

Potensi Zat Kumarin Pada Kacang Tonka Sebagai Antikoagulan Alternatif Pada Pemeriksaan Hematologi Rutin

The Potential of Coumarin in Tonka Beans as an Alternative Anticoagulant in Routine Hematology Tests

Bastian, Desika, Viola, Felisa, Juwy Trianes

DIV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Vokasi, Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang, Sumatera Selatan, Indonesia

*bastiandarwin51@gmail.com: 081369141311

ABSTRACT

*Coagulation is a vital physiological process responsible for preventing excessive bleeding; however, abnormal or excessive coagulation activity can lead to pathological conditions such as thrombosis. In hematology testing, the use of anticoagulants is essential to prevent clot formation and ensure valid laboratory results. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) is widely used as the standard anticoagulant due to its ability to chelate calcium ions. Growing demand for environmentally friendly natural alternatives has encouraged exploration of plant-derived compounds, including coumarins found in Tonka beans (*Dipteryx odorata*), which possess anticoagulant properties similar to warfarin. This study aimed to evaluate the potential of Tonka bean extract as an alternative anticoagulant for routine hematology examinations. The research was conducted at the Clinical Pathology Laboratory of Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang from July to October 2025 using an experimental design with three groups: a control group without anticoagulants, an EDTA group, and Tonka bean extract at varying concentrations. Results showed that 120 µL of Tonka bean extract effectively prevented blood clotting within 5 minutes, comparable to EDTA. Microscopically, erythrocytes retained normal morphology with no agglutination. Hematology parameters (WBC, RBC, HGB, HCT, and PLT) were similar to EDTA values, differing only by 2–8%. Repeated ANOVA indicated a significant difference in WBC ($p < 0.05$), while other parameters remained comparable. These findings suggest that Tonka bean extract has promising potential as a natural anticoagulant, though further optimization and standardization studies are required for routine hematology use.*

Keywords : Tonka beans, coagulase, coumarin

ABSTRAK

Koagulasi merupakan proses fisiologis yang berperan penting dalam menghentikan perdarahan, namun aktivitas yang berlebihan dapat memicu kondisi patologis seperti trombosis. Dalam pemeriksaan hematologi, penggunaan antikoagulan esensial untuk mencegah pembekuan darah sehingga hasil pemeriksaan tetap akurat. EDTA umum digunakan sebagai antikoagulan standar melalui mekanisme pengikatan ion kalsium. Seiring meningkatnya kebutuhan alternatif alami yang lebih ramah lingkungan, penelitian terhadap senyawa kumarin pada kacang Tonka (*Dipteryx odorata*), yang diketahui memiliki aktivitas antikoagulan mirip warfarin, menjadi menarik untuk dikembangkan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi ekstrak kacang Tonka sebagai antikoagulan alternatif pada pemeriksaan hematologi rutin. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang pada Juli–Oktober 2025 menggunakan desain eksperimental dengan tiga kelompok: kontrol tanpa antikoagulan, EDTA, dan ekstrak kacang Tonka dengan variasi konsentrasi. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak kacang Tonka 120 µL mampu mencegah pembekuan darah dalam 5 menit, sebanding dengan EDTA. Secara mikroskopis, morfologi eritrosit tetap normal tanpa aglutinasi. Pemeriksaan hematologi menunjukkan nilai WBC, RBC, HGB, HCT, dan PLT mendekati EDTA dengan selisih 2–8%. Uji Repeated ANOVA menunjukkan perbedaan bermakna pada WBC ($p < 0,05$), sementara parameter lain relatif serupa. Penelitian ini menyimpulkan bahwa ekstrak kacang Tonka berpotensi sebagai antikoagulan alami, namun diperlukan optimasi konsentrasi dan uji lanjutan untuk standarisasi penggunaan dalam pemeriksaan hematologi rutin.

Kata kunci : Kacang Tonka, Koagulase, Zat Kumarin

PENDAHULUAN

Koagulasi atau proses pembekuan darah merupakan proses alami yang sangat penting dalam tubuh manusia untuk menghentikan pendarahan ketika terjadi luka (Chen *et al.* 2025). Dengan demikian, apabila pembekuan darah berlangsung secara abnormal atau terjadi di tempat yang tidak seharusnya, maka akan menimbulkan gangguan kesehatan yang serius seperti trombosis dan emboli. Dalam kondisi ini maka antikoagulan sangat diperlukan untuk praktik medis saat ini (Hara *et al.* 2025).

Antikoagulan merupakan zat yang berfungsi mencegah darah membeku, baik dengan cara mengikat kalsium maupun menghambat terbentuknya trombin yang berperan dalam konversi fibrinogen menjadi fibrin dalam proses koagulasi. Penggunaan antikoagulan sangat penting saat mengambil sampel darah lengkap (*whole blood*) atau plasma untuk analisis hematologi (Lindgaard *et al.* 2025). Antikoagulan EDTA memiliki beberapa kekurangan yang perlu diperhatikan dalam penggunaan laboratorium. EDTA tidak cocok untuk pemeriksaan koagulasi karena mengikat kalsium secara kuat, sehingga dapat menghasilkan hasil yang tidak akurat pada PT, aPTT, dan pemeriksaan hemostasis lainnya (Hönische *et al.* 2025; Yusoff *et al.* 2025).

Faktor lainnya pada tabun EDTA dapat menyebabkan penyusutan sel darah jika sampel dibiarkan terlalu lama, yang berpengaruh pada nilai MCV dan morfologi eritrosit. Pada beberapa pasien, EDTA juga dapat memicu agregasi trombosit (*pseudotrombositopenia*), sehingga jumlah trombosit tampak lebih rendah dari sebenarnya. Oleh karena itu, darah harus diambil menggunakan tabung yang telah mengandung antikoagulan guna menjaga agar tetap dalam kondisi cair. Meski begitu, perlu diperhatikan bahwa pencampuran darah dengan antikoagulan harus dilakukan secara merata untuk menjaga konsistensi hasil pemeriksaan. Sehingga diperlukan efektivitas dari bahan alami untuk pencegahan pembekuan (M. Alektiar *et al.* 2024; Poland *et al.* 2025).

Indonesia termasuk salah satu negara yang memiliki kekayaan hayati yang tinggi, terutama dalam hal keanekaragaman tumbuhan (Imaduddin *et al.* 2025). Tumbuhan dikenal memiliki manfaat dalam bidang kesehatan karena mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder dari tanaman tersebut. Salah satu jenis metabolit sekunder yang umum ditemukan pada tumbuhan adalah kumarin (Zhu *et al.* 2025). Senyawa ini tersebar luas dan dapat ditemukan pada berbagai bagian tumbuhan, seperti akar, batang, daun, bunga, hingga buah. (Pratiwi *et al.*, 2021). Kumarin adalah senyawa fenilpropanoid sederhana yang memiliki struktur cincin benzene C-6 yang terhubung dengan rantai alifatik C-3, dan memiliki rumus molekul C₉H₆O₂. *Coumarin* adalah produk alami nabati yang pertama kali berasal dari *Dipteryx odorantadan* kacang tonka (Begmuratovna *et al.* 2025). Senyawa ini juga dikenal sebagai *Coumaroudan* ada banyak kumarin alami yang diisolasi dari tanaman, jamur, bakteri, dan sintesis kimia. *Coumarin* digunakan untuk mensintesis agen antivirus (Yuzhi Hu *et al.* 2025). Kumarin juga digunakan sebagai salah satu obat anti pembekuan darah (antikoagulan warfarin) yang berfungsi mencegah adanya trombosis sehingga tidak terbentuk sumbatan pada pembuluh darah. Untuk memperpanjang waktu perdarahan dapat digunakan warfarin sebagai obat antikoagulan yang mencegah tromboemboli (Ibrahim *et al.* 2024).

Penelitian Begmuratovna *et al.* (2024) melaporkan bahwa kumarin merupakan senyawa alami yang pertama kali diisolasi dari kacang tonka (*Dipteryx odorata*) dan telah diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk kemampuan sebagai antikoagulan. Meskipun penelitian ini lebih berfokus pada aktivitas *hepatoprotektif kumarin* terhadap hepatitis, penyebutan kacang tonka sebagai sumber kumarin memperkuat potensi penggunaannya sebagai alternatif antikoagulan alami dari tanaman.

Penelitian kumarin pada kacang tonka sebagai antikoagulan alami penting untuk mendukung pemanfaatan sumber daya lokal yang belum banyak digunakan. Zat ini berpotensi menggantikan antikoagulan impor dalam pemeriksaan hematologi rutin. Inovasi ini sejalan dengan asta cita, yang mendorong kemandirian kesehatan nasional melalui pengembangan bahan lokal, pengurangan impor, serta pemerataan akses layanan diagnostik yang lebih terjangkau bagi seluruh masyarakat.

METODE

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium dengan pendekatan *post-test only control group design*, yang melibatkan tiga kelompok perlakuan untuk pengamatan secara visual dan mikroskopis, yaitu 10 sampel kontrol (tanpa antikoagulan), 10 sampel perlakuan dengan EDTA sebagai antikoagulan standar, dan 10 sampel perlakuan dengan ekstrak kacang Tonka (mengandung senyawa kumarin) dalam variasi konsentrasi. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Vokasi Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang, yang beralamat di Jalan Jenderal Ahmad Yani 13 Ulu, Kecamatan Seberang Ulu II, Kota Palembang, Sumatera Selatan 30262. Waktu pelaksanaan penelitian dimulai Juli - Oktober 2025.

Jumlah dan cara pengambilan subjek

Bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu kacang Tonka (*Dipteryx odorata*) sebagai bahan utama sumber senyawa kumarin yang dilakukan pembuatan ekstraksi dengan metode macerasi dengan konsentrasi 80%, 100%, 120%, dan 140% dengan dilarutkan menggunakan etanol 90% sebagai pelarut ekstraksi, sampel darah manusia sebagai bahan uji, serta reagen Giemsa dan oil imersi untuk pemeriksaan mikroskopis morfologi eritrosit. Peralatan yang digunakan mencakup batang pengaduk, botol kaca besar, beaker glass, corong kaca, kertas saring, saringan tepung, mortar, blender, mikropipet dengan yellow tip, mikroskop, objek glass, rak tabung reaksi, spuit 3 ml/cc, stopwatch, timbangan digital, tabung reaksi, tourniquet, tabung EDTA, serta rotary evaporator untuk proses pemekatan ekstrak.

Jenis dan Cara Pengumpulan Data /Langkah-Langkah Penelitian

Tahapan penelitian diawali dengan pembuatan ekstrak kacang Tonka menggunakan metode macerasi dengan pelarut etanol 90%. Kacang Tonka kering dihaluskan menggunakan blender, kemudian direndam dalam etanol selama 3×24 jam sambil sesekali diaduk. Filtrat hasil macerasi disaring menggunakan kertas saring dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Tahap berikutnya adalah perlakuan terhadap sampel darah. Sampel darah diambil menggunakan spuit 3 ml dan dibagi ke dalam tiga tabung, masing-masing untuk:

- (1) Tabung 1 (Kontrol): darah tanpa tambahan apapun,
- (2) Tabung 2 (Perlakuan): darah ditambahkan ekstrak kacang Tonka dengan variasi konsentrasi 80%, 100%, 120%, dan 140%
- (3) Tabung 3 (Standar): darah ditambahkan EDTA sebagai pembanding antikoagulan standar. Setelah perlakuan, dilakukan pengamatan waktu pembekuan darah secara visual menggunakan stopwatch, serta pembuatan preparat apusan darah tepi dari tabung EDTA dan ekstrak kacang Tonka untuk diamati secara mikroskopis. Pengamatan mikroskopis dengan perbesaran 400x dilakukan setelah pewarnaan Giemsa untuk menilai morfologi eritrosit dan adanya aglutinasi.



Gambar 1. Prosedur Kerja Pembuatan Preparat Untuk Pembacaan Eritrosit Secara Mikroskopis

Etical Clearance

Penelitian ini telah memperoleh persetujuan etik dengan Kode Etik Nomor 004670/KEP Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang Tahun 2025. Persetujuan ini memastikan bahwa seluruh tahapan penelitian mengenai pemanfaatan zat kumarin pada kacang Tonka sebagai alternatif antikoagulan dilaksanakan secara etis, aman, dan mengikuti standar ilmiah yang berlaku. Adanya persetujuan etik ini juga menjamin bahwa perlindungan terhadap subjek penelitian, baik manusia maupun hewan coba, terpenuhi serta seluruh prosedur dilakukan sesuai prinsip kehati-hatian. Dengan demikian, validitas, integritas, dan kredibilitas data yang dihasilkan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah.

Pengolahan dan analisis data

Pengumpulan dan analisis data dilakukan pada setiap perlakuan pembekuan darah dari tiga kelompok: kontrol, EDTA, dan ekstrak kacang tonka. Hasil penelitian akan ditafsirkan dengan membandingkan rata-rata waktu pembekuan darah tiap kelompok. Jika ekstrak kacang tonka menunjukkan perpanjangan waktu pembekuan yang mendekati EDTA, maka disimpulkan memiliki efek antikoagulan. Hasil yang didapatkan dilakukan uji statistik menggunakan uji ANOVA.

HASIL

A. Hasil pengamatan secara visual

Pengamatan secara visual dilakukan dengan cara mengamati langsung apakah sampel darah pada masing-masing tabung yang telah diberikan perlakuan setelah diamkan selama 5 menit mengalami pembekuan (penggumpalan) atau tidak. Waktu 5 menit dipilih karena merupakan rentang fisiologis awal terjadinya pembekuan darah, sehingga efektif untuk menilai apakah sampel mulai membentuk bekuan atau tidak.

Tabel 1.

Hasil pengamatan secara visual

Nomor Tabung	Masa Pembekuan
Tabung 1 Kontrol Negatif (Darah Tanpa Perlakuan)	5 menit
Tabung 2 Kontrol Positif (Darah Antikoagulan EDTA)	Tidak terjadi pembekuan Tabung 3
Perlakuan (Darah Antikoagulan Kacang Tonka)	Tidak terjadi pembekuan



a) Kontrol Negative (Blank) b) Kontrol Positive (EDTA) c) Perlakuan (Ekstrak Tonka)

Gambar 2 Hasil pengamatan secara visual (a) Tabung 1 Kontrol *negative* (darah tanpa perlakuan) dan terdapat pembekuan setelah 5 menit, (b) Tabung 2 Kontrol positif (Antikoagulan EDTA) tidak terdapat pembekuan darah pada tabung 2, (c) Tabung 3 perlakuan (Antikoagulan ekstrak kacang tonka 120µl) darah tidak terjadi pembekuan.

B. Hasil pengamatan secara mikroskopis

Hasil pengamatan secara mikroskopis pemeriksaan hematologi rutin menggunakan antikoagulan EDTA dan antikoagulan Kacang Tonka dengan konsentrasi 80%, 100%, 120%, dan 140% adalah sebagai berikut:



Gambar 3 Hasil pengamatan secara mikroskopis (a) control negatif, (b) Morfologi sel antikoagulan EDTA, (c) Morfologi sel antikoagulan kacang tonka konsentrasi 80%, (d) Morofologi sel antikoagulan kacang tonka konsentrasi 100%, e) Morfologi sel antikoagulan kacang tonka konsentrasi 120%, (f) Morfologi sel antikoagulan kacang tonka konsentrasi 140%.

Berdasarkan gambar 3 untuk mengetahui volume ekstrak kacang Tonka yang efektif ditambahkan ke dalam 1 ml darah dilakukan dengan cara menaikkan volume ekstrak kacang Tonka mulai dari 80 μ L. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan pada tabung yang berisi 1 ml darah dan 80 μ L ekstrak kacang Tonka tampak darah masih mengalami pembekuan, maka volume ekstrak kacang Tonka dinaikkan hingga 100 μ L lalu di amati kembali. Pada volume 100 μ L darah tidak mengalami pembekuan tetapi, saat diamati menggunakan mikroskop tampak sel darah yang saling berkelompok dan terlalu padat, sehingga dinaikkan lagi hingga 120 μ L, setelah diamati pada mikroskop sel darah tampak saling terpisah satu sama lain dan berbentuk bulat sempurna. Pada saat penambahan volume ekstrak mencapai 140 μ L, diamati di bawah mikroskop, sel darah tampak saling terpisah dan berjauhan. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan menggunakan mikroskop dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini ekstrak kacang tonka yang lebih efektif digunakan dalam 1 ml darah adalah 120 μ L.

C. Hasil Uji Hipotesis (Uji Statistik)

Hasil analisis awal menunjukkan bahwa konsentrasi 120 μ L berpotensi sebagai konsentrasi optimal, sehingga pada tahap selanjutnya konsentrasi 120 μ L akan dilakukan uji hipotesis (uji statistik) untuk menilai signifikansi perbedaannya dan memastikan efektivitas zat kumarin dari kacang Tonka sebagai alternatif antikoagulan dalam pemeriksaan hematologi rutin adalah sebagai berikut:

Tabel 2.
Hasil Uji Normalitas

	Parameter	Mean	SD	P
Antikoagulan EDTA	WBC	7,57	1,98	0,066
	RBC	4,62	0,54	0,348
	HGB	13,24	1,55	0,082
	HCT	38,60	8,22	0,002
	PLT	262,733	58,43	0,289
Antikoagulan Kacang Tonka	WBC	6,60	1,76	0,683
	RBC	4,19	1,02	0,062
	HGB	12,10	2,94	0,066
	HCT	36,68	8,83	0,008
	PLT	221,1333	83,354	0,714

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data dari parameter hematologi berdistribusi normal sehingga dapat digunakan dalam uji statistik parametrik seperti uji ANOVA. Berdasarkan Tabel 2, sebagian besar parameter pada sampel darah yang menggunakan antikoagulan EDTA menunjukkan distribusi normal dengan nilai signifikansi (p) $> 0,05$, antara lain WBC ($p=0,066$), RBC ($p=0,348$), HGB ($p=0,082$), dan PLT ($p=0,289$). Namun, pada parameter HCT didapatkan nilai $p=0,002$ yang menunjukkan distribusi tidak normal. Hal ini mengindikasikan bahwa terdapat variabilitas tinggi atau outlier dalam data HCT pada penggunaan EDTA (Granado *et al.*, 2024).

Sementara itu, pada sampel darah yang menggunakan antikoagulan kacang Tonka, hampir seluruh parameter menunjukkan distribusi normal, dengan nilai $p > 0,05$, seperti WBC ($p=0,683$), RBC ($p=0,062$), HGB ($p=0,066$), dan PLT ($p=0,714$). Hanya HCT yang kembali menunjukkan distribusi tidak normal ($p=0,008$) hal ini disebabkan oleh antikoagulan kacang Tonka atau faktor pengambilan dan penyimpanan sampel dapat mempengaruhi hasil pematatan eritrosit dalam tabung. Karena nilai yang didapat $\text{sig} < 0,05$ berdasarkan hasil tersebut maka normalitas data terdistribusi normal, dilanjutkan dengan uji *Repeated* ANOVA.

1. Uji Repeated ANOVA

Tujuan Uji Repeated ANOVA adalah untuk mengetahui adakah perbedaan yang bermakna pada rata-rata antara lima kelompok berbeda yaitu pada antikoagulan EDTA dan Kacang Tonka pada Pemeriksaan Hematologi Rutin.

Tabel 3.
Hasil Uji Reveated ANOVA

	Parameter	Mean (Max-Min)	P
Antikoagulan EDTA	WBC	7,57 (11-4)	0,000
	RBC	4,62 (5-3)	
	HGB	13,24 (16-11)	

	HCT	38,60 (49-13)
	PLT	262,73 (363-189)
Antikoagulan Kacang Tonka	WBC	6,60 (9-3)
	RBC	4,19 (6-2)
	HGB	12,10 (19-6)
	HCT	36,68 (61-19)
	PLT	221,13 (390-140)

Uji *Repeated Measures ANOVA* digunakan untuk membandingkan rerata antar kondisi yang diukur dari subjek yang sama, dalam hal ini membandingkan nilai parameter hematologi pada sampel darah yang diberi antikoagulan EDTA dan kacang Tonka. Berdasarkan hasil uji (Tabel), didapatkan nilai signifikansi $p = 0,000$. (Astuti, & Mooy 2024).

Walaupun hanya parameter WBC yang secara eksplisit memiliki nilai signifikansi, perbandingan rentang nilai mean dan variabilitas antar parameter lainnya seperti RBC, HGB, HCT, dan PLT menunjukkan adanya perbedaan yang cukup nyata antara EDTA dan kacang Tonka. Contohnya, nilai trombosit (PLT) pada EDTA berkisar antara 363–189, sedangkan pada kacang Tonka jauh lebih lebar, yakni 390–340. Rentang nilai yang lebih lebar ini mengindikasikan kemungkinan kurang stabilnya efek antikoagulasi kacang Tonka terhadap trombosit, yang mengalami agregasi atau lisis parsial. Nilai HGB dan HCT pada kacang Tonka menunjukkan variasi yang lebih besar, yang menandakan adanya efek terhadap integritas sel darah merah atau potensi interferensi pada proses pembacaan parameter hematologi oleh alat.

Hasil uji Repeated ANOVA mendukung bahwa meskipun zat kumarin dari kacang Tonka memiliki potensi sebagai antikoagulan, efektivitasnya dalam mempertahankan stabilitas parameter hematologi masih memerlukan optimalisasi. Variasi data yang lebih besar pada kelompok kacang Tonka menunjukkan belum konsistennya efek antikoagulasi dibandingkan EDTA yang telah terstandarisasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian lebih lanjut, seperti evaluasi morfologi sel darah atau stabilitas zat aktif kumarin pada kondisi penyimpanan tertentu, agar penggunaannya dapat dikembangkan sebagai antikoagulan alternatif yang aman dan andal.

PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul “Pemanfaatan Zat Kumarin pada Kacang Tonka sebagai Antikoagulan Alternatif pada Hematologi Rutin”. Pengambilan dan pengumpulan sampel dilakukan pada tanggal 28 Juli 2025 di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Palembang, yang terletak Jalan Jendral Ahmad Yani 13 Ulu, Kecamatan Seberang Ulu II, Kota Palembang, Sumatera Selatan 30262.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah zat kumarin yang terkandung dalam kacang tonka dapat digunakan sebagai alternatif antikoagulan pada pemeriksaan hematologi rutin. Sampel yang digunakan berupa darah vena yang diperiksa menggunakan antikoagulan standar dan larutan kumarin kacang tonka. Pemeriksaan parameter hematologi dilakukan menggunakan alat hematologi otomatis di Puskesmas Kampus Kota Palembang Dinas Kesehatan Kota Palembang, dan interpretasi hasil ditentukan berdasarkan perbandingan hasil parameter hematologi antara antikoagulan standar dan antikoagulan alternatif yang diuji.

Berdasarkan gambar 2, hasil pengamatan visual terhadap sampel darah pada tiga tabung yang telah diberikan perlakuan berbeda dan didiamkan selama 5 menit, diperoleh data mengenai masa pembekuan (koagulasi) darah sebagai indikator efektivitas antikoagulan. Pengamatan ini bertujuan untuk menilai apakah darah dalam masing-masing tabung mengalami pembekuan atau tidak setelah waktu inkubasi yang singkat. Metode pengamatan ini bersifat kualitatif dan

dilakukan secara langsung tanpa bantuan alat optik atau uji laboratorium lanjutan, namun memberikan informasi awal yang penting terkait aktivitas antikoagulan dari bahan yang diuji.

Pada tabung pertama, yang berfungsi sebagai kontrol negatif (darah tanpa perlakuan antikoagulan), terjadi pembekuan darah dalam waktu 5 menit. Hal ini sesuai dengan ekspektasi bahwa darah segar yang tidak diberi antikoagulan akan mengalami proses koagulasi secara fisiologis akibat aktivasi jalur pembekuan intravaskular. Terbentuknya gumpalan darah menunjukkan bahwa sistem koagulasi dalam sampel bekerja normal, dan ini menjadi dasar perbandingan untuk dua tabung lainnya.

Tabung kedua merupakan kontrol positif, yaitu darah yang diberi antikoagulan EDTA (*Ethylenediaminetetraacetic acid*). Hasil pengamatan menunjukkan tidak terjadi pembekuan darah selama masa pengamatan 5 menit. EDTA diketahui bekerja dengan cara mengikat ion kalsium (Ca^{2+}) dalam darah, yang merupakan kofaktor penting dalam berbagai tahap kaskade pembekuan. Dengan terikatnya ion kalsium, proses koagulasi menjadi terhambat, sehingga darah tetap dalam bentuk cair (Enders, 2025).

Temuan baru pada tabung ketiga yang berisi darah dengan perlakuan menggunakan ekstrak kacang Tonka sebagai antikoagulan alami tidak terjadi pembekuan darah selama 5 menit. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam kacang Tonka memiliki kemampuan menghambat proses pembekuan darah, serupa dengan EDTA. Mekanisme ini bisa terjadi melalui penghambatan faktor pembekuan atau pengikatan ion kalsium, meskipun untuk memastikan mekanisme pastinya diperlukan uji lanjutan secara biokimia (Ivanciu & Camire, 2025).

Ekstrak kacang Tonka yang kaya akan senyawa kumarin diperkirakan menghambat proses koagulasi dengan cara serupa obat antagonis vitamin K yaitu melalui pengikatan dan inhibisi enzim vitamin K epoxide reductase (VKORC1), sehingga mengganggu regenerasi vitamin K hidrokuinon yang esensial untuk γ -karboksilasi faktor pembekuan darah seperti faktor II, VII, IX, dan X (Enders, 2025), tanpa karboksilasi pada residu glutamat, faktor-faktor tersebut tidak dapat bekerja optimal dan gagal membentuk kompleks yang diperlukan untuk koagulasi, mirip efek terapi yang dimediasi warfarin dan derivatif kumarin lainnya (Raymond & Committee, 2025).

Pengamatan bahwa darah yang diberi ekstrak Tonka tidak mengalami pembekuan selama 5 menit menunjukkan bahwa kumarin aktif dalam ekstrak mampu menekan aktivitas faktor koagulasi berbasis vitamin K secara efektif pada waktu pendek, meskipun verifikasi lewat uji biokimia lanjutan tetap diperlukan untuk mengkonfirmasi target molekuler dan dosis efektif. Secara keseluruhan, pengamatan ini memberikan indikasi awal bahwa ekstrak kacang Tonka memiliki potensi sebagai agen antikoagulan. tidak terjadnya pembekuan darah dalam waktu 5 menit sebanding dengan efek EDTA menunjukkan bahwa senyawa alami tersebut bisa menjadi alternatif bahan antikoagulan yang lebih ramah lingkungan atau memiliki toksisitas lebih rendah (Saylan, 2024).

Gambar 3 menjelaskan ekstrak kacang Tonka dengan konsentrasi 120 μL mampu mencegah agregasi sel darah merah (RBC) secara efektif tanpa merusak morfologi, menunjukkan stabilitas sel yang baik. Temuan ini cocok dengan *Origanum vulgare* yang melaporkan bahwa fraksi berkonsentrasi coumarin secara signifikan memperpanjang PT dan meningkatkan INR hingga 2.34 menunjukkan aktivitas antikoagulan kuat tanpa merusak struktur sel secara jelas (Crista, 2025). Konsentrasi optimal pada Tonka bekerja melalui mekanisme serupa inhibisi jalur koagulasi intrinsic namun tetap mempertahankan bentuk bulat alami RBC.

Konsentrasi lebih rendah (80%–100%), terlihat RBC masih bertumpuk (*rouleaux*) dan bentuk tidak bulat sempurna, menandakan antikoagulan belum optimal mencegah adhesi sel antar RBC. Sebaliknya, konsentrasi 120% menunjukkan RBC tersebar merata dan bentuk normal. Penelitian terhadap ekstrak tanaman seperti *Meriandra dianthera* menegaskan bahwa fraksi antikoagulan bekerja dengan stabilisasi membran RBC serta efektif memperpanjang APTT secara dosis-dependent tanpa hemolisis. Prinsip ini menegaskan pentingnya dosis tepat agar menghindari aglutinasi tanpa toksisitas (Zulfiayu, 2024) (Kiflemariam, 2022).

Konsentrasi 140% terlihat sel RBC tidak bertumpuk, namun bentuknya mulai tidak alami atau potensial terkena hemolisis ringan. Hal ini menunjukkan adanya batas toleransi konsentrasi

ekstrak. Hal ini sejalan dengan laporan bahwa beberapa ekstrak polifenolik atau flavonoid dapat memiliki efek antiplatelet kuat namun pada dosis tinggi menimbulkan stres oksidatif atau kerusakan membran RBC (Hou., 2025) (Fernandes, 2024) (Khalili, 2024). Konsentrasi seperti 120 μL memberi efek antikoagulan yang kuat tanpa menimbulkan hemolisis atau deformasi sel.

Stabilitas bentuk RBC penting untuk pemeriksaan hematologi mikroskopis bentuk bulat alami, distribusi seragam, tanpa aglutinasi mempermudah penilaian ukuran, bentuk, dan distribusi sel. Penelitian terkait *Nepeta nuda L* menunjukkan ekstrak yang aman mampu mempertahankan populasi RBC biconcave hingga 74–85%, tanpa efek hemolitik signifikan pada konsentrasi optimal (Arshada, 2024) (Petrova, 2023).

Dengan menjaga morfologi sel tanpa toksitas, konsentrasi 120 μL memperlihatkan potensi sebagai antikoagulan alami yang bisa menggantikan EDTA dalam pemeriksaan hematologi rutin. Penelitian pada tanaman *Crassocephalum crepidioides* dan berbagai ekstrak tumbuhan menunjukkan aktivitas antikoagulan alami dalam 5 tahun terakhir yang efektif dan aman, memperpanjang APTT dan PT tanpa merusak RBC (Mukherjee & Chattopadhyay, 2022).

Studi terbaru oleh Vigueras, (2025) menguji derivatif kumarin alami pada uji in vitro dan in vivo, menemukan bahwa beberapa senyawa kumarin menunjukkan perpanjangan waktu PT dan aPTT tanpa efek toksitas yang signifikan pada hepar workup model hewan. Hal ini mendukung bahwa ekstrak kacang Tonka yang kaya kumarin mampu menjadi antikoagulan efektif dengan potensi kompatibilitas morfologi sel yang relatif baik

Penelitian oleh Sun, (2025) menunjukkan bahwa esculetin derivatif kumarin mampu menghambat aktivasi platelet melalui jalur PLC γ 2–PKC–AKT. Hal ini mendukung temuan bahwa PLT sangat terpengaruh oleh kumarin, seperti terlihat dalam uji Tukey ($p = 0,000$). Ekstrak Tonka menurunkan jumlah trombosit akibat efek anti-platelet dari kumarin aktif. (Hsia, 2019). Heghes (2022) menyoroti bahwa kumarin dalam dosis tinggi dapat menyebabkan perubahan histopatologi hati pada tikus (vakular degenerasi hepatosit). Meskipun model manusia memiliki metabolisme yang berbeda (7-hidroksilasi), kekhawatiran mengenai keamanan kumarin tetap relevan jika akan digunakan dalam aplikasi klinis jangka Panjang.

Variabilitas hematokrit saat penggunaan kumarin Abdallah, (2022) mencatat bahwa ekstrak nabati yang mengandung fenolik dan kumarin dapat memicu perubahan osmotik atau distribusi plasma yang mempengaruhi hematokrit (HCT), sesuai dengan temuan bahwa HCT menunjukkan nilai signifikan ($p < 0,05$). Artinya, efek kumarin terhadap rasio plasma/sel tetap perlu dioptimasi. Gwozdzinski *et al.*, (2024) menggaris bawahi bahwa modifikasi struktur kumarin sintetis menghasilkan aktivitas antitrombotik efektif dengan potensi meniru efek keseluruhan ekstrak nabati. Hal ini memperkuat argumen bahwa kumarin dari Tonka bisa distandardisasi untuk meningkatkan efektivitas dan konsistensi hasil hematologi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak kacang Tonka (*Dipteryx odorata*) memiliki potensi sebagai antikoagulan alami dalam pemeriksaan hematologi rutin. Konsentrasi 120 μL mampu mencegah pembekuan darah hingga lima menit, dengan hasil pemeriksaan hematologi dan morfologi eritrosit yang mendekati penggunaan EDTA sebagai antikoagulan standar. Efek antikoagulan ekstrak kacang Tonka tergolong stabil dan aman, meskipun masih terdapat perbedaan signifikan pada parameter WBC.

SARAN

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, yaitu jumlah sampel yang masih sedikit, belum dilakukannya uji fitokimia untuk memastikan kandungan kumarin, serta belum adanya uji stabilitas ekstrak. Karena itu, meskipun ekstrak kacang Tonka menunjukkan potensi sebagai antikoagulan, validasi lebih lanjut masih diperlukan melalui penambahan sampel, analisis fitokimia, dan uji stabilitas sebelum dapat dipertimbangkan sebagai alternatif EDTA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan (UMAD) Palembang atas dukungan sarana dan fasilitas yang telah diberikan selama pelaksanaan penelitian ini. Ucapan terima kasih juga kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam proses pengumpulan data, analisis, dan penyusunan laporan penelitian ini, sehingga penelitian dapat terlaksana dengan baik dan menghasilkan data yang bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan di bidang hematologi klinik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, L. (2022). In Vitro Activity of Some Medicinal Plants on Blood Coagulation. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(3), 330–335. <https://doi.org/https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2021.14603>.
- Arshada. (2024). Effects of Anticoagulants on Blood Cells Morphology and Biochemistry. *Biological and Clinical Sciences Research Journal*, 2024(1), 663. <https://doi.org/https://doi.org/10.54112/bcsrj.v2024i1.663>.
- Astuti, A., & Mooy, T. (2024). Uji Antikoagulan Alami Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanni*) Menggunakan Metode Lee-White dan Analisis Apusan Darah. *Jurnal Ilmu Kesehatan Dan Gizi*, 2(4), 141–150. <https://doi.org/https://doi.org/10.55606/jig.v2i4.3213>.
- Crista. (2025). The Effect of Oregano (*Origanum vulgare*) Leaf Extract on Selected Clot-Based Assays. *Asian J Biol Life Sci*, 14(2), 355–361. <https://doi.org/https://doi.org/10.5530/ajbls.20251449>.
- Enders. (2025). Pre-analytical pitfalls: How blood collection tubes influence exercise- induced cell-free DNA concentrations. *Experimental Physiology*, 1087–1098. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/EP092284>.
- Fernandes, D. A. (2024). Natural Phenolic Compounds with Antithrombotic and Antiplatelet Effects: A Drug-likeness Approach. *Current Medicinal Chemistry*, 31(26), 4138–4159. <https://doi.org/https://doi.org/10.2174/0109298673268452231108061008>.
- Granado, J., Nieto, M.E. and Bermejo, A. (2024). Proceedings of ISLH 2024 XXXVIIth International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology. *International Journal of Laboratory Hematology*, 46, 3–121. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijlh.14396>.
- Gwozdzinski, L., Pieniazek, A. and Gwozdzinski, K. (2024). Factors Influencing Venous Remodeling in the Development of Varicose Veins of the Lower Limbs. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(3). <https://doi.org/10.3390/ijms25031560>.
- Heghes, S.C. (2022). Safety Profile of Nutraceuticals Rich in Coumarins: An Update. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.803338>.
- Hou, Y. (2025). A review of natural compounds to regulate platelet aggregation: molecular mechanism and research advance. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1–22. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.153776>.
- Hsia, C.W. (2019). Esculetin, A coumarin derivative, prevents thrombosis: Inhibitory signaling on PLC γ 2-PKC-AKT activation in human platelets. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(11). <https://doi.org/10.3390/ijms20112731>.
- Ivanciu, L. & Camire, R.M. (2025). Blood Coagulation Factor IX: Structure, Function, and Regulation. *IUBMB Life*, 77(5), 1–8. <https://doi.org/10.1002/iub.70024>.
- Khalili, M., Ebrahimzadeh, M.A. and Safdari, Y. (2024). Antihaemolytic activity of thirty herbal extracts in mouse red blood cells. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 65(4), 399–406. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-65-2014-2513>.
- Kiflemariam, F.K. (2022). Meriandra dianthera Aqueous Extract and Its Fraction Prevents Blood Coagulation by Specifically Inhibiting the Intrinsic Coagulation Pathway: An in vitro Study. *Journal of Experimental Pharmacology*, 14, 205–212. <https://doi.org/10.2147/JEP.S362258>.

- Mukherjee, A.K. & Chattopadhyay, D.J. (2022). Potential clinical applications of phytopharmaceuticals for the in-patient management of coagulopathies in COVID-19. *Phytotherapy Research*, 36(5), 1884–1913. <https://doi.org/10.1002/ptr.7408>.
- Petrova, S. (2023). Nepeta nuda L. Plant Extract Preserves the Morphology of Red Blood Cells Subjected to Oxidative Stress. *Medical Science Forum*, 35. <https://doi.org/10.3390/ecb2023-14086>.
- Raymond, M.J.F. & Committee, T. (2025). Detection , Isolation , and Characterization of Coumarins of Acer brevipes by NMR Spectroscopy. *Thesis [Preprint]*.
- Saylan, Y. (2024). Nanomaterial-Based Sensors for Coumarin Detection. *ACS Omega*, 9(28), 30015–30034. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01945>.
- Sun, J. (2025). Coumarin derivatives as inhibitors against monoamine oxidase: structure- activity relationships and inhibitory mechanisms. *Acta Materia Medica*, 4(2), 262–279. <https://doi.org/10.15212/AMM-2024-0079>.
- Vigueras, G. (2025). Metal-coumarin derivatives as promising photosensitizers: unlocking their cancer phototherapy potential. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 12(14). <https://doi.org/10.1039/d5qi00858a>.
- Zulfiayu, (2024). Development Of Microneedle Formula Of Sesewanua Leaf Fraction (*Clerodendrum fragrans Willd.*) As Antithrombosis Candidate, 4–6.