

UJI AKTIVITAS ANTIKOAGULAN EKSTRAK MANGROVE *Aegiceras corniculatum*

(Test of Anticoagulant Activity to Mangrove Aegiceras corniculatum Extract)

Robert A. B. Tangkery¹, Darius Sa'adah Paransa² dan Antonius Rumengan²

¹Mahasiswa Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

²Staf Pengajar Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

Mangrove has already been known by coastal people as a source of food, building and traditional medicines. In this study, we used stems of mangroves *Aegiceras corniculatum* taken in the coastal village of Beach District Mokupa Tombariri to be observed in laboratory whether *A. corniculatum* have anti coagulation activity. Maceration extraction method is used to obtain a crude extract of mangrove *A. corniculatum* specially on the trunk. Tests performed on human blood are tested on five volunteers. The test is performed on each of the five tests where carried out each person. The first test is a blood not given any treatment, second test is the blood were added to the extracts *A. corniculatum*, the third test of blood were added to EDTA, the fourth test is added EDTA blood and extract *A. corniculatum*, and the fifth is a blood test with ethanol added. This study aimed to prove scientifically in the laboratory, whether the use of mangroves *A. corniculatum* has anti coagulant activity in human blood, and also to compare the activity of blood coagulation mangrove extract *A. corniculatum* with controls. From the results of laboratory tests, extracts *Aegiceras corniculatum* has no coagulation activity, but have anticoagulant or anti-clotting properties of blood.

Keywords: *extract, mangrove, Aegiceras corniculatum, anticoagulant*

Mangrove telah lama dikenal oleh penduduk yang berada di daerah pesisir sebagai sumber bahan pangan, bangunan dan obat-obatan tradisional. Pada penelitian ini digunakan batang dari tumbuhan bakau *Aegiceras corniculatum* yang diambil di pesisir pantai Desa Mokupa Kecamatan Tombariri untuk diamati secara laboratorik apakah *Aegiceras corniculatum* memiliki aktivitas antikoagulasi. Untuk memperoleh ekstrak kasar dari tumbuhan bakau *Aegiceras corniculatum* khususnya pada batang, digunakan metode ekstraksi secara maserasi. Pengujian dilakukan pada darah manusia yang diujikan pada 5 orang sukarelawan. Pengujian ini dilakukan pada masing-masing orang dimana dilakukan 5 pengujian setiap orangnya. Pengujian pertama yaitu pengujian darah yang tidak diberi perlakuan apa-apa, pengujian kedua yaitu darah yang ditambahkan dengan ekstrak *Aegiceras corniculatum*, pengujian ketiga yaitu darah yang ditambahkan dengan EDTA, pengujian keempat yaitu darah yang ditambahkan EDTA dan ekstrak *Aegiceras corniculatum*, dan pengujian kelima yaitu darah yang ditambahkan dengan etanol. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan secara ilmiah di laboratorium, apakah pemanfaatan dari tumbuhan bakau *Aegiceras corniculatum* memiliki aktivitas antikoagulan pada darah manusia dan juga untuk membandingkan aktivitas koagulasi darah dari ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum* dengan kontrol. Dari hasil pengujian di laboratorium, ekstrak *Aegiceras corniculatum* tidak memiliki aktivitas koagulasi, melainkan memiliki sifat antikoagulan atau anti pembekuan darah.

Kata Kunci: *ekstrak, mangrove, Aegiceras corniculatum, antikoagulan*

PENDAHULUAN

Hutan mangrove merupakan salah satu ekosistem alamiah yang unik dan memiliki nilai ekologis dan ekonomis yang tinggi. Fungsi ekologis yang penting antara lain sebagai penyedia nutrisi, sebagai tempat pemijahan (*spawning grounds*), tempat pengasuhan (*nursery grounds*) dan tempat mencari makan (*feeding grounds*) biota laut tertentu (Nybakken 1992). Menurut Supriharyono (2000), hutan mangrove di Indonesia telah lama dikenal oleh penduduk sebagai sumber bahan pangan, bahan bangunan, kayu bakar, zat pewarna dan obat-obatan tradisional.

Aegiceras corniculatum (Gambar 1) merupakan semak atau pohon kecil yang selalu hijau dan tumbuh lurus dengan ketinggian pohon mencapai 6 m dan akar menjalar di permukaan tanah. Kulit kayu bagian luar abu-abu hingga coklat kemerahan, bercelah, serta memiliki sejumlah lentisel. Pada daun tumbuhan mangrove *Aegiceras corniculatum* berkulit terang, berwarna hijau mengkilat pada bagian atas dan hijau pucat di bagian bawah, seringkali bercampur warna agak kemerahan.



Gambar 1: *Aegiceras corniculatum*
(Sumber: milik pribadi)

Antikoagulan adalah zat yang digunakan untuk mencegah terjadinya pembekuan darah yang umumnya dipakai di klinik maupun di laboratorium (Gandasoebrata 1992). Antikoagulan digunakan untuk mencegah pembekuan darah dengan jalan menghambat fungsi beberapa faktor pembekuan darah (Rosmiati dan Gan

1995). Antikoagulan diperlukan untuk mencegah terbentuk dan meluasnya trombus dan emboli serta untuk mencegah bekunya darah in vitro pada pemeriksaan laboratorium atau transfusi.

METODE PENELITIAN

a. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel pada penelitian ini diambil di daerah pesisir pantai Desa Mokupa Kecamatan Tombariri. Sampel tumbuhan mangrove *Aegiceras corniculatum* yang terdapat di daerah pesisir pantai Desa Mokupa Kecamatan Tombariri diambil pada bagian batang kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Sampel kemudian dicuci dengan air untuk mengeluarkan pasir dan kotoran yang melekat. Sampel yang telah dibersihkan selanjutnya dikeringkan selama 3 hari kemudian dihaluskan.

b. Ekstraksi

Ekstraksi sampel dilakukan dengan menggunakan metode pengekstraksian terhadap bahan alam, yaitu ekstraksi secara maserasi (Posangi 2003). Sampel yang sudah halus ditimbang sebanyak 100 gram dan kemudian direndam dengan etanol sebanyak 500 ml. Sampel yang sudah direndam dengan etanol disimpan selama 3 hari dan sesekali diaduk. Selama 3 hari perendaman, sampel yang diperoleh berupa homogenat dan debris yang dihasilkan direndam lagi selama 3 hari dengan etanol sedangkan filtratnya disimpan. Perendaman yang kedua ini perlakuannya sama dengan yang pertama. Hasil dari perendaman pertama dan kedua kemudian disatukan dan disaring dengan menggunakan kertas saring. Supernatan yang dihasilkan dievaporasi menggunakan Rotary Vacuum Evaporator untuk menguapkan etanol.

c. **Penyiapan Sampel Uji Darah**

Sampel darah dalam penelitian ini adalah darah lengkap yang diambil dari vena kubiti dengan menggunakan alat suntik disposable 5 ml/cc dan jarum 22 G steril. Jumlah sampel darah yang diambil pada setiap sukarelawan yaitu sebanyak 5 cc. Sampel darah diperoleh dari 5 orang laki-laki sukarelawan berumur 21-27 tahun, dengan keadaan fisik yang sehat dan tidak memiliki riwayat penyakit pendarahan yang berkepanjangan. Diasumsikan pada relawan tidak ada kelainan hemostasis.

d. **Penyiapan Sampel Untuk Pengujian**

Ekstrak kasar tumbuhan bakau *Aegiceras corniculatum* yang diperoleh sebelum diujikan pada sampel darah, terlebih dahulu dilakukan titrasi. Kegiatan ini merupakan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui kisaran konsentrasi minimum ekstrak yang akan digunakan ke dalam 1 ml darah. Titrasi dilakukan dengan cara menaikkan volume ekstrak pada 1 ml darah, mulai dari 10 l, 20 l, 30 l, 40 l, 50 l, 60 l, 70 l, 80 l, 90 l, 100 l, 110 l, 120 l. Titrasi dihentikan pada 120 l karena darah sudah tidak membeku. Sehingga volume ekstrak yang akan digunakan dalam 1 ml darah adalah 120 l.

e. **Pengujian Ekstrak *Aegiceras corniculatum* Pada Sampel Uji Darah**

Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah 2 metode, yang pertama yaitu metode Lee-White yang sudah dimodifikasi (Gandasoebrata 1992), metode ini digunakan untuk menentukan masa pembekuan darah yang diamati secara visual. Masa pembekuan darah normal pada manusia, umumnya terjadi diantara 3-18 menit. Berdasarkan masa pembekuan darah normal (Bithell 1993). Metode yang kedua adalah

metode hapusan darah (eustrek). Prosedur kerja metode Lee-White yang sudah dimodifikasi adalah sebagai berikut: 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 dengan menggunakan alat suntik disposable 5 ml/cc dengan jarum 22 G steril. Masing-masing sukarelawan darahnya diambil sebanyak 5 ml.

Darah sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi nomor 1, pada saat itu stopwatch dijalankan untuk melihat masa pembekuan darah. Pada tabung reaksi nomor 2 dimasukkan darah sebanyak 1 ml dan ekstrak sebanyak 120 l dengan menggunakan mikropipet dan dicampur dengan menggunakan vortex. Waktu yang bersamaan dengan pencampuran, stopwatch dijalankan untuk menentukan masa pembekuan yang terjadi.

Pada tabung reaksi nomor 3 dimasukkan 2 ml darah dan ditambahkan dengan EDTA sebanyak 2ml. EDTA merupakan antikoagulan yang dapat mengikat kalsium sehingga tidak dapat berperan dalam proses pembekuan. Menurut Wintrobe (1974) EDTA yang dibutuhkan untuk mengikat Kalsium yaitu 1 mg/1 ml darah. Pada tabung reaksi nomor 4 dimasukkan ekstrak *Aegiceras corniculatum* dan EDTA sebanyak 2ml kemudian dimasukkan darah sebanyak 2ml dan dicampur dengan vortex, pada saat yang bersamaan waktu dihitung dengan menggunakan stopwatch. Pada tabung reaksi nomor 5, dimasukkan 1ml darah dan ditambahkan etanol 100 l kemudian dicampur dengan vortex. Pada saat bersamaan hitung waktu pembekuan darahnya dengan menggunakan stopwatch. Setelah 3 menit tabung diangkat dan masing-masing tabung reaksi dimiringkan untuk melihat apakah sudah terjadi

pembekuan atau belum. Bila belum terjadi pembekuan letakkan kembali pada rak tabung reaksi dan setiap 30 detik dilakukan hal yang sama.

Efek pembekuan darah juga dapat dilihat secara mikroskopik yaitu dapat dilihat secara mikroskopik yaitu dengan teknik eustrek (hapusan). Metode ini dilakukan untuk melihat keadaan sel darah secara mikroskopik, sesuai metode campuran May Grunwald-Giemsa (Geneser 1994). Sampel yang digunakan pada pengujian ini dipilih dari satu relawan saja. Disiapkan 5 buah kaca obyek yang bersih dan tidak berlemak dan masing-masing diberi label nomor 1 sampai nomor 5. Kaca obyek nomor 1 untuk darah kontrol dari tabung reaksi nomor 1, kaca obyek nomor 2 untuk darah yang diberi ekstrak yang diambil dari tabung reaksi nomor 2, kaca obyek nomor 3 untuk darah dengan EDTA tambah ekstrak dari tabung reaksi nomor 3, sampel dari tabung reaksi nomor 4 yaitu darah dengan EDTA untuk kaca obyek nomor 4 dan kaca obyek nomor 5 untuk darah yang ditambahkan etanol 80% dari tabung reaksi nomor 5.

Darah dari tabung reaksi nomor 1 sampai tabung reaksi nomor 5 masing-masing diambil sebanyak 20 l. Darah tersebut di totolkan di atas kaca obyek nomor 1 sampai dengan nomor 5 secara berurutan. Tetesan darah pada kaca obyek disentuh dengan kaca penutup sehingga tetesan darah akan melebar dan lapisannya tipis sampai pinggir kaca obyek. Selanjutnya preparat diamati di bawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x.

Preparat tadi difiksasi dalam larutan etanol sampai menutupi bagian permukaannya selama 15 menit dan diangin-anginkan sampai kering. Preparat kemudian direndam dalam larutan giemsa selama 30 menit dan dibilas dengan air, selanjutnya diangin-anginkan sampai mengering. Hasilnya diamati di bawah mikroskop cahaya dan didokumentasikan dengan kamera.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan masa aktivitas koagulasi darah setelah diberi perlakuan dapat dilihat dalam tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Pengamatan Masa Aktivitas Koagulasi Darah

no.	Tabung				
	1	2	3	4	5
	(menit)	(menit)	(menit)	(menit)	(menit)
1	3'8.6"	-	-	-	27'19.5"
2	13'15.7"	-	-	-	30'24.7"
3	6'28.4"	-	-	-	28'54.3"
4	5'21.8"	-	-	-	23'30.6"
5	4'29.2"	-	-	-	23'56.8"

Keterangan:

Tabung 1 : Darah kontrol

Tabung 2 : Darah + ekstrak *Aegiceras corniculatum*

Tabung 3 : Darah + EDTA

Tabung 4 : Darah + ekstrak *Aegiceras corniculatum* + EDTA

Tabung 5 : Darah + etanol

- : Tidak terjadi pembekuan

Berdasarkan tabel di atas, tampak masa pembekuan darah kontrol yang mengalami pembekuan (koagulasi) dari masing-masing pendonor. Masa pembekuan (koagulasi) darah kontrol dari masing-masing pendonor (Tabel 1) tampak mengalami perbedaan waktu. Sampel darah kontrol dari masing-masing pendonor memiliki masa aktivitas koagulasi darah yang berkisar pada menit ke-3 sampai pada menit ke-13 (Gambar 2).

Darah kontrol merupakan darah yang tidak diberi perlakuan apa-apa. Bithell (1993) menyatakan pembekuan darah normal terjadi pada kisaran waktu 3-18 menit. Sampel darah kontrol yang diambil masih dalam batas masa pembekuan darah normal. Menurut Geneser (1994) yang menjelaskan pembekuan darah terjadi oleh faktor perubahan protein plasma protrombin



Gambar 2. Darah kontrol dari masing-masing pendonor

Keterangan:

- 1: Tabung pendonor pertama
- 2: Tabung pendonor kedua
- 3: Tabung pendonor ketiga
- 4: Tabung pendonor keempat
- 5: Tabung pendonor kelima

menjadi trombin, trombin adalah suatu enzim yang mengkatalisasi fibrinogen, yaitu suatu protein yang larut menjadi fibrin yang tidak larut, dalam beberapa detik fibrin berpolimerasi menjadi suatu jala-jala yang tersusun dari benang-benang fibrin yang panjang berjalan ke segala arah, jala ini menangkap elemen darah yang berbentuk dan terbentuklah suatu bekuan.

Sampel darah yang diberi perlakuan penambahan ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum* dari pendonor pertama sampai kelima yaitu darah tidak mengalami aktivitas pembekuan. Pengamatan dilakukan selama 120 menit dan hasil yang diperoleh tetap tidak terjadi pembekuan (Gambar 3).



Gambar 3. Darah ditambah ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum*

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. Mutschler (1991) menyatakan akan diperlukan waktu selama 2 jam sampei terjadinya efek yang diinginkan, yaitu darah tidak membeku, dan kerja dari antikoagulasi akan bertahan sekitar 4-6 jam.

Dari hasil pengujian fitokimia yang dilakukan Tangkery (2012), pada batang mangrove *Aegiceras corniculatum* terdapat senyawa flavonoid. Mustarichie (2011) flavonid yang berfungsi sebagai antioksidan, anti inflamasi, mencegah keropos tulang, meningkatkan efektivitas vitamin C, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Aninymous (2012) mengatakan antioksidan digunakan luas sebagai bahan kandungan suplemen makanan dengan harapan dapat mencegah penyakit seperti kanker dan jantung koroner. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut maka ekstrak dari *Aegiceras corniculatum* diasumsikan dapat dijadikan sebagai bahan sediaan obat untuk penyakit trombolisis, darah tinggi, dan jantung. 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. Antikoagulasi dalam dunia kedokteran, dapat dipakai baik penggunaan di laboratorium dan di klinik, untuk transfusi darah, pembedahan, dan mencegah tromboemboli (Warrow 1989).

Terjadinya proses antikoagulasi darah terlihat juga pada uji sampel darah yang ditambahkan dengan EDTA dan uji sampel darah yang ditambahkan EDTA dan ekstrak *Aegiceras corniculatum* (Gambar 4 dan Gambar 5)



Gambar 4. Darah ditambahkan EDTA

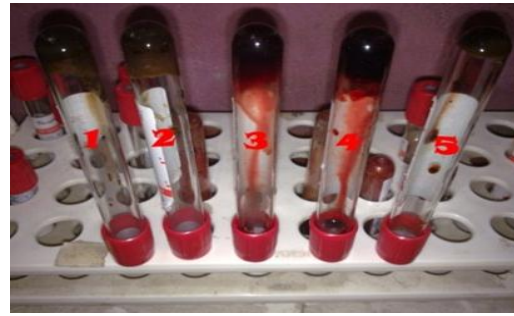


Gambar 5. Darah ditambahkan EDTA dan ekstrak *Aegiceras corniculatum*
Keterangan:

- 1: Tabung pendonor pertama
- 2: Tabung pendonor kedua
- 3: Tabung pendonor ketiga
- 4: Tabung pendonor keempat
- 5: Tabung pendonor kelima

Menurut Widmann (1994), EDTA mempunyai fungsi sebagai antikoagulasi yang mengikat ion kalsium sehingga tidak terjadi proses dalam pembekuan darah. Pada pengujian ini dapat dilihat bahwa ekstrak *Aegiceras corniculatum* memiliki sifat yang sama dengan EDTA, keduanya dapat mengikat salah satu faktor pembekuan darah yaitu kalsium, sehingga darah tidak membeku.

Pada pengujian darah yang ditambahkan dengan etanol pada kelima sampel darah tersebut terjadi pembekuan darah pada menit ke-27,



Gambar 6. Darah ditambahkan etanol.

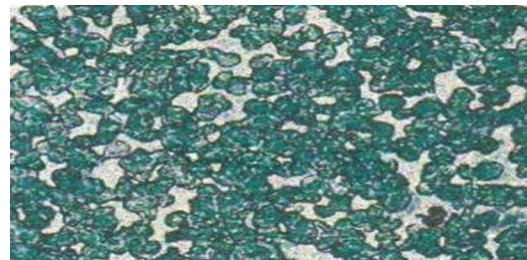
Keterangan:

- 1: Tabung pendonor pertama
- 2: Tabung pendonor kedua
- 3: Tabung pendonor ketiga
- 4: Tabung pendonor keempat
- 5: Tabung pendonor kelima

30, 28, 23, dan pada menit ke-23 (Gambar 6).

Hasil ini menunjukkan bahwa darah yang telah dicampur dengan etanol tetap membeku walaupun dengan masa pembekuan yang telah melewati masa pembekuan darah normal.

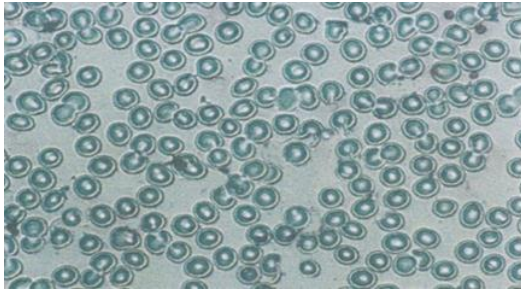
Aktivitas pembekuan darah dapat juga dilihat dengan teknik eustrek (hapusan darah) yaitu untuk melihat keadaan sel darah secara mikroskopik (Geneser 1994). Sampel darah yang diujikan berasal dari salah satu sukarelawan yang berjenis golongan darah B. Hasil foto mikroskop yang menunjukkan sel darah setelah diberi perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



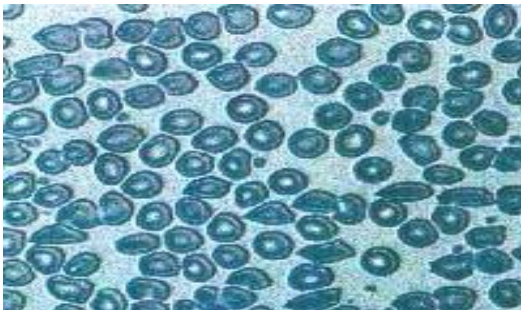
Gambar 7. Preparat nomor 1 yang tidak diberi perlakuan

Berdasarkan Gambar 7 yang merupakan hapusan darah yang tidak diberi perlakuan tampak sel darah yang

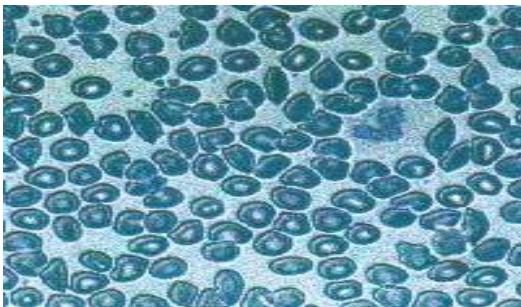
tidak terpisah satu sama lain karena telah mengalami pembekuan darah (koagulasi). Junqueira *dkk.* (1997) menyatakan trombosit pada sediaan hapusan darah yang mengalami pembekuan tampak padat dan berkelompok serta memiliki daerah perifer yang transparan.



Gambar 8. Preparat nomor 2 darah yang diberi ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum*



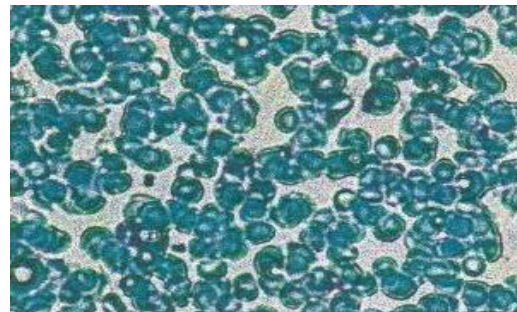
Gambar 9. Preparat nomor 3 darah yang diberi EDTA



Gambar 10. Darah yang diberi EDTA dan ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum*

Pada gambar 8, 9, dan gambar 10 terlihat sel darah yang tidak mengalami pembekuan karena sel-sel darah yang tidak saling berkaitan.

Pearce (1995) mengemukakan bahwa pada sel darah yang tidak membeku umumnya berbentuk bulat seperti mata uang logam, berwarna kekuning-kuningan dan tidak memiliki inti. Hal ini didukung oleh pendapat Junqueira *dkk.* (1997) bahwa pada sediaan hapusan darah yang tidak membeku trombosit tampak berbentuk bulat dan tidak berkelompok serta memiliki inti yang kosong.



Gambar 11. Preparat nomor 5 darah yang diberi etanol

Pada gambar 11 yaitu preparat nomor 5 darah yang diberi perlakuan penambahan etanol, terlihat terjadinya pembekuan dimana sel-sel pada darah saling melekat satu sama lain, tetapi sel darah merah atau eritrosit tidak lagi memiliki bentuk karena dinding sel telah hancur. Hal ini disebabkan karena konsentrasi plasma darah yang menurun, yang meningkatkan cairan plasma masuk ke dalam sel darah.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak dari mangrove *Aegiceras corniculatum* tidak memiliki aktivitas koagulan tetapi memiliki aktivitas antikoagulan terhadap darah manusia dan dapat membandingkan waktu pembekuan darah kontrol dengan darah yang telah diberi ekstrak mangrove *Aegiceras corniculatum*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aninomous. 2011. *Aegiceras corniculatum*. Wetlands International Indonesia Programe.
- Bithell, T. C. 1993. The Diagnostic Approach To The Bleeding Discordes. In Lee, R. G., Bithell, T. C., Foerster, J., Athens, J. W., Lukens, J. N. ed. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Ninth edition. Malvern, Pennsylvania: Lea and Febiger. 1993;2:1301-1324.
- Gandasoebrata, R. 1992. Hematologi. Dalam: Gandasoebrata R. *Penuntun Laboratorium Klinik Cetakan Ketujuh*. Dian Rakyat. Jakarta. 159 halaman.
- Geneser, F. 1994. *Buku Teks Histologi Jilid 1*. Binarupa Aksara. Jakarta.
- Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. 1997. *Histologi Dasar*. Edisi Ke-8. Terjemahan Jan Tambayong. EGC. Jakarta.
- Macnair, 2011. Antikoagulan. http://news.bbc.co.uk/1/health/medical_notes/a-b/990593.stm. Diunduh tanggal 9 Mei 2012.
- Mustarichie, R., I. Musfiroh, J. Levita 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi Edisi Ke-5. Penerbit ITB. Bandung.
- Nybakken, J.W. 1992. *Biologi Laut Suatu Pendekatan Ekologis*. Alih bahasa oleh M.Eidman., Koesoebiono., D.G. Bengen., M. Hutomo., S. Sukardjo. PT. Gramedia.
- Pearce, E. C. 1995. *Anatomi dan Fisiologi Untuk Paramedis*. PT. Gramedia. Jakarta. 495 Halaman.
- Posangi, J. 2003. *Ekstraksi: Praktikum Farmakologi dan Terapi*. Paket Praktika 04. Bagian Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Unsrat. Manado.
- 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.
- Supriharyono, M. S. 2000. *Pelestarian dan Pengelolaan Sumber Daya Alam di Wilayah Pesisir Tropis*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Tangkery, R. 2012. *Uji Fitokimia Pada Mangrove*. Hasil PKL. FPIK UNSRAT. Manado.
- 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.
- Wintrobe, M.M., 1974. *Blood Coagulation Dalam : Clinical Hematology*. M.M. Wintrobe (Ed). Lea & Febiger. Philadelphia.