

Volume 4 Nomor 2
November, 2009

ISSN 1987-8495

MEDIA FARMASI INDONESIA

Terbit Dua kali Setahun pada Bulan Februari dan November

Redaksi

Penanggung jawab

Ketua STIFAR Yayasan Farmasi Semarang

Pemimpin

Christina Astutiningsih, S.Si, Apt
Endang Dwi Wulansuri, M.Si, Apt

Anggota

Dra. Maisunah Legawa, M.Si, Apt
Dra. Caecilia Nanny, S.H, M.Sc, Apt
Dra. Sri Haryanti, M.Si, Apt
Caecilia Mutiarawati, M.Si, Apt
Endang Dyah Iksari, M.Si, Apt
Drs. Agus Suprijono, M.Kes
Ika Puspitasari, S.Farm, Apt

Sirkulasi

Drs. Anang Budi Utomo, M.Pd
Lia Kusmita, M.Si

Mitra Bestari

Prof. Dr. Suwaldi (Fakultas Farmasi UGM)
Prof. Dr. Suwidjo Pramono, DEA., Apt (Fakultas Farmasi UGM)
Prof. Dr. Sarosa Purwadi (STIFAR, Semarang)
Prof. Dr. Ing. LMF. Purwanto (UNIKA Soegiyopranoto, Semarang)
Dr. A. Tri Widodo (Fakultas Kimia, UNNES, Semarang)

Lembaga Penerbit

STIFAR Yayasan Farmasi Semarang

Alamat Redaksi

STIFAR Yayasan Farmasi Semarang
Jl. Sarwo Edhi wibowo KM-1 Plamongsari, Semarang
Telp: (024) 6706147 – 6725272 Fax: (024) 6706148
E-mail: Stifar_Yapharaz@yahoo.com

DAFTAR ISI

- 388 – 398 Memahami Biosintesis Bacilysozin Suatu Antibiotika Fosfolipid Baru dari *Bacillus subtilis* 168
Supartono
- 399 – 408 Potensi Fraksi Aktif Kacang Koro (*Mucuna pruriens*. L) sebagai Penurun Kolesterol pada Tikus Hiperkolesterolemia
Retnaningsih, Ch, Sumardi, Atmira N.U, Widowati.W, Soeng. S
- 409 – 425 Potensi Fraksi Aktif Kacang Koro (*Mucuna pruriens*. L) sebagai Antiplatelet pada Tikus Hiperkolesterolemia
Retnaningsih, Ch, Sumardi, Andi Setiawan, Widowati.W, Soeng. S
- 426 – 431 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode Linoleat-Tiosianat serta Penentuan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)
Sri Muryati, Erlita Verdia Mutiara, Devi Ray Yuniawati
- 432 – 438 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Fraksi Etanol, Fraksi Air dan Fraksi Etil Asetat Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap Kelarutan Batu Ginjal Kalsium secara *In Vitro*
Ika Riyana Ulfa, Endang Dwi W, Achmad Wildan
- 439 – 447 Modifikasi Bakterioklorofil sebagai *Sensitizer* untuk Terapi Fotodinamik
Christina Astutiningsih, Yoga Aji Handoko, Leenawaty Limantara
- 448 – 456 Evaluasi Penggunaan Obat Demam Tifoid pada Pasien Anak Di Instalasi Rawat Inap RSUD Dr. H. Soewondo Kendal Periode Januari – Juni 2007
Sri Haryanti, Dian Ratna Dewi, Andaka Wirawan
- 457 – 464 Optimasi Pelarut Campur (Propilen glikol : air) terhadap Kestabilan Fenobarbital dalam Sediaan Injeksi setelah Proses Sterilisasi
Endang Diyah Ikasari, I Kadek Bagiana, Evalina Hartanti
- 465 – 471 Uji Mukolitik Ekstrak Etanol dan Fraksi Diklormetana Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) terhadap Mukus Usus Sapi secara *In Vitro*
Bambang Witjahjo, Linda Noviamila, Djatmika

POTENSI FRAKSI AKTIF KACANG KORO (*Mucuna pruriens. L*) SEBAGAI ANTI PLATELET PADA TIKUS HIPERKOLESTEROLEMIA

^aRetnaningsih, Ch^a, Sumardi, Andi Setiawan, Widowati, W^b, Soeng.S^b

^a Progdi Teknologi Pangan Unika Soegijapranata, Semarang

^b Universitas Maranatha, Bandung

ABSTRACT

This research used 35 Wistar rats, which were given high fat diet for 30 days to increase the cholesterol level. This high-fat feeding aims to increase the risk of an atherosclerosis, by increasing the amount of cholesterol in the blood and platelet activity. Rats, that already in the hypercholesterolemia condition, are given *Mucuna pruriens* fraction. The seeds of *Mucuna pruriens* contain flavonoid antioxidants that have the ability to decrease platelet number, which can minimize the risk of an atherosclerosis. *Mucuna pruriens* fraction is given in three doses, namely 500 mg/Kg BB, 425 mg/Kg BB, and 350 mg/Kg BB. For comparison value, aspirin is also used besides *Mucuna pruriens* fraction, because its ability to decrease platelet number. Administration of the *Mucuna pruriens* fraction and aspirin was conducted for 30 days, and then continued by antiplatelet activity measurement. In vivo test result shows that antiplatelet activity increased in line with the decrease of the number of platelet and leukocyte. Administration of the *Mucuna pruriens* fraction at a dose 500 mg/Kg BB, give the best antiplatelet activity which reduced 39,98 % platelet number (from 1.434.750/ μ L to 1.025.000/ μ L).

PENDAHULUAN

Aterosklerosis adalah peristiwa terjadinya penebalan dan pengerasan pada pembuluh arteri jantung. Faktor penyebab terjadinya aterosklerosis ini adalah terjadinya akumulasi kolesterol pada daerah tempat terjadinya penebalan dan faktor lainnya adalah penggabungan clot atau gumpalan-gumpalan darah membentuk trombus (Oliver, 2008). Berdasarkan hasil riset yang telah dilakukan, telah diketahui bahwa terdapat senyawa aktif di dalam kacang koro yaitu flavonoid diketahui dapat mengurangi resiko terjadinya aterosklerosis. (---?)

Pada penelitian ini, dilakukan pemberian fraksi kacang koro untuk

mengungkapkan aktivitas antiplatelet secara in vivo pada tikus putih jantan galur Wistar dengan aspirin sebagai pembanding dalam pengukuran aktivitas antiplatelet. Fraksi kacang koro dan aspirin diberikan pada tikus hiperkolesterolemia, yang sebelumnya diberi asupan minyak babi selama 30 hari. Biji kacang koro ini mengandung flavonoid yang memiliki kemampuan untuk menurunkan jumlah (---?) platelet, sehingga dapat meminimalkan resiko terjadinya aterosklerosis. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas fraksi aktif antiplatelet kacang koro secara in vitro, dibandingkan dengan aspirin dalam mencegah aterosklerosis, pada tikus putih jantan galur wistar hiperkolesterol.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini, kacang koro benguk yang digunakan disortasi terlebih dahulu sehingga hanya kacang koro yang bersih dan baik yang digunakan. Kacang koro yang telah lolos sortasi kemudian dicuci terlebih dahulu untuk memberihkan kotoran yang melekat pada kacang koro tersebut. Setelah dicuci, kacang koro tersebut kemudian dikeringkan dengan dehumidifier pada suhu 40-50°C. Pemakaian suhu yang tidak terlalu tinggi ini bertujuan untuk menghindari hilangnya komponen aktif yang terdapat pada kacang koro benguk (Mizan & Mohamed, 2001).

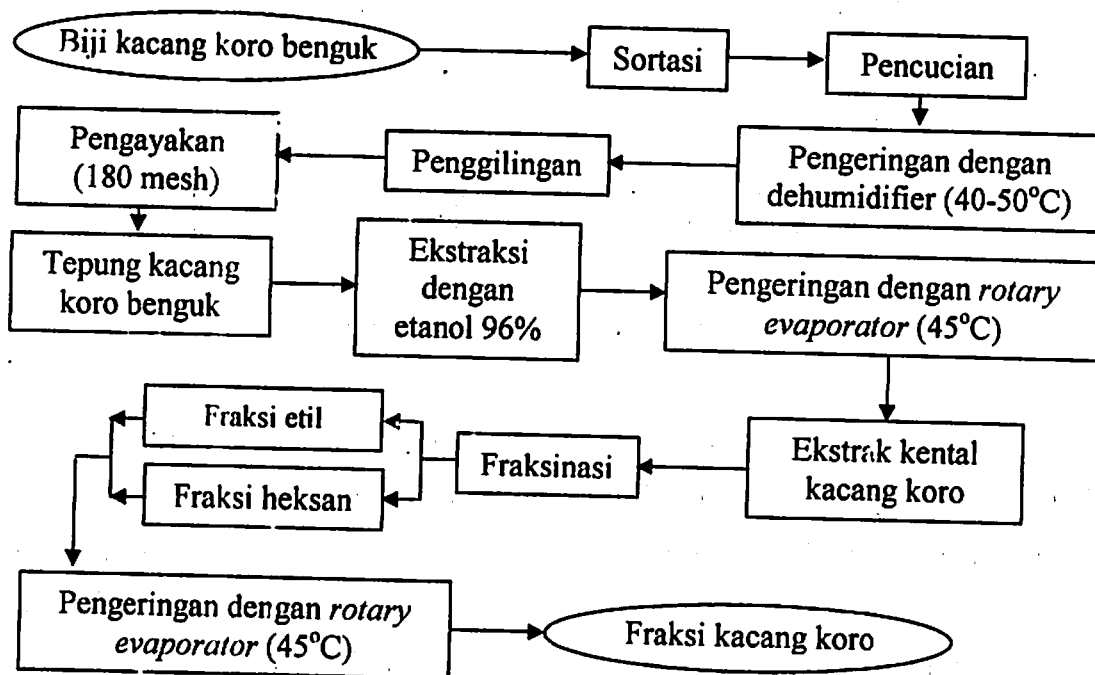
Kacang koro yang sudah kering tersebut kemudian digiling dan diayak dengan ayakan 180 mesh sehingga diperoleh tepung koro yang halus. Penggilingan merupakan proses yang sangat penting karena dapat mempengaruhi efektifitas dari hasil ekstraksi. Pada penggilingan ini, biji kacang koro dihancurkan sampai diperoleh tepung koro yang halus. Menurut Fellows (2000), proses penggilingan kacang koro sampai berbentuk tepung ini bertujuan untuk meningkatkan efektifitas proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel yang diperoleh maka efektifitas ekstraksi akan semakin besar.

Proses ekstraksi ini bertujuan untuk memisahkan komponen yang diinginkan (*solute* atau zat terlarut) dari bahan pangan

dengan menggunakan cairan (*solvent* atau zat pelarut) yang dapat melarutkan *solute*. Ekstraksi ini meliputi pencampuran bahan pangan dan *solvent* secara bersamaan, kemudian pada tahap akhir adalah pemisahan *solvent* yang digunakan. Selama masa perendaman terdapat perpindahan massa zat terlarut (*solute*) dari bahan pangan ke dalam zat pelarut (*solvent*) (Fellows, 2000). Pada proses ekstraksi ini, tepung koro benguk direndam dengan menggunakan etanol. Etanol merupakan pelarut yang mudah menguap dan memiliki titik didih 78°C (Anonim, 2008). Hal ini sesuai dengan teori yang dinyatakan oleh Williamson (1994), bahwa pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus memiliki titik didih rendah, sehingga dapat dengan mudah dipisahkan. Pada penelitian ini, perendaman tepung koro benguk dilakukan secara berulang sampai dua kali, setelah itu diganti dengan tepung koro dan dengan *solvent* (etanol) yang baru. Proses perendaman tepung koro dengan etanol secara berulang ini supaya komponen yang terdapat di dalamnya lebih banyak yang terekstrak (Williamson, 1994). Untuk setiap kali perendaman, dilakukan pengadukan secara berkala untuk meningkatkan efektifitas ekstraksi. Adanya pengadukan menyebabkan laju alir dari *solvent* (etanol) meningkat. Semakin tinggi laju alir etanol, jumlah lapisan-lapisan penghambat pada permukaan partikel akan berkurang

sehingga dapat meningkatkan laju ekstraksi (Fellows, 2000). Filtrat yang telah diperoleh dari hasil ekstraksi kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental koro. Ekstrak kental koro tersebut lalu difraksinasi dengan menggunakan beberapa pelarut yaitu etil asetat dan heksan. Filtrat yang diperoleh dari masing-

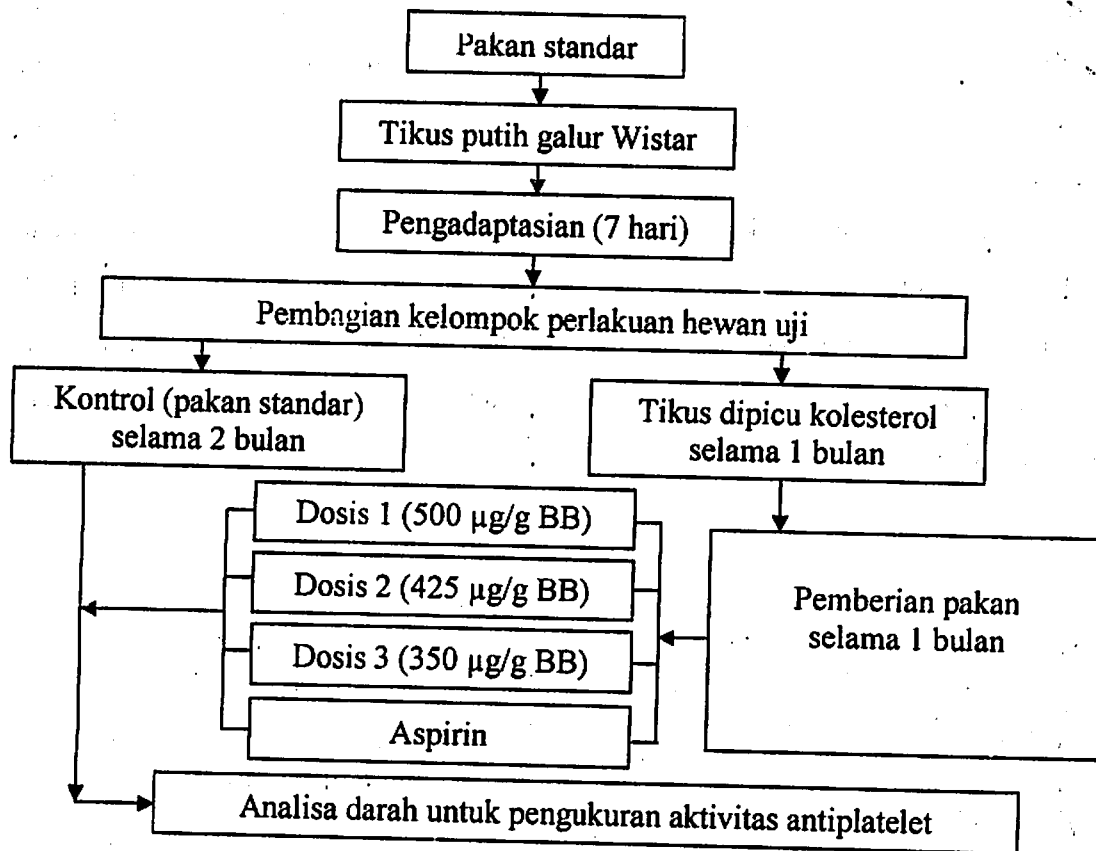
masing pelarut tadi kemudian diuapkan lagi dengan menggunakan *rotary evaporator*, sehingga diperoleh ekstrak kental etil asetat, dan heksan. Berdasarkan ekstrak yang diperoleh dari hasil fraksinasi, jumlah ekstrak kental yang mencukupi untuk diberikan sebagai pakan perlakuan ke tikus hanyalah ekstrak kental heksan.



Gambar 1. Proses pembuatan fraksi etil asetat dan heksan dari biji kacang koro

Pemberian fraksi kacang koro ini diberikan selama 30 hari, kemudian dilakukan

pengukuran aktivitas antiplateletnya, dengan alur pengujian sebagai berikut:



Gambar 2. Alur pelaksanaan uji in vivo

Oleh karena itu, hanya ekstrak kental heksan yang dilarutkan dalam etanol 5% untuk kemudian diberikan sebagai pakan perlakuan pada tikus. Sebelum dilakukan penelitian, hewan uji diadaptasikan selama satu minggu. Proses pengadaptasian meliputi menyesuaikan makanan, minuman, serta kondisi hidup dengan lingkungan sekitar. Pada tahap awal tikus diadaptasikan dengan pemberian pakan normal selama 7 hari. Setelah itu, tikus diberi pakan minyak babi selama sebulan, sehingga tikus dibuat dalam kondisi hiperkolesterol. Setelah tikus dalam keadaan hiperkolesterol, maka tikus mulai

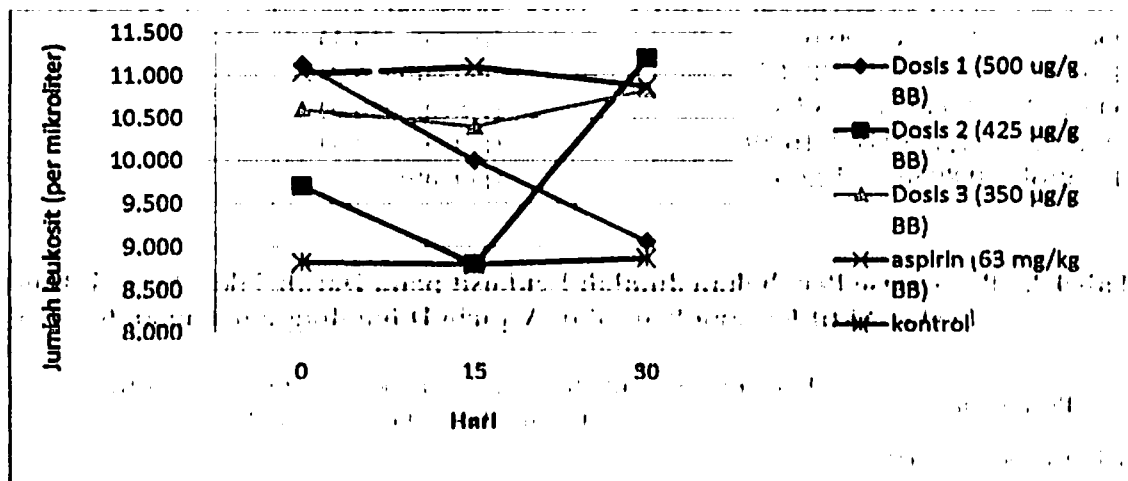
diberi pakan perlakuan dengan berbagai dosis dari kacang koro dan aspirin.

Pada tikus yang diberi perlakuan, masing-masing tikus diletakkan dalam kandang individu. Adapun tujuan dilakukan pemisahan untuk masing-masing tikus adalah untuk memudahkan agar jumlah pakan yang dikonsumsi oleh tiap tikus berada dalam jumlah yang sama yaitu sebanyak 20 gram. Selain pemberian pakan, tikus juga dioral dengan 2 ml minyak babi untuk setiap kali oral. Pemberian pakan dan pengorolan minyak babi ini diberikan sebanyak 2 kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari.

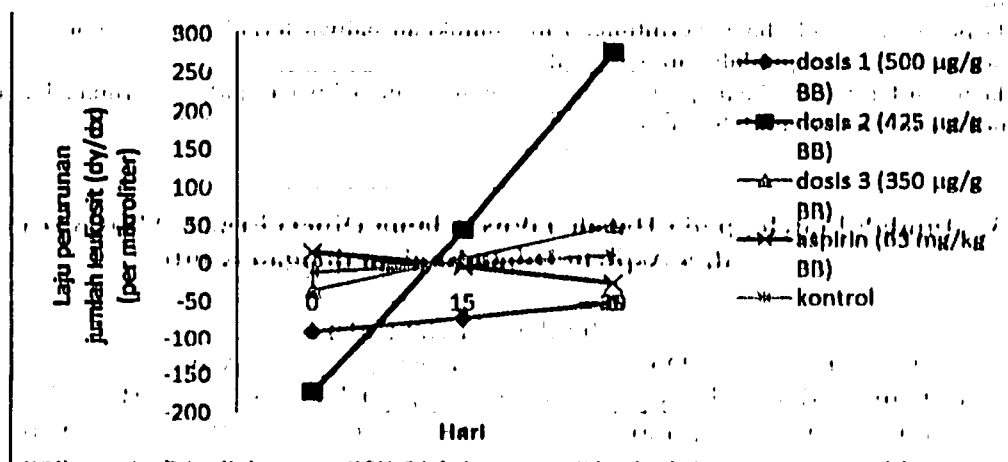
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Jumlah Leukosit pada Darah Tikus Selama Diberi Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

Hari ke-	Jumlah Leukosit (μL)				
	Dosis 1 (500 mg/Kg BB)	Dosis 2 (425 mg/Kg BB)	Dosis 3 (350 mg/Kg BB)	Aspirin (63 mg/Kg BB)	Kontrol
0	11.125	9.700	10.600	11.025	8.825
15	10.000	8.800	10.400	11.100	8.800
30	9.075	11.200	10.825	10.875	8.875



Gambar 3. Jumlah Leukosit pada Darah Tikus Selama Diberi Pakan Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol



Gambar 4. Laju Penurunan Jumlah Leukosit pada Darah Tikus Selama Diberi Pakan Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

Berdasarkan Gambar 3, jumlah leukosit pada darah tikus selama diberi pakan fraksi aktif kacang koro dan aspirin dibandingkan

dengan kontrol mengikuti persamaan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 0,64x^2 - 90,67x + 11215,02 \dots\dots\dots (\text{persamaan 1}) \\ \text{Dosis 2} &= 7,73x^2 - 118,03x + 9880,30 \dots\dots\dots (\text{persamaan 2}) \\ \text{Dosis 3} &= 1,47x^2 - 37,80x + 10636,33 \dots\dots\dots (\text{persamaan 3}) \\ \text{Aspirin} &= -0,70x^2 + 16,59x + 11009,11 \dots\dots\dots (\text{persamaan 4}) \\ \text{Kontrol} &= 0,40x^2 - 12,66x + 8912,26 \dots\dots\dots (\text{persamaan 5}) \end{aligned}$$

Sedangkan untuk laju penurunan jumlah leukosit pada darah tikus (Gambar 4), laju

penurunannya mengikuti persamaan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 1,289x - 90,67 \dots\dots\dots (\text{persamaan 1}) \\ \text{Dosis 2} &= 15,468x - 188,03 \dots\dots\dots (\text{persamaan 2}) \\ \text{Dosis 3} &= 2,93924x - 37,80 \dots\dots\dots (\text{persamaan 3}) \\ \text{Aspirin} &= -1,40394x + 16,59 \dots\dots\dots (\text{persamaan 4}) \\ \text{Kontrol} &= 0,8056x - 12,66 \dots\dots\dots (\text{persamaan 5}) \end{aligned}$$

Tabel 2. Persentase Perubahan Jumlah Leukosit pada Darah Tikus Setelah Diberi Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

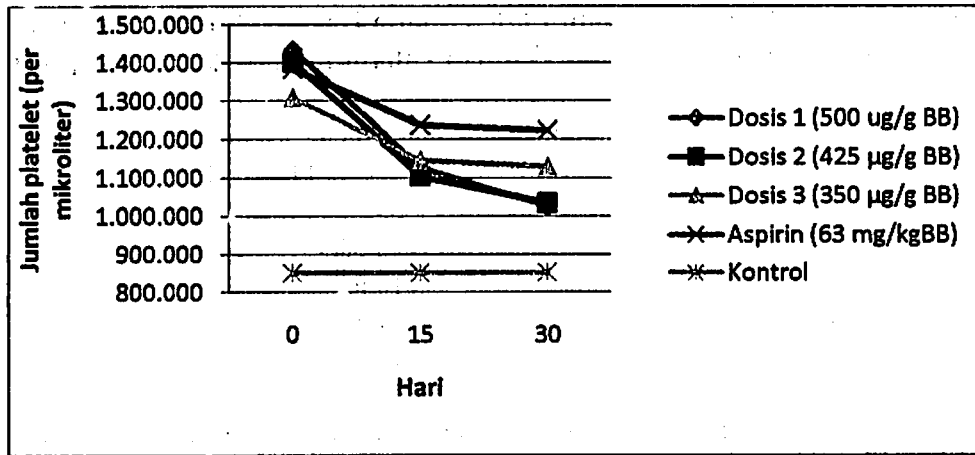
Perlakuan	Persentase perubahan jumlah leukosit setelah diberi fraksi aktif kacang koro dan aspirin (%)
Dosis 1 (500 µg/g BB)	-18,43
Dosis 2 (425 µg/g BB)	15,46
Dosis 3 (350 µg/g BB)	2,12
Aspirin (63 mg/kg BB)	-1,36
Kontrol	-0,06

Keterangan :

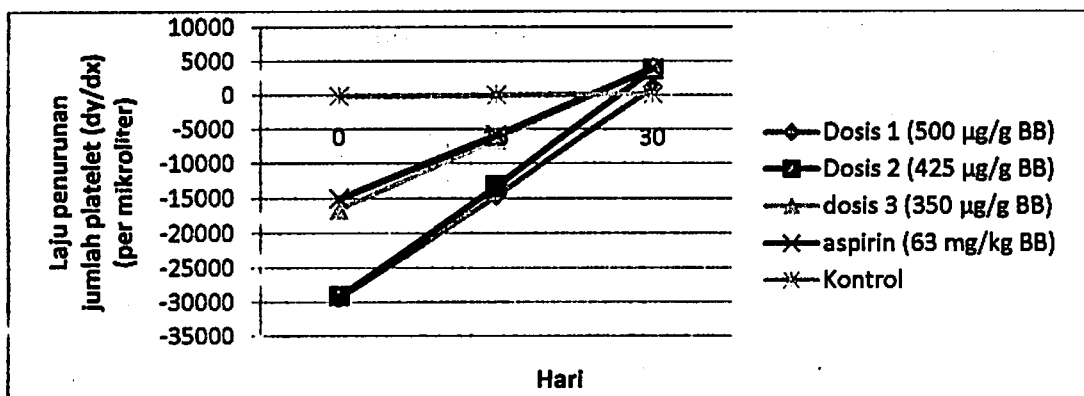
1. Tanda positif (+) pada hasil perhitungan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar leukosit dibandingkan dengan jumlah leukosit awal
2. Tanda negatif (-) pada hasil perhitungan menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar leukosit dibandingkan dengan jumlah leukosit awal

Tabel 3. Jumlah Platelet pada Darah Tikus Selama Diberi Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

Hari ke-	Jumlah Platelet (/µL)				
	Dosis 1 (500 µg/g BB)	Dosis 2 (425 µg/g BB)	Dosis 3 (350 µg/g BB)	Aspirin (63 g/kg BB)	Kontrol
0	1.434.750	1.400.750	1.307.750	1.383.250	850.500
15	1.126.000	1.104.250	1.145.750	1.237.250	850.000
30	1.025.000	1.033.750	1.128.750	1.223.750	852.000



Gambar 5. Jumlah Platelet pada Darah Tikus Selama Diberi Pakan Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol



Gambar 6. Laju Penurunan Jumlah Platelet pada Darah Tikus Selama Diberi Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

Berdasarkan Gambar 5, jumlah platelet pada darah tikus selama diberi pakan fraksi

aktif kacang koro dan aspirin dibandingkan dengan kontrol mengikuti persamaan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 528,28x^2 - 30506,12x + 1464727,83 \quad \text{..... (persamaan 1)} \\ \text{Dosis 2} &= 568,23x^2 - 30270,20x + 1430451,97 \quad \text{..... (persamaan 2)} \\ \text{Dosis 3} &= 359,93x^2 - 17330,38x + 1324720,44 \quad \text{..... (persamaan 3)} \\ \text{Aspirin} &= 328,57x^2 - 15685,71x + 1398607,14 \quad \text{..... (persamaan 4)} \\ \text{Kontrol} &= 5,83x^2 - 128,98x + 850623,15 \quad \text{..... (persamaan 5)} \end{aligned}$$

Sedangkan untuk laju penurunan jumlah platelet pada darah tikus (Gambar 6), laju

penurunannya mengikuti persamaan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Dosis 1} &= 1056,56814x - 30506,12 \quad \text{..... (persamaan 1)} \\ \text{Dosis 2} &= 1136,4532x - 30270,20 \quad \text{..... (persamaan 2)} \\ \text{Dosis 3} &= 719,86864x - 17330,38 \quad \text{..... (persamaan 3)} \\ \text{Aspirin} &= 657,14286x - 15685,71 \quad \text{..... (persamaan 4)} \\ \text{Kontrol} &= 11,65846x - 128,98 \quad \text{..... (persamaan 5)} \end{aligned}$$

Tabel 4. Persentase Perubahan Jumlah Platelet pada Darah Tikus Setelah Diberi Fraksi Aktif Kacang Koro dan Aspirin Dibandingkan dengan Kontrol

Perlakuan	Persentase perubahan jumlah platelet setelah diberi fraksi aktif kacang koro dan aspirin (%)
Dosis 1 (500 µg/g BB)	-39,98
Dosis 2 (425 µg/g BB)	-35,50
Dosis 3 (350 µg/g BB)	-15,86
Aspirin (63 mg/kg BB)	-13,33
Kontrol	-0,13

Keterangan :

1. Tanda positif (+) pada hasil perhitungan menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar platelet dibandingkan dengan jumlah platelet awal
2. Tanda negatif (-) pada hasil perhitungan menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar platelet dibandingkan dengan jumlah platelet awal

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan *in vitro*

Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)				
	200 µg/ml	275 µg/ml	350 µg/ml	425 µg/ml	500 µg/ml
Ekstrak koro	8,27	10,60	17,87	21,60	23,32
	8,44	14,83	16,07	21,18	23,79
Fraksi etil	7,86	14,35	14,18	19,12	16,01
	22,46	32,00	39,27	36,36	49,61
Fraksi heksan	22,20	31,53	39,98	41,73	51,46
	29,39	34,98	35,17	43,11	50,59
	26,42	26,90	27,65	30,78	40,09
	14,31	25,38	30,31	31,55	47,18
	15,25	26,83	33,88	31,04	46,67

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dari Fraksi Heksan

Perlakuan	Ulangan	Aktivitas antioksidan (%)		
		Hari ke-0	Hari ke-15	Hari ke-30
Fraksi Koro Dosis 1 (500 µg/g BB)	1	4,32	3,58	17,01
	2	4,84	1,24	18,53
	3	3,81	5,06	16,71
	4	4,59	2,76	14,89
	Rata-rata	4,39	3,16	16,78
Fraksi Koro Dosis 2 (425 µg/g BB)	1	4,31	5,70	15,12
	2	3,79	5,90	14,29
	3	7,98	5,43	16,14
	4	4,32	4,85	14,90
	Rata-rata	5,10	5,47	15,11
Fraksi Koro Dosis 3 (350 µg/g BB)	1	4,39	6,07	14,26
	2	4,68	5,69	15,90
	3	3,54	1,97	12,65
	4	4,37	4,81	14,92
	Rata-rata	4,25	4,64	14,43

Pada penelitian ini digunakan biji kacang koro benguk yang diperoleh dari kabupaten Wonogiri. Biji kacang koro ini memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa flavonoid (Retnaningsih, Ch. *et al.*, 2007). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Janssen *et al.* (1998), flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menghambat terjadinya agregasi platelet dengan menghambat aktivitas *cyclooxygenase*. Terhambatnya agregasi platelet akan mengurangi resiko terjangkitnya aterosklerosis (Janssen *et al.*, 1998). Untuk mengisolasi antioksidan yang terkandung di dalam biji kacang koro, maka biji kacang koro ditepungkan terlebih dahulu. Tepung kacang koro kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol, lalu difraksinasi dengan menggunakan pelarut etil asetat dan heksan.

Fraksinasi merupakan pencampuran suatu substansi dengan dua jenis larutan yang tidak dapat bercampur, sehingga substansi tersebut akan terdistribusi ke dalam masing-masing larutan tersebut. Proporsi substansi tersebut di dalam masing-masing pelarut, sesuai dengan tingkat kelarutannya di dalam masing-masing pelarut (Day & Underwood, 1992 dalam Nugroho, 2008). Pada penelitian ini, fraksinasi dilakukan dengan menggunakan beberapa jenis pelarut yaitu heksan dan etil asetat. Tahap awal yang dilakukan dalam

proses fraksinasi adalah dilakukannya penggojogan atau *shaking*, yaitu mencampur suatu larutan atau suspensi dengan pelarut yang tidak bisa bercampur dengan air, dengan menggunakan labu pemisah atau *separatory funnel* sebagai wadahnya. Pada penelitian ini, ekstrak kental koro yang telah diperoleh dari proses evaporasi kemudian dilakukan pencampuran dengan pelarut dan dilanjutkan dengan penggojogan. Setelah dilakukan penggojogan, labu tersebut dibiarkan beberapa menit dalam keadaan tegak sampai tercipta dua fase cair (Williamson, 1994). Cairan yang berada di bagian atas kemudian diambil dengan menggunakan pipet volum dan ditampung untuk kemudian dievaporasi lebih lanjut, sehingga akan didapatkan ekstrak kental. Setelah proses evaporasi dilakukan, maka akan diperoleh ekstrak kental heksan dan etil asetat.

Setelah fraksi diperoleh, fraksi tersebut kemudian diberikan ke tikus dan diukur aktivitas antiplateletnya, dengan parameter jumlah leukosit dan platelet yang terdapat pada darah tikus. Hasil akhir dari penelitian ini diharapkan dapat diterapkan pada manusia, oleh karena itu, hewan uji yang digunakan harus memiliki atau mendekati organ-organ yang dimiliki oleh manusia. Atas pertimbangan itulah, pada penelitian ini digunakan tikus putih jantan galur Wistar.

adalah tikus karena mudah dalam penanganannya, tikus tidak mempunyai kantung empedu dan tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat bermuara ke lambung (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988 dalam Wigati, 2007). Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah jantan karena tikus jantan relatif tidak berpengaruh oleh siklus hormonal. Puryanto (2004) dalam Wigati (2007), juga menambahkan bahwa tikus jantan tidak memiliki daur estrus sehingga perubahan metabolisme dalam tubuh tidak terlalu fluktuatif dibandingkan dengan tikus betina.

Dosis yang digunakan dari kacang koro adalah dosis 1 sebesar 500 µg/g BB, dosis 2 sebesar 425 µg/g BB, dan dosis 3 sebesar 350 µg/g BB. Penggunaan ketiga dosis ini berdasarkan dari hasil uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* yang dapat dilihat pada tabel 5. Pada tabel 5 tersebut, diketahui bahwa dosis 425 µg/g BB, dan 350 µg/g BB menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan dengan dosis lainnya. Pada tikus yang diberi pakan aspirin, maka dosis yang digunakan adalah sebesar 63 µg/g BB, sedangkan pada tikus kontrol hanya diberi etanol 5%.

Pemberian pakan tinggi lemak (minyak babi) ini bertujuan agar tikus berada dalam kondisi hiperkolesterolemia, dan pemberian ini ternyata menyebabkan

terjadinya peningkatan berat tikus. Adanya peningkatan berat badan tersebut menandakan terjadinya peningkatan jumlah lemak yang tersimpan di dalam tubuh yaitu di jaringan adiposa. Jaringan adiposa bertugas dalam menghasilkan dan menyimpan kolesterol. Oleh sebab itu, semakin banyak jumlah lemak yang ditimbun di dalam tubuh, maka akan semakin banyak jumlah kolesterol yang dihasilkan (Hannah *et al.*, 1997).

Tujuan tikus dibuat dalam keadaan hiperkolesterolemia adalah untuk meningkatkan resiko terjadinya aterosklerosis. Hal ini sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Oliver (2008) bahwa aterosklerosis adalah peristiwa terjadinya penebalan dan pengerasan pada pembuluh arteri jantung. Aterosklerosis ini akan menyebabkan terjadinya *ischemic hearth disease* yaitu penyakit yang disebabkan karena tidak tersedianya suplai darah yang cukup ke jantung yang disebabkan karena adanya penyumbatan pada pembuluh darah. Prinsip dasar penyebab terjadinya penyakit jantung koroner adalah adanya penebalan pada pembuluh arteri jantung. Penebalan pada pembuluh jantung ini disebabkan oleh dua faktor utama yaitu terjadinya akumulasi kolesterol pada daerah tempat terjadinya penebalan dan faktor lainnya adalah penggabungan *clot* atau gumpalan-gumpalan darah membentuk trombus.

Obat yang digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini adalah aspirin. Pemberian aspirin ini bertujuan untuk menurunkan jumlah trombosit atau platelet setelah jumlah platelet dibuat melebihi batas standar dari tikus normal karena adanya pemberian pakan tinggi lemak. Dengan menurunnya jumlah platelet, maka resiko terjangkitnya penyakit aterosklerosis akan berkurang. Adapun batas standar dari jumlah platelet adalah sebesar 561.750 - 948.000 / μ l (Levin *et al.*, 2001). Selain pengukuran jumlah platelet, pada penelitian ini juga dibahas peran serta leukosit dalam kaitannya dengan platelet. Pengukuran jumlah platelet dan leukosit dilakukan dengan menggunakan alat *hematology analyzer Sysmex poeH-100i*. Proses pengambilan darah dilakukan dengan cepat dan darah segera dicampur secara merata dengan antikoagulan (EDTA) untuk mencegah terjadinya penggumpalan.

Berdasarkan grafik jumlah leukosit (Gambar 5), dapat diketahui bahwa pemberian fraksi kacang koro dan aspirin ternyata menyebabkan terjadinya perubahan pada jumlah leukosit tikus. Pemberian fraksi aktif kacang koro sebanyak 500 μ g/g BB dan aspirin ternyata menyebabkan terjadinya penurunan jumlah leukosit pada berbagai waktu pengukuran. Dari tabel persentase perubahan jumlah leukosit (Tabel 2), dapat dilihat bahwa pemberian fraksi aktif kacang koro pada

dosis 1 ternyata menyebabkan penurunan jumlah leukosit sebanyak 18,43 % dibandingkan dengan jumlah leukosit tikus pada pengukuran awal. Untuk tikus yang diberi aspirin, jumlah leukositnya juga mengalami penurunan, akan tetapi penurunannya tidak begitu banyak dibandingkan dengan jumlah leukosit tikus pada pengukuran awal, yaitu hanya sebesar 1,36 %. Sedangkan pemberian fraksi kacang koro pada dosis 425 μ g/g BB dan 350 μ g/g BB ternyata menunjukkan terjadinya penurunan jumlah leukosit pada pengukuran kedua (hari ke-15), akan tetapi jumlah leukosit ternyata mengalami peningkatan lagi pada pengukuran akhir (hari ke-30). Pada tikus kontrol, jumlah leukosit tidak banyak mengalami perubahan.

Efektivitas dari berbagai jenis perlakuan yang diberikan terhadap jumlah leukosit dapat dilihat pada grafik laju penurunan jumlah leukosit pada Gambar 4. Pada grafik tersebut, pemberian kacang koro dosis 1 sebanyak 500 μ g/g BB menyebabkan terjadinya penurunan jumlah leukosit awal sampai dengan akhir pengukuran (hari ke-30). Pada hari ke-0, terjadi penurunan jumlah leukosit sebanyak 90 per mikroliter. Pada hari ke-15, terjadi penurunan juga hanya saja laju penurunannya melambat yaitu sebanyak 75 per mikroliter. Pada hari ke-30, laju penurunan jumlah leukosit semakin kecil

yaitu sebanyak 50 per mikroliter. Pada pemberian kacang koro dosis 2 (425 µg/g B13) dan dosis 3 (350 µg/g B13), jumlah leukosit hanya dapat ditekan sampai dengan hari ke-12, setelah itu jumlah leukosit mulai mengalami peningkatan. Pada tikus yang diberi pakan aspirin, penurunan jumlah leukosit barulah mulai terlihat pada hari ke-12 dan tidak dari awal pengukuran. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa pemberian kacang koro sebanyak 500 µg/g B13 paling efektif dalam menekan peningkatan jumlah leukosit pada darah tikus.

Efektivitas kacang koro pada dosis 1 (500 µg/g B13) berkaitan erat dengan nilai antioksidan yang dimiliki oleh fraksi kacang koro tersebut. Berdasarkan data pengukuran aktivitas antioksidan (dapat dilihat pada tabel 6), diketahui bahwa nilai antioksidan tertinggi ditunjukkan oleh dosis 1 yaitu sebesar 16,78 %. Nilai antioksidan yang tinggi tersebut sangat berperan dalam menekan jumlah platelet. Menurut Middleton *et al.* (2000), flavonoid merupakan salah satu jenis antioksidan yang dapat menghambat sekresi platelet. Hal ini disebabkan oleh flavonoid yang dapat menghambat metabolisme asam arakidonat oleh *cyclooxygenase*. *Cyclooxygenase* berperan dalam membantu meningkatkan jumlah trombosit, apabila jumlah *cyclooxygenase* dapat dihambat,

maka jumlah trombosit pun juga akan ikut menurun (Pawar *et al.*, 1998).

Menurut Harrison (2005), leukosit terutama monosit dan neutrofil akan memicu terjadinya kongulasi dengan melepaskan isi granula. Setelah granula dilepaskan, maka leukosit tersebut akan membentuk agregat dengan platelet sehingga terbentuk agregat platelet leukosit. Dengan demikian maka semakin banyak jumlah leukosit, maka jumlah platelet juga akan meningkat, atau dapat dikatakan bahwa jumlah leukosit berbanding lurus dengan jumlah platelet. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Harrison (2005) dan Pawar *et al.* (1998) tersebut, maka penurunan jumlah platelet oleh adanya aktivitas dari antioksidan juga akan menyebabkan terjadinya penurunan jumlah leukosit. Apabila jumlah leukosit (monosit dan neutrofil) mengalami penurunan, maka jumlah agregat platelet leukosit yang terbentuk juga akan berkurang. Berkurangnya jumlah agregat platelet leukosit yang terbentuk akan mengurangi resiko terjadinya penyakit aterosklerosis, karena agregat atau gumpalan yang terbentuk tersebut tidak banyak yang menyumbat saluran pembuluh darah. Hal ini sesuai dengan pendapat yang dikemukakan oleh Oliver (2008), bahwa salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya aterosklerosis adalah adanya

penggabungan *clot* atau gumpalan-gumpalan darah membentuk trombus pada pembuluh darah.

Pada pemberian fraksi aktif kacang koro dosis 2 (425 $\mu\text{g/g}$ BB) dan 3 (350 $\mu\text{g/g}$ BB), menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah leukosit pada pengukuran akhir. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada dosis 2 dan 3, aktivitas antioksidan tidak bekerja secara optimal sehingga tidak mampu menekan terjadinya peningkatan jumlah leukosit, sebagai akibat efek yang ditimbulkan dari adanya kondisi hiperkolesterolemia. Sedangkan pada tikus yang diberi aspirin dengan dosis sebesar 63 $\mu\text{g/g}$ BB, menunjukkan adanya penurunan kadar leukosit akan tetapi penurunannya hanya sebesar 1,36 %. Hal ini menunjukkan bahwa aspirin ternyata tidak efektif dalam menurunkan jumlah leukosit.

Berdasarkan hasil uji signifikansi, tidak ditunjukkan adanya beda nyata pada jumlah leukosit tikus, dilihat dari berbagai jenis perlakuan yang diberikan maupun dilihat dari hari pengukuran. Dilihat dari jenis perlakuan yang diberikan terhadap berbagai waktu pengukuran, nilai tidak beda nyata ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan tidak menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan terhadap jumlah leukosit tikus pada berbagai waktu pengukuran. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada jumlah leukosit tikus pada suatu hari tertentu yang

diberikan berbagai jenis perlakuan. Secara keseluruhan, dapat dikatakan bahwa jumlah leukosit pada tikus tidak dipengaruhi oleh berbagai jenis perlakuan yang diberikan. Hal ini menunjukkan bahwa leukosit kurang berperan dalam proses koagulasi darah.

Hasil pengukuran jumlah platelet tikus (Tabel 3) menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diberikan (pemberian fraksi kacang koro dosis 1, 2, dan 3, serta pemberian aspirin), dapat menurunkan jumlah platelet. Berdasarkan Tabel 4, dapat dilihat bahwa pemberian fraksi kacang koro dengan dosis 500 $\mu\text{g/g}$ BB, 425 $\mu\text{g/g}$ BB, dan 350 $\mu\text{g/g}$ BB menyebabkan penurunan jumlah platelet sebesar 39,98 %, 35,50 %, dan 15,86 %. Pada tikus yang diberi pakan aspirin, jumlah platelet juga mengalami penurunan hanya saja penurunannya lebih kecil yaitu hanya sebesar 13,33 %. Menurut hasil analisa statistik, diketahui bahwa perlakuan yang diberikan menunjukkan adanya beda nyata pada jumlah leukosit tikus dilihat dari berbagai waktu pengukuran. Berdasarkan grafik laju penurunan jumlah platelet (Gambar 6), dapat diketahui bahwa pemberian fraksi koro dosis 1 (500 $\mu\text{g/g}$ BB) ini paling lama dapat menekan terjadinya peningkatan jumlah platelet sampai dengan hari ke-29. Peningkatan jumlah platelet pada tikus yang diberi pakan fraksi koro dosis 1 ini baru mulai

tikus yang diberi fraksi koro dosis 2 (425 µg/g BB), peningkatan jumlah platelet dapat ditekan sampai dengan hari ke-27. Sedangkan pada tikus yang diberi fraksi koro dosis 3 (350 µg/g BB) dan aspirin (63 µg/g BB), jumlah platelet hanya dapat ditekan sampai dengan hari ke-24. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian fraksi koro dosis 3 dan aspirin ini kurang efektif dalam menekan terjadinya peningkatan jumlah platelet. Dari Gambar 6, dapat diketahui bahwa pemberian aspirin kurang efektif dalam menekan terjadinya peningkatan jumlah trombosit apabila dibandingkan dengan pemberian fraksi koro dosis 1 (500 µg/g BB). Hal ini kemungkinan dikarenakan kemampuan antioksidan flavonoid dari koro dalam menghambat aktivitas *cyclooxygenase* lebih besar dibandingkan dengan aspirin. Selain adanya kandungan flavonoid, kacang koro juga mengandung asam lemak tidak jenuh dalam jumlah tinggi yaitu asam oleat (6,9-28,7%) dan asam linoleat (21,4-49,5%) (Sridhar & Bath, 2007). Adanya asam lemak tidak jenuh akan mempengaruhi aktivitas dari platelet, yaitu memperpanjang waktu terjadinya penggumpalan darah (Chang *et al.*, 1997). Waktu penggumpalan darah yang semakin lama, menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah platelet sehingga aktivitas platelet menjadi berkurang. Menurut Nettleton (1995), asam lemak tidak jenuh dapat menghambat

produksi *thromboxane A₂* sehingga dapat mengurangi terjadinya penggumpalan darah.

Kemampuan fraksi koro dosis 1 dalam menekan terjadinya peningkatan jumlah platelet berkaitan erat dengan nilai antioksidan yang dapat dilihat di tabel 6. Dari hasil pengukuran aktivitas antioksidan, diketahui bahwa fraksi kacang koro dosis 1 memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu sebesar 16,78 %. Semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh suatu fraksi, maka aktivitas penghambatan pembentukan platelet juga akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan antioksidan flavonoid yang terkandung di dalam kacang koro (Widowati dan Retnaningsih, 2007). Menurut Middleton *et al.* (2000), flavonoid merupakan salah satu jenis antioksidan yang dapat menghambat pelekatan, agregasi, dan sekresi platelet. Hal ini disebabkan karena flavonoid dapat menghambat metabolisme asam arakidonat oleh *cyclooxygenase*. *Cyclooxygenase* berperan dalam meningkatkan jumlah trombosit, apabila jumlah *cyclooxygenase* dapat dihambat, maka jumlah platelet pun juga akan ikut menurun (Pawar *et al.*, 1998).

Aktivitas platelet dalam membantu terjadinya penggumpalan darah berkaitan erat dengan hemostasis. Hemostasis merupakan proses penghentian aliran darah

merupakan proses penghentian aliran darah ketika terjadi luka. Proses ini terdiri dari 3 tahap yaitu vasokonstriksi atau penyempitan pembuluh darah, pembentukan gumpalan platelet, dan penggumpalan atau koagulasi darah. Ketika aliran darah sudah berhenti, maka mulai dilakukan perbaikan jaringan. Tahap awal dari proses hemostasis adalah tahap vasokonstriksi. Pada tahap ini setelah pembuluh darah terluka dan sel endotel rusak, fase vasokonstriksi mulai terjadi sehingga aliran darah menuju tempat terjadinya luka mulai terhambat. Fase kedua dari hemostasis adalah pembentukan gumpalan platelet. Dalam waktu 20 detik sejak terjadinya luka, proses koagulasi pun dimulai. Proses penggumpalan ini dimulai dari dengan melekatnya platelet pada kolagen lalu platelet tersebut menjadi aktif. Platelet yang sudah aktif tersebut kemudian melepaskan granula, yang mengandung beberapa substansi yang berperan dalam menstimulasi aktivasi platelet lebih lanjut dan mempercepat proses hemostatis. Sedangkan tahap ketiga adalah pembentukan gumpalan darah. Tahap ini terjadi jika gumpalan platelet yang sudah terbentuk tidak cukup untuk menghentikan terjadinya pendarahan. Mula-mula darah yang semula berbentuk cair berubah menjadi gel. Kurang lebih sebanyak 12 substansi yang disebut sebagai *clotting faktor* berperan dalam proses ini. Dari

kedua belas faktor tersebut ada tiga faktor yang berperan penting yaitu protrombin, trombin, dan fibrinogen. Ketika pembuluh darah terluka, maka pembuluh darah dan platelet yang berada di daerah sekitarnya melepaskan *prothrombin activator*, yang mengaktifkan konversi protrombin, plasma protein, menjadi enzim yang disebut trombin. Trombin ini kemudian akan mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Benang-benang fibrin kemudian berputar mengelilingi gumpalan platelet pada daerah pembuluh darah yang terluka, membentuk jaring-jaring. Jaring ini berfungsi untuk menahan dan membantu platelet, sel darah, dan komponen lainnya melekat pada lokasi tempat terjadinya luka. Platelet yang sudah berbentuk gumpalan kemudian mulai menyusut untuk mempersempit gumpalan yang sudah terbentuk sehingga aliran darah dapat berhenti (Young, 2002).

Berdasarkan hasil pengamatan, penggunaan obat perbandingan (aspirin) juga menunjukkan adanya aktivitas penghambatan jumlah platelet. Kemampuan aspirin dalam menurunkan jumlah platelet ini disebabkan karena sifatnya yang mampu menghambat aktivitas *cyclooxygenase* arakidonat di dalam platelet, sehingga mampu menurunkan jumlah produksi *thromboxane A₂* (TXA₂) dan penendalian dari platelet. Proses penggumpalan platelet ini bermula dari adanya enzim fosfolipase A₂ di dalam

fosfolipid menjadi asam arakidonat. Asam arakidonat kemudian diubah oleh *cyclo-oxygenase* menjadi *cyclic endoperoxides*. *Cyclic endoperoxides* kemudian diubah menjadi *prostacyclin* (berada di saluran endothelium) dan *thromboxane A₂* (berada di dalam platelet). *Prostacyclin* berperan dalam menghambat agregasi platelet, sedangkan *thromboxane A₂* berperan dalam membantu terjadinya agregasi platelet. Proses kerja *thromboxane A₂* inilah yang dihambat oleh aspirin sehingga proses penggumpalan platelet dapat dicegah (Pawar, *et al*, 1998).

SIMPULAN

Pemberian pemberian fraksi kacang koro dosis 1 sebanyak 500 µg/g BB paling efektif dalam menekan peningkatan jumlah platelet. Hal ini dikarenakan dosis 1 tersebut memiliki aktivitas antioksidan tertinggi yaitu sebesar 16,78 % dibandingkan dengan aktivitas antioksidan pada fraksi lainnya.

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional (Nomor : 182/SP2H/PP/DP2M/III/2008) sehingga penelitian ini bisa terlaksana melalui dana Hibah Bersaing. Kami juga mengucapkan terimakasih kepada Ibu Christina Astutiningsih, S.Si, Apt yang banyak

memberikan dukungan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Fellows, P. (2000). Food Processing Technology Principle and Practice. England. Woodhead Publishing Limited.
- Harrison, C. N. (2005). Platelets and Thrombosis in Myeloproliferative Disease. <http://asheducationbook.hematologylibrary.org/cgi/content/full/2005/1/409>.
- Janssen, K., Ronald P Mensink, Frank J.J. Cox, Jan L Harryvan, Robert Hovenier, Peter CH Hollman, and Martijn B Katan. (1998). Effects of the flavonoids quercetin and apigenin on hemostasis in healthy volunteers: results from an in vitro and a dietary supplement study¹⁻³. The American Journal of Clinical Nutrition 67: 255-62.
- Levin, J., Laurence Cocault, Corinne Demerens, Ce'cile Challier, Miche'le Pauchard, Jacques Caen, and Miche'le Souyri. (2001). *Thrombocytopenic c-^{mpl}²² wistar rats can produce a normal level of platelets after administration of 5-fluorouracil: the effect of age on the response*. The American Society of Hematology. Vol. 98: 1019-1027.
- Middleton, E., C. Kandaswami, and T. C. Theoharides. (2000). The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells : Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer 52: 673-751.
- Miean, K.H. and S. Mohamed. (2001). Flavonoid (Myricetin, Quercetin, Kaempferol, Luteolin, and Apigenin) Content of Edible Tropical Plants. Journal Agricultural Food Chemistry. Vol. 49, No.6. Page 3106-3112.
- Nettleton, J. A. (1995). Omega-3, Fatty Acids, and Health. England. Chapman & Hall.
- Nugroho, P. A. (2008). Pengukuran Aktivitas Antioksidan, Kandungan Asam Fitat, dan Asam Sianida dalam Biji, Ekstrak, dan Fraksi Biji Koro

