tabel 4. Hasil *Fisher's Exact Test*

Uji Statistik	Nilai Statistik	p-value
<i>Pearson Chi-Square</i>	19,966	<0,001
<i>Likelihood Ratio</i>	23,568	<0,001
<i>Fisher's Exact Test</i>	17,154	<0,001

Sumber: Data primer diolah, 2026

Seluruh sel memiliki *expected count* kurang dari 5 dengan nilai minimum *expected count* sebesar 1,75 sehingga asumsi uji *Chi-square* tidak terpenuhi. Oleh karena itu, digunakan *Fisher's Exact Test*. Hasil *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai statistik 17,154 dengan $p < 0,001$. Karena $p < 0,05$, terdapat perbedaan morfologi eritrosit yang signifikan antara kelompok filtrat daun beluntas dan kontrol positif EDTA.

Pembahasan

Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan volume filtrat daun beluntas dari 500, 600, hingga 700 μL meningkatkan waktu terjadinya penggumpalan pada dinding tabung, masing-masing 125, 130, dan 140 menit. Hal ini menunjukkan bahwa filtrat daun beluntas berpotensi memperlambat pembentukan bekuan, meskipun kemampuannya masih jauh di bawah EDTA yang tidak mengalami penggumpalan selama 1440 menit. Efek tersebut diduga berkaitan dengan kandungan flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang dapat memengaruhi proses hemostasis melalui penghambatan agregasi trombosit, trombin, faktor Xa, dan pembentukan fibrin (Balykina *et al.*, 2024; Rohmah & Fickri, 2020; Mieres-Castro & Mora-Poblete, 2023; Marci *et al.*, 2022).

Pada pemeriksaan morfologi, sebagian besar eritrosit kelompok filtrat mengalami krenasi, sedangkan seluruh eritrosit pada kelompok EDTA tetap normal. Perubahan tersebut diduga berkaitan dengan karakteristik kandungan filtrat, terutama saponin yang dapat berinteraksi dengan membran eritrosit dan meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan perubahan bentuk sel (Paarvanova *et al.*, 2023). Selain itu, kondisi osmotik filtrat juga diduga berperan dalam terjadinya krenasi akibat perpindahan air keluar dari eritrosit sehingga sel mengalami pengerutan. Faktor-faktor tersebut tidak seluruhnya dapat dikendalikan sejak awal karena kandungan saponin dan karakteristik osmotik merupakan sifat alami filtrat yang menjadi bagian dari bahan perlakuan.

Sementara itu, faktor teknis pemeriksaan telah dikendalikan melalui prosedur yang seragam, yaitu homogenisasi menggunakan rotator dan pembuatan apusan darah pada menit ke-120 setelah pencampuran. Faktor teknis seperti fiksasi, pewarnaan, dan kondisi sediaan tetap dapat memengaruhi morfologi eritrosit, tetapi dilakukan dengan prosedur yang sama pada setiap kelompok untuk meminimalkan pengaruhnya (Warsita *et al.*, 2019). Perubahan morfologi eritrosit perlu diperhatikan karena dapat memengaruhi interpretasi hasil pemeriksaan hematologi otomatis (Gulati *et al.*, 2022).

Hasil pada Tabel 2 uji *Fisher's Exact Test* menunjukkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan signifikan morfologi eritrosit antara variasi volume filtrat daun beluntas dan kontrol positif EDTA. Hasil ini menunjukkan bahwa filtrat daun beluntas pada volume 500–700 μL belum mampu mempertahankan morfologi eritrosit sebaik EDTA. Temuan tersebut sejalan dengan penelitian Paarvanova *et al.* (2023) yang melaporkan bahwa paparan saponin dapat menyebabkan perubahan morfologi eritrosit akibat interaksi dengan membran sel. Hal ini juga didukung oleh penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa daun beluntas mengandung metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin yang dapat memengaruhi aktivitas biologisnya. Meskipun demikian, penelitian yang secara khusus menguji filtrat daun beluntas sebagai antikoagulan terhadap morfologi eritrosit dengan EDTA sebagai pembanding masih terbatas. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat menjadi data awal mengenai pengaruh filtrat daun beluntas terhadap morfologi eritrosit dan menunjukkan bahwa penggunaannya sebagai antikoagulan alternatif masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan konsentrasi yang optimal serta meminimalkan perubahan morfologi eritrosit.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Pemberian filtrat daun beluntas (*Pluchea indica* L.) volume 500–700 μL dapat memperlambat waktu terjadinya penggumpalan pada dinding tabung, yaitu 125 menit pada 500 μL , 130 menit pada 600 μL , dan 140 menit pada 700 μL , sedangkan EDTA tidak menunjukkan penggumpalan hingga 1440 menit. Morfologi eritrosit pada kelompok filtrat menunjukkan perubahan berupa krenasi, yaitu 83,3% pada 500 μL dan 100% pada 600 μL serta 700 μL , sedangkan seluruh sampel kelompok EDTA menunjukkan morfologi normal. Uji *Kruskal-Wallis* dan *Fisher's Exact Test* menunjukkan perbedaan yang bermakna antar kelompok ($p < 0,001$). Dengan demikian, filtrat daun beluntas pada volume yang diuji belum efektif digunakan sebagai pengganti EDTA karena belum mampu mempertahankan morfologi eritrosit normal.

Untuk penelitian selanjutnya, disarankan melakukan optimasi konsentrasi terlebih dahulu sebelum penelitian utama dengan menggunakan 1–2 sampel pada setiap kelompok untuk menentukan rentang konsentrasi yang paling sesuai. Selanjutnya, penelitian dapat dilakukan menggunakan variasi volume atau konsentrasi filtrat yang lebih rendah, menerapkan proses pembuatan filtrat yang lebih terstandar, mengidentifikasi kandungan senyawa aktif, serta menambahkan pemeriksaan parameter hematologi lainnya agar potensi daun beluntas sebagai antikoagulan alami dapat dievaluasi secara lebih menyeluruh.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Borneo Lestari yang telah memberikan izin dan fasilitas laboratorium selama pelaksanaan penelitian dan kepada pihak-pihak yang telah membantu.

DAFTAR PUSTAKA

Balykina, A., Naida, L., Kirkgöz, K., Nikolaev, V. O., Fock, E., Belyakov, M., Whaley, A., Whaley, A., Shpakova, V., Rukoyatkina, N., & Gambaryan, S. (2024). *Antiplatelet Effects of Flavonoid Aglycones Are Mediated by Activation of Cyclic*

Nucleotide-Dependent Protein Kinases.

- Favaloro, E. J., Lippi, G., & Favaloro, E. J. (2020). Expert Review of Molecular Diagnostics Understanding the extent of the diagnostic potential of coagulation factors Understanding the extent of the diagnostic potential of coagulation factors. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 20(3), 273–276. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1711735>
- Gulati, G., Ph, D., Uppal, G., & Gong, J. (2022). *Unreliable Automated Complete Blood Count Results : Causes , Recognition , and Resolution*. 515–530.
- Java, S., Susylowati, D., Takarina, N. D., Pratama, I., & Rijal, M. A. (2022). *Karakteristik Biologi dan Kandungan Antioksidan Daun Beluntas yang Hidup di Lahan Wanamina Blanakan , Subang-Jawa Barat*. 19(1), 97–107.
- Lorde, N., Mahapatra, S., Kalaria, T., & Gama, R. (2024). *Potassium ethylenediaminetetraacetic acid (kEDTA) sample cross-contamination : prevalence , consequences , identification , mechanisms , prevention and mitigation. I*, 1–11. <https://doi.org/10.21037/jlpm-24-42>
- Marci, N., Gromotowicz-pop, A., & Tomczyk, M. (2022). *Tannins as Hemostasis Modulators*. 12(January), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.806891>
- Mieres-castro, D., & Mora-poblete, F. (2023). *Saponins : Research Progress and Their Potential Role in the Post-COVID-19 Pandemic Era*.
- Na, A., & Dan, E. (2023). *Gambaran Jumlah Trombosit Pada Penggunaan Antikoagulan Na2EDTA dan K2EDTA*. 4(September), 3101–3108.
- Paarvanova, B., Tacheva, B., Savova, G., & Karabaliev, M. (2023). *Hemolysis by Saponin Is Accelerated at Hypertonic Conditions*. 1–14.
- Putra, P. W. K., Made Jawi, I., Subawa, A. A. N., Astawa, N. M., Indrayani, A. W., Gede Widhiantara, I., Wiradana, P. A., & Herdiansyah, M. A. (2025). Phytochemicals of Beluntas (*Pluchea indica*(L) Less.) and their health benefits. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 15(7), 37–47. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2025.237559>
- Rohmah, M. K., & Fickri, D. Z. (2020). Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolitik Alkaloid Total Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) secara in Vitro. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(2), 115. <https://doi.org/10.25077/jsfk.7.2.115-125.2020>
- Warsita, N., Fikri, Z., & Ariami, P. (2019). *Pengaruh Lama Penundaan Pengecatan Setelah Fiksasi Apusan Darah Tepi Terhadap Morfologi Eritrosit*. 6(2), 2–6.