

UJI AKTIVITAS ANTIPLATELET FRAKSI N-HEKSANA, KLOOROFORM, DAN ETANOL DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L) IN VITRO

Ichlasul Amalia Erfani, Endah Puspitasari, Indah Yulia Ningsih
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Email: ichlasulamaliae@gmail.com

Abstrak

Gangguan trombosis seperti penyumbatan pembuluh darah dan infark miokard maupun serebral merupakan penyakit fatal yang terkait dengan pembekuan darah. Terapi yang selama ini digunakan memiliki efek samping yang serius, sehingga diperlukan penelitian untuk mencari agen antiplatelet alami yang lebih aman. Senyawa yang ada di dalam belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebelumnya telah dilaporkan memiliki aktivitas antitrombosis. Aktivitas yang telah diteliti salah satunya sebagai antitrombosis yang meliputi aktivitas antiplatelet dari ekstrak daun, aktivitas antikoagulan dari ekstrak daun dan buah, serta aktivitas trombolitik dari ekstrak kulit batang. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada berbagai konsentrasi ekstrak yaitu 0,25 mg/mL; 0,5 mg/mL; 1 mg/mL; dan 2 mg/mL. Uji aktivitas antiplatelet dilakukan dengan induksi ADP untuk mengetahui penurunan serapan plasma dalam pembentukan agregasi platelet. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas. Aktivitas antiplatelet tertinggi ditunjukkan oleh konsentrasi fraksi etanol 2 mg/ml.

Kata Kunci: antiplatelet, induksi ADP, fraksi n-heksana, fraksi kloroform, fraksi etanol, daun belimbing wuluh

I. PENDAHULUAN

Hemostasis merupakan proses penghentian pendarahan secara spontan pada pembuluh darah yang luka. Faktor-faktor pembuluh darah yang berperan dalam proses tersebut adalah trombosit (platelet), trombolisis, dan faktor pembekuan darah (koagulan). Pembuluh darah pada proses ini akan mengalami vasokonstriksi, platelet akan beragregasi membentuk sumbat platelet pada sisi yang luka. Sistem agregasi platelet dan koagulasi terjadi secara alami dalam kondisi normal tubuh apabila terjadi luka (Dewoto, 2007).

Trombus merupakan bekuan darah yang dapat terbentuk pada sistem peredaran darah akibat hemostatik yang tidak normal yang dapat menyebabkan penyumbatan pembuluh

darah dan infark miokard maupun serebral (Grice *et al.*, 2010). Trombosis dapat terjadi di sirkulasi arteri atau vena. Trombosis pada arteri terjadi karena terdapat plak aterosklerosis yang dapat memicu terjadinya serangan jantung dan *stroke*. Trombosis pada vena terjadi karena adanya gangguan pembuluh darah, emboli paru, dan sering terjadi setelah serangan jantung dan *stroke* (Gross & Weitz, 2009).

Data statistik WHO dalam laporan kesehatan dunia tahun 2008 diperkirakan sebanyak 17,3 juta kematian disebabkan oleh penyakit kardiovaskuler. Pada tahun 2013 prevalensi penyakit jantung koroner di Indonesia diperkirakan sebesar 0,5% atau sekitar 883.447 orang, sehingga untuk mengurangi kemungkinan terjadinya risiko ACS maka diberikan terapi farmakologi (WHO, 2014).

Belimbing wuluh atau *Averrhoa bilimbi* L. (Fam. Oxalidaceae) merupakan kerabat dekat dari belimbing pada umumnya (*A. carambola*), namun memiliki perbedaan dalam morfologi, rasa, dan penggunaan atau manfaatnya. Tanaman yang berasal dari Indonesia dan Malaysia ini tersebar serta menjadi tanaman eksotis di beberapa negara.

Belimbing wuluh dapat dikonsumsi sebagai bahan tambahan makanan dan tidak sedikit manfaat tanaman belimbing wuluh yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan karena memiliki beberapa aktivitas. Salah satu aktivitas yang pernah diteliti dari belimbing wuluh yaitu antitrombosis meliputi antiplatelet pada ekstrak daun (Yuliet *et al.*, 2014), antikoagulan pada ekstrak daun dan buah (Daud *et al.*, 2013) trombolitik pada ekstrak kulit batang (Siddique *et al.*, 2013), serta antiplatelet pada fraksi n-heksana kulit batang (Lubis, 2015).

Penelitian terhadap hasil ekstrak etanol total daun belimbing wuluh pada konsentrasi 2 mg/mL menghasilkan persen agregasi platelet $13,114 \pm 0,915$ % dan memiliki persentase inhibisi platelet yang tinggi 78,56 % (Inayah, 2015). Namun, belum dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antiplatelet pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh. Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas antiplatelet fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun belimbing wuluh yang diperoleh di daerah kampus Universitas Jember, Kecamatan Sumbersari, Kabupaten Jember pada bulan Maret 2015, etanol 80%, akuades, DMSO, natrium sitrat (Brataco), n-heksana p.a (Smartlab), kloroform p.a (Smartlab), asetosal (Merck), pereaksi ADP (Sigma-Aldrich), tabung mikrosentrifus.

B. Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator* (Heidolph Laborata 4000), mikropipet (Socorex), alat sentrifugasi (Hettich Zentrifuge EBA 20), neraca analit digital (Pioneer), peralatan untuk mengambil darah, *ultrasonic homogenizer* (Elmasonic), dan spektrofotometer visible (Labomed UVD-2950).

C. Prosedur Kerja

Jenis penelitian yang dilakukan adalah *true experimental laboratories* menggunakan model rancangan *post test only control group design* yang dilaksanakan di Laboratorium Biomedik dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada penelitian ini dibuat menggunakan metode Inayah (2015), dengan beberapa modifikasi. Daun belimbing wuluh dibersihkan, dikeringkan, dan dibuat serbuk hingga diperoleh sejumlah 300 gram. Serbuk kering diekstraksi menggunakan maserator dengan pelarut etanol 80% 4L. Hasil ekstraksi dipekatkan hingga didapat 86,435 gram ekstrak kental, lalu ditambahkan akuades hangat dan etanol 96% dengan perbandingan (1:1) kemudian dituang ke dalam corong pisah. Selanjutnya dipisahkan dengan n-heksana (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair n-heksana kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase cair etanol:akuades dipisahkan dengan n-heksana yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cair n-heksana dan fase cair etanol:akuades. Fase cair etanol:akuades selanjutnya dipisahkan dengan kloroform (1:1). Campuran didiamkan beberapa saat sampai terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah. Lapisan fase cair kloroform kemudian dipisahkan dan ditampung. Fase

cairetanol:akuades dipisahkan dengan kloroform yang baru sebanyak volume sama sebanyak 3x replikasi. Fase yang diperoleh adalah fase cairkloroform dan fase cair etanol:akuades. Fase cairn-heksana, kloroform, dan etanol:akuades yang didapat kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan oven menghasilkan fraksi kental n-heksana, kloroform, dan etanol. Fraksi kental yang dihasilkan ditimbang dan disimpan pada wadah tertutup rapat pada suhu (0-4)°C. Ketiga fraksi kemudian disuspensikan dalam 0,5% DMSO dalam akuades hingga konsentrasinya menjadi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml.

PPP (*Platelet rich plasma*) diperoleh dengan cara darah disentrifugasi selama 15 menit pada 1000 rpm, lapisan plasma atas dipisahkan secara hati-hati dan dipindahkan ke tabung mikrosentrifuse, kemudian serum di sentrifugasikembali selama 15 menit pada 3000rpm didapatkan *Platelet poor plasma* (PPP) sebagai blanko. Untuk menjamin jumlah platelet tetap konstan, pengujian harus diselesaikan 3 jam setelah pengambilan darah (Jantan *et al.*, 2011).

Sampel uji yang telah disiapkan dalam konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/mL serta konsentrasi kontrol positif dipipet dengan mikropipet sebanyak 100 µl, kemudian tambahkan masing-masing ke dalam 500 µl *platelet preparation* dalam tabung mikrosentrifus. Masing-masing tabung dihomogenkan dengan *vortex* kurang lebih 3 menit. Serapan sampel pengujian diukur pada panjang gelombang 600 nm sebelum dan sesudah ditambah reagen ADP 20 µl (Vogel, 2002). Setelah ditambahkan ADP, sampel uji diinkubasi selama 20 menit dengan suhu 37°C. Serapan plasma diukur kembali pada panjang gelombang yang sama. Kemudian persentase agregasi platelet dan inhibisi dihitung dengan rumus pada Persamaan 1 dan 2.

$$\text{agregasi platelet} = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100\% \dots \quad (\text{Persamaan 1})$$

dengan: A= absorbansi setelah penambahan ADP;

B= absorbansi sebelum penambahan ADP

$$\text{Inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \dots \quad (\text{Persamaan 2})$$

dengan: A = persen agregasi kontrol negatif;

B = persen agregasi sampel

Uji aktivitas antiplatelet dilakukan terhadap PRP yang telah dipreparasi dan diberi fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml. Kontrol positif digunakan asetosal dan 0,5% DMSO dalam akuades dengan konsentrasi 1 mg/ml, sedangkan kontrol negatif hanya ditambahkan 0,5% DMSO dalam akuades. Ketiga kelompok sampel tersebut diuji aktivitas antiplatelet. Hasil uji dianalisis statistik menggunakan Kruskal wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrakkental etanol kulit daun belimbing wuluh yang dihasilkan dari proses ekstraksi didapatkan sebanyak 86,435 gram. Rendemen yang diperoleh dari proses tersebut adalah sebesar 28,81%. Berat fraksi yang dihasilkan seperti yang tertera dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil berat fraksi kental dan rendemen daun belimbing wuluh

Fraksi	Berat fraksi kental (gram)	Rendemen (%)
n-heksana	3,970	4,593
kloroform	2,320	2,684
etanol	66,84	77,330

Uji aktivitas antiplatelet *in vitro* menunjukkan adanya penurunan serapan plasma PRP setelah diberikan induksi ADP pada kelompok kontrol positif (asetosal 1 mg/ml dengan 0,5% DMSO), kelompok kontrol negatif (0,5% DMSO dalam akuades), dan kelompok uji fraksi kental n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh pada konsentrasi 0,25; 0,5; 1; dan 2 mg/ml. Tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet tinggi, yaitu pertama konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi n-heksana sebesar $37,011 \pm 0,841\%$; kedua konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi kloroform sebesar $35,286 \pm 0,814\%$; ketiga konsentrasi 0,25 mg/mL fraksi etanol sebesar $30,031 \pm 0,566\%$. Tiga tingkatan konsentrasi yang memiliki nilai agregasi platelet rendah, di antaranya pertama pada konsentrasi 2 mg/mL fraksi etanol sebesar $8,358 \pm 1,276\%$; kedua konsentrasi 2 mg/mL fraksi kloroform sebesar $12,267 \pm 1,217\%$, konsentrasi 2 mg/mL fraksi n-

heksana sebesar $13,584 \pm 1,179\%$, dan konsentrasi 1 mg/mL fraksi etanol sebesar $14,864 \pm 0,697\%$; ketiga pada konsentrasi 1 mg/mL fraksi kloroform $18,375 \pm 0,878\%$ dapat terlihat pada Tabel 2.

Pemberian fraksi n-heksana 0,25 mg/mL menghasilkan presentase agregasi tertinggi yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $37,011 \pm 0,841\%$ dibandingkan dengan hasil agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasi yang sama, tetapi lebih rendah jika dibandingkan dengan hasil dari nilai agregasi kontrol negatif yaitu $49,058 \pm 3,815\%$. Sedangkan pada pemberian fraksi etanol 2 mg/mL menunjukkan presentase agregasi terendah yang terjadi pada PRP yaitu sebesar $8,358 \pm 1,276\%$ jika dibandingkan dengan presentase agregasi platelet pada fraksi lainnya dengan konsentrasinya yang sama, dan jika dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar $5,447 \pm 1,219\%$ (Tabel 2).

Hasil analisis menggunakan fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol pada beberapa konsentrasi menunjukkan hasil yang normal tetapi tidak homogen, sehingga dilakukan pengujian menggunakan Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai $p=0,000$ ($p<0,05$). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan pengujian Post Hoc dengan Mann-Whitney. Kelompok fraksi etanol 2 mg/ml juga terlihat berbeda bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, namun hasil uji aktivitas antiplatelet asetosal dengan 0,5% DMSO dalam akuades sebagai kontrol positif lebih tinggi, yang menunjukkan bahwa asetosal lebih poten sebagai antiplatelet.

Agregasi platelet merupakan kemampuan platelet untuk saling melekat satu sama lain dalam membentuk sumbat (Despopoulos & Silbemagl, 2003). Pada penelitian ini agregasi dipicu dengan penambahan agonis ADP. Pengamatan pada penurunan serapan plasma dilakukan dengan melihat aktivitas platelet sebelum dan setelah pemberian larutan ADP. Induksi menggunakan ADP menyebabkan platelet teraktivasi. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelial pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granul yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain (Yulinah *et al.*, 2008). Pengikatan ADP pada membran platelet dapat mengaktifkan enzim fosfolipase, menghidrolisis

fosfolipid untuk menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat diubah oleh enzim siklooksigenase untuk membentuk prostaglandin, yang kemudian akan diubah lagi menjadi tromboksan A2 oleh tromboksan sintetase. Tromboksan A2 merupakan penginduksi terjadinya agregasi platelet.

Tabel 2. Agregasi platelet pada fraksi daun belimbing wuluh dengan konsentrasi yang berbeda.

Kelompok	Konsentrasi	Agregasi Platelet (%)	Inhibisi Platelet (%)
Kontrol negatif		49,058 ± 3,815 ^a	
Fraksi n-heksana	0,25 mg/mL	37,011 ± 0,841 ^b	24,556
	0,5 mg/mL	29,017 ± 0,839 ^c	40,852
	1 mg/mL	20,544 ± 1,094 ^d	58,103
	2 mg/mL	13,584 ± 1,179 ^e	72,310
Fraksi kloroform	0,25 mg/mL	35,286 ± 0,814 ^f	28,073
	0,5 mg/mL	26,177 ± 0,729 ^g	46,641
	1 mg/mL	18,375 ± 0,878 ^h	62,544
	2 mg/mL	12,267 ± 1,217 ^e	74,995
Fraksi etanol	0,25 mg/mL	30,031 ± 0,566 ⁱ	38,785
	0,5 mg/mL	20,109 ± 1,259 ^d	59,009
	1 mg/mL	14,864 ± 0,697 ^e	69,701
	2 mg/mL	8,358 ± 1,276 ^j	82,963
Kontrol positif		5,447 ± 1,219 ^k	88,897

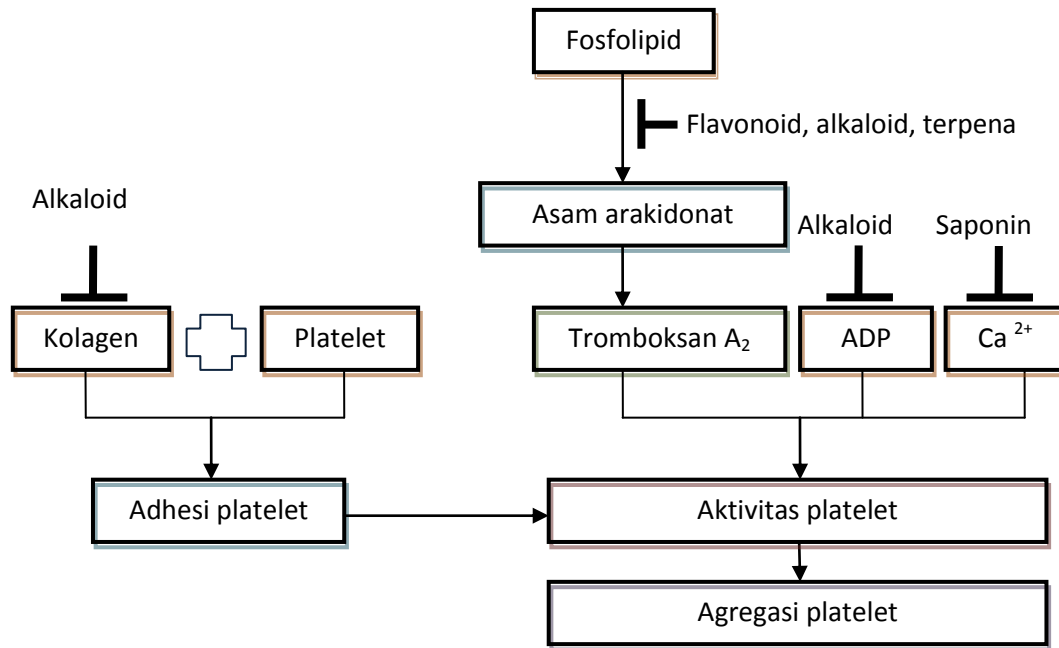
Data disajikan dengan rata-rata agregasi platelet ± SD. Notasi huruf yang berbeda menunjukkan nilai agregasi platelet yang berbeda bermakna menurut uji Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Aktivitas antiplatelet tertinggi terjadi dengan penambahan fraksi etanol 2 mg/mL, yaitu persen agregasinya mencapai 8,358 ± 1,276% dan persen inhibisinya mencapai 82,963%, namun aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan penggunaan kontrol positif (asetosal 1 mg/mL), yang memiliki persen agregasi sebesar 5,447 ± 1,219% dan persen inhibisinya mencapai 88,897%. Penelitian yang dilakukan oleh Inayah (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun belimbing wuluh 2 mg/mL memiliki presentase inhibisi sebesar 78,56%. Fraksi etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet lebih besar daripada ekstrak etanol daun belimbing wuluh.

Penelitian yang dilakukan oleh Lubis (2015) menunjukkan fraksi n-heksana kulit batang belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet terbesar terjadi pada konsentrasi 2 mg/mL, dengan persen agregasi platelet terkecil yaitu $9,490 \pm 0,179\%$ memiliki presentase inhibisi 82,721%. Hal ini menunjukkan bahwa lebih dari satu bagian tanaman belimbing wuluh dapat memberikan aktivitas antiplatelet. Beberapa tanaman selain belimbing wuluh yang memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan untuk obat antitrombosis atau antiplatelet di antaranya *Garcinia* sp. (Jantan *et al.*, 2011) kubis merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) (Putri *et al.*, 2014) dan bawang putih (*Allium sativum*) (Arifin, 2004).

Senyawa yang berperan dalam aktivitas antiplatelet pada fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh belum diketahui secara pasti, namun diduga aktivitas yang berperan sebagai antiplatelet pada tumbuhan belimbing wuluh berasal dari golongan senyawa, di antaranya flavonoid, alkaloid, terpena, saponin. Golongan senyawa flavonoid dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat sintesis asam arakidonat (Middleton *et al.*, 2000), yang menyebabkan sintesis tromboksan A₂ terhambat sehingga agregasi platelet menjadi terhambat (Morimitsu *et al.*, 2000), begitu juga dengan golongan senyawa terpena yang bekerja menghambat produksi asam arakidonat (Xu *et al.*, 2013). Senyawa alkaloid dapat menghambat sintesis asam arakidonat, kolagen serta ADP yang dapat menginduksi terjadinya agregasi platelet (Jantan *et al.*, 2011) (Gambar 1).

Pada keadaan normal kolagen akan berikatan dengan platelet dan menyebabkan adhesi platelet. Platelet yang telah mengalami adhesi selanjutnya dapat mengalami aktivasi. Proses aktivasi platelet dimediasi oleh tromboksan A₂ serta ADP. Tromboksan A₂ akan meningkatkan vasokonstriksi dan kontraksi platelet sehingga aliran darah melambat. ADP akan meningkatkan aktivasi platelet sehingga menarik dan mengaktivasi lebih banyak platelet. Platelet yang aktif (berubah bentuk) akan mudah teragregasi (Despopoulos & Silbemagl, 2003). Aktivitas antiplatelet saponin karena senyawa ini dapat menghambat aksi dari ion kalsium (Lee *et al.*, 2005), pada peristiwa agregasi platelet ion kalsium berperan sebagai promotor vasokonstriksi pada pembuluh darah (Grince *et al.*, 2010).



Gambar 1. Mekanisme golongan senyawa sebagai antiplatelet

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa fraksi n-heksana, kloroform, dan etanol daun belimbing wuluh memiliki aktivitas antiplatelet. Beberapa saran yang dapat dilakukan pada penelitian selanjutnya adalah dilakukannya identifikasi dan pemisahan senyawa fitokima atau isolasi terhadap fraksi n-heksan, kloroform dan etanol daun belimbing wuluh dan dilakukan pengembangan aktivitas antiplatelet.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, S. 2004. Aktivitas Fibrinolisis Jus Bawang Putih (*Allium Sativum*) pada Tikus Wistar yang Dipapar Asam Traneksamat. Jember: Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Jember.
- Daud N, Hashim H, Samsulrizal N. 2013. Anticoagulant Activity of *Averrhoa bilimbi* Linn in Normal and Alloxan-induced Diabeti Rats. Open Conf Proc J. 4: 21-26.
- Despopoulos, A., Silbernagl, S. 2003. Color Atlas of Physiology. 5th Edition. New York: Stuttgart.

- Dewoto, H. R. 2007. Antikoagulan, Antitrombotik, Trombolitik, dan Hemostatik. Dalam Gunawan, Setiabudy, Nafrialdi, dan Elysabeth (Ed.). Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Badan Penerbit FKUI.
- Grice, D., Rogers, K. L., Griffith, L.R. 2010. Isolation of Bioactive Compounds that Relate to The Anti-Platelet Activity of *Cymbopogon ambiguus*. eCAM Advance Access.10: 1-8.
- Gross, P. L., Weitz, J. L. 2009. New Antithrombotic Drugs. Clinical Pharmacology & Therapeutics.86: 139-146.
- Inayah P. W. 2015. Uji Aktivitas Antiplatelet, Antikoagulan, dan Trombolisis Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) in vitro. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Jantan I, Jumuddin FA, Saputri FC, Rahman K. 2011. Inhibition Effects of The Extracts of *Garcinia* Species on Human Low-density Lipoprotein Peroxidation and Platelet Agregation in Relation to Their Total Phenolic Contents. J Med Plant Res. 5(13): 2699-2709.
- Lee, J.H., Jeong, S.M., Lee, B.H. 2005. Effect of Calmodulin on Ginseng Saponin-Induced Ca²⁺-Activated Cl⁻ Channel Activation in *Xenopus Laevis* Oocytes. Archive Pharmacy Research.28: 413–20.
- Lubis, A. N. 2015. Uji Aktivitas *in vitro* Antiplatelet dan Antikoagulan Fraksi n-Heksana Kulit Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L). Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Middleton, E., Chithan, K., Theoharis, C. T. 2000. The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 52 (4): 673-751.
- Morimitsu, Y., Hayashi, K., Nakagawa, Y., Fujii, H., Horio, F., Uchida, K., Osawa, T. 2000. Antiplatelet and Anticancer Isothiocyanates in Japanese Domestic Horseradish, Wasabi. Mechanism of Ageing Development. 116 (2-3): 125-134.
- Putri, R. R. R. F, Ulfa, E. U., Riyanti, R. 2014. Uji Aktivitas Antiplatelet Ekstrak Etanol Kubis Merah (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). e-JurnalPustaka Kesehatan. 2 (1): 111-114.
- Siddique KI, Uddin MMN, Islam MS, Parvin S, Shahriar M. 2013. Phytochemical Screenings, Thrombolytic Activity and Antimicrobial Properties of The Bark Extracts of *Averrhoa bilimbi*. J App Pharm Sci. 3(03): 94-96.

- Vogel, H. G. (Ed.).2002.Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays. 2ndEdition. Berlin: Springer.
- World Health Organization. 2014. Noncommunicable Diseases Country Profiles 2014. Switzerland: WHO.
- Xu, K., Wang, P., Yuan, B., Cheng, Y., Li, X., Lei, H. 2013. Structural and Bioactive Studies of Terpenes and Cyclopeptides from The Genus *Rubia*. Chemistry Central Journal. 7: 81.
- Yuliet, Yusriadi, Risah. 2014. Aktivitas Anti Agregasi Platelet Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*, L) pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami (SPBOA)XVI & Muktamar XII PERHIPBA. 102-110.
- Yulinah S .E., Joseph I. S, Nurul F. 2008.Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Sunti Val.) dan Kombinasinya pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. JKM.7 (2): 1-18.