

Uji Aktivitas Fibrinolitik Jus Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*) Pada Tikus yang Diberi Asam Traneksamat

Ulin Nasirotozahroh, R. Susanti *

Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Negeri Semarang, Indonesia
Gedung D6 Lt.1, Kampus Sekaran Gunungpati, Semarang 50229
E-mail: basanatha8@mail.unnes.ac.id

Diterima 6 Maret 2023 Disetujui 28 Maret 2023 Dipublikasikan 28 April 2023

Abstrak

Trombosis merupakan pembentukan bekuan darah (trombus) yang tidak normal di pembuluh darah akibat ketidakseimbangan sistem hemostasis. Protease cacing (lumbrokinase) dari *Lumbricus rubellus* memiliki kemampuan fibrinolitik dengan aktivitas ganda, yaitu melarutkan fibrin dalam trombus dan mengubah plasminogen menjadi plasmin. Tujuan penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh pemberian jus cacing tanah terhadap waktu perdarahan, waktu pembekuan, dan jumlah trombosit pada tikus yang diberi asam traneksamat (TXA). Penelitian ini menggunakan posttest randomized controlled group design dengan rancangan acak lengkap (RAL). Sebanyak 15 ekor tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal (KN) yang tidak diberi perlakuan, kelompok kontrol positif (KP) diberi TXA 50 mg/kgBB dan aspirin 100 mg/kgBB, dan kelompok perlakuan jus cacing yang diberi TXA 50 mg/kgBB kemudian masing-masing diberi jus cacing 1,5 gram/kgBB (P1); 2 gram/kgBB (P2); dan 2,5 gram/kgBB (P3). Sediaan uji diberikan sekali sehari secara oral selama 7 hari. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-7 untuk pemeriksaan waktu perdarahan, waktu pembekuan, dan jumlah trombosit. Masing-masing data dianalisis dengan one-way anova dilanjutkan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian jus cacing tanah pada tikus yang diberi asam traneksamat berpengaruh signifikan meningkatkan waktu perdarahan dan waktu pembekuan darah, namun tidak berpengaruh signifikan menurunkan jumlah trombosit. Hal ini menunjukkan bahwa cacing tanah berpotensi dikembangkan sebagai obat terapi fibrinolitik yang aman tanpa risiko perdarahan.

Kata kunci: fibrinolitik, jus cacing, jumlah trombosit, waktu pembekuan, waktu perdarahan

Abstract

Thrombosis is the abnormal formation of a blood clot (thrombus) in the blood vessel due to a hemostatic system's imbalance. Earthworm protease (lumbrokinase) from Lumbricus rubellus has fibrinolytic ability with multiple activities, dissolving fibrin in thrombus and converting plasminogen to plasmin. This study is aimed to determine the effect of giving earthworm juice on bleeding time, clotting time, and platelet count in rats given tranexamic acid (TXA). This study used a posttest randomized controlled group design with a completely randomized design (CRD). A total of 15 male Wistar rats were divided into 5 treatment groups: normal control group (KN) which was not given any treatment; positive control group (KP), given 50 mg/kgBB of TXA and 100 mg/kgBB of aspirin; and the earthworm juice group was given 50 mg/kgBB of TXA and then each was given 1.5 gram/kgBB of worm juice (P1); 2 gram/kgBB (P2); and 2.5 gram/kgBB (P3). The treatments were administered orally once daily for 7 days. Blood was collected on the 7th day to measure bleeding time using the Duke method, clotting time using the glass object method, and platelet count using an automatic hematology analyzer. The results of one way anova test showed that earthworm juice could significantly prolonged the bleeding time and blood clotting time of rats given tranexamic acid ($p < 0.05$) based on the LSD test, but could not significantly reduce the platelet count ($p > 0.05$).

Keywords: fibrinolytic, earthworm juice, platelet count, clotting time, bleeding time

How to cite:

Nasirotozahroh U., Susanti R. (2023). Uji aktivitas fibrinolitik jus cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) pada tikus yang diberi asam traneksamat. *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 46(1), 1-9

PENDAHULUAN

Trombosis merupakan kondisi ketidakseimbangan sistem hemostasis berupa pembentukan sumbatan (trombus) yang dipicu oleh hiperagregasi, hiperkoagulasi dan kegagalan lisis bekuan (Dewoto, 2007). Trombus merupakan gumpalan darah yang terbentuk pada dinding pembuluh darah dan berfungsi sebagai sumbat hemostatik pada saat terjadi luka atau kerusakan jaringan. Adanya trombus disertai faktor risiko akan menginisiasi kejadian penyakit seperti kardiovaskular, infark miokard (serangan jantung) (Corwin, 2009), stroke iskemia (Hanson, 2012), aterosklerosis (Lioudaki & Ganotakis, 2010), dan gagal ginjal kronis (Lutz *et al.*, 2014). Faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskular meliputi faktor yang dapat dikontrol dan tidak dapat dikontrol. Stres, dislipidemia, diabetes melitus, hipertensi, dan gaya hidup tidak sehat (kebiasaan makan, aktivitas fisik, merokok) merupakan faktor risiko yang dapat dikontrol. Sementara, riwayat penyakit keluarga, usia, jenis kelamin, dan obesitas merupakan faktor yang tidak dapat dikontrol (Kemenkes RI, 2014; Saraswati & Lina, 2020).

Penyakit kardiovaskular (cardio vascular disease; CVD) merupakan serangkaian penyakit/gangguan yang menyerang jantung dan pembuluh darah. Beberapa manifestasi penyakit kardiovaskular meliputi hipertensi, penyakit vaskular perifer (*peripheral vascular disease*; PVD), penyakit jantung kongenital (*coronary heart disease*; CHD), jantung rematik, gagal jantung, dan yang paling umum adalah jantung koroner dan stroke (WHO, 2015). Data Riskesdas tahun 2018 menunjukkan prevalensi penyakit jantung di Indonesia sebesar 1,5% (1.017.290 jiwa), hipertensi 8,36% (658.201 jiwa), gagal ginjal kronis 0,38% (713.783 jiwa), dan stroke dengan prevalensi terbesar yaitu 10,9% (713.783 jiwa) (Kemenkes RI, 2019). Data WHO tahun 2016 menunjukkan bahwa 71% kematian di dunia diakibatkan oleh penyakit tidak menular (PTM) (41 juta dari 57 juta kematian), dan 44% dari kematian tersebut disebabkan oleh penyakit kardiovaskular (17,9 juta kematian) (Global Health Estimates, 2016). Diperkirakan angka tersebut akan terus meningkat hingga 23,3 juta jiwa pada tahun 2030 (Lozano *et al.*, 2012).

Obat antitrombosis umumnya digunakan sebagai terapi penyakit CVD yang meliputi golongan antikoagulan, antiplatelet, dan trombolitik (fibrinolitik) (Ge *et al.*, 2018). Heparin adalah antikoagulan alami kedua yang paling banyak digunakan setelah warfarin dan telah digunakan secara klinis selama lebih dari 65 tahun. Namun, penggunaan heparin dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan efek samping perdarahan, trombositopenia, perubahan metabolisme lipid dan osteoporosis (Alban, 2012). Obat trombolitik seperti streptokinase, tissue plasminogen activator (tPA), dan urokinase (Ivlev *et al.*, 2019) juga sangat mahal dan menimbulkan efek samping alergi, lisis sistemik dan perdarahan (Dubey *et al.*, 2011; Uesugi *et al.*, 2010). Antiplatelet seperti aspirin dan clopidogrel (Hogg & Weitz, 2017) masih menjadi perdebatan karena aspirin dilaporkan dapat menyebabkan perdarahan mayor, kekambuhan sakit vaskular, dan di beberapa kasus terjadi resistensi aspirin. Clopidogrel juga dikaitkan dengan berbagai kejadian perdarahan kecil intraserebral (Ge *et al.*, 2019), subarakhnoid (Heckmann, 2016) dan hematoma epidural spinal spontan (Aristedis & Dimitrios, 2017).

Cacing *Lumbricus rubellus* mengandung enzim lumbrokinase yang bekerja sebagai fibrinolitik dengan cara melarutkan fibrin dan meningkatkan aktivitas t-PA (Dong *et al.*, 2019), serta mengurangi agregasi trombosit dengan meningkatkan kadar cAMP dan menghambat kenaikan kalsium intraseluler. Penghambatan agregasi trombosit mengakibatkan kegagalan pembentukan trombus, sehingga menyebabkan pemanjangan waktu perdarahan dan waktu pembekuan yang merupakan manifestasi dari penurunan jumlah trombosit. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian ekstrak protein cacing *L. rubellus* dapat mengurangi agregasi trombosit, mengurangi konformasi bekuan darah, dan meningkatkan waktu pembekuan (Trisina *et al.*, 2011). Penelitian Hosseinpour *et al.* (2015) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak cacing mampu memperpanjang waktu perdarahan. Pemberian tepung cacing *L. rubellus* juga diketahui dapat menurunkan jumlah trombosit pada anak babi (Pradnyani *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian jus cacing tanah *L. rubellus* terhadap waktu perdarahan, waktu pembekuan, dan jumlah trombosit tikus yang diberi asam traneksamat.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *postest randomized controlled group design* pola rancangan acak lengkap (RAL). Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba, pemeriksaan waktu perdarahan dan waktu pembekuan dilaksanakan di Laboratorium Biologi FMIPA UNNES, sedangkan pemeriksaan jumlah trombosit dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan Jawa Tengah (Labkeswan Jateng).

Pembuatan Jus Cacing Tanah (*Lumbricus rubellus*)

Sediaan jus cacing dibuat larutan stok untuk kebutuhan per hari dimana pemberian jus sebanyak 2 ml/200 gramBB tikus. Dosis jus untuk P1 adalah 1,5 gram/kgBB, sehingga 1 ekor tikus (200 gram) akan mendapat 0,3 gram jus, sedangkan untuk P2 dan P3 masing-masing akan mendapat 0,4 gram/200 gramBB tikus dan 0,5 gram/200 gramBB tikus. Larutan stok P1, P2, dan P3 (masing-masing 3 ekor) berturut-turut dibuat dengan mencampurkan masing-masing 0,9 gram; 1,2 gram; dan 1,5 gram cacing basah dengan 6 ml akuades kemudian diblender hingga halus. Jus kemudian disaring dan dimasukkan ke dalam botol tertutup.

Pembuatan Larutan Asam Traneksamat (Tranexamic Acid/TXA)

Sebanyak 1 tablet asam traneksamat (@500 mg) dihaluskan menggunakan alu dan mortar hingga menjadi serbuk halus, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 50 mL dan diaduk hingga homogen. Larutan dimasukkan ke dalam botol tertutup dan disimpan dalam inkubator suhu 4°C.

Pembuatan Larutan Aspirin

Sebanyak 2 tablet aspirin (@100 mg) dihaluskan menggunakan alu dan mortar hingga menjadi serbuk halus, kemudian ditambahkan akuades sebanyak 10 mL dan diaduk hingga homogen. Larutan dimasukkan ke dalam botol tertutup dan disimpan dalam inkubator suhu 4°C.

Perlakuan pada Tikus

Sebanyak 15 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar umur 2-3 bulan dibagi menjadi 5 kelompok yakni kelompok kontrol normal (KN), kontrol positif (KP), dan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 (P1, P2, P3). Tikus diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 1 minggu sebelum diberikan perlakuan serta diberi pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Pada hari ke-1 setelah adaptasi hingga hari ke-7, kelompok KN hanya diberi pakan dan minum secara *ad libitum*, kelompok KP diberikan asam traneksamat 50 mg/kgBB dan aspirin 100 mg/kgBB per oral dengan selang pemberian 2 jam, untuk kelompok P1, P2, P3 diberikan asam traneksamat 50 mg/kgBB per oral dan jus cacing beturut-turut dengan dosis 1,5; 2; dan 2,5 gram/kgBB dengan selang pemberian 2 jam. Kerangka operasional perlakuan pada tikus dapat dilihat pada Gambar 1.

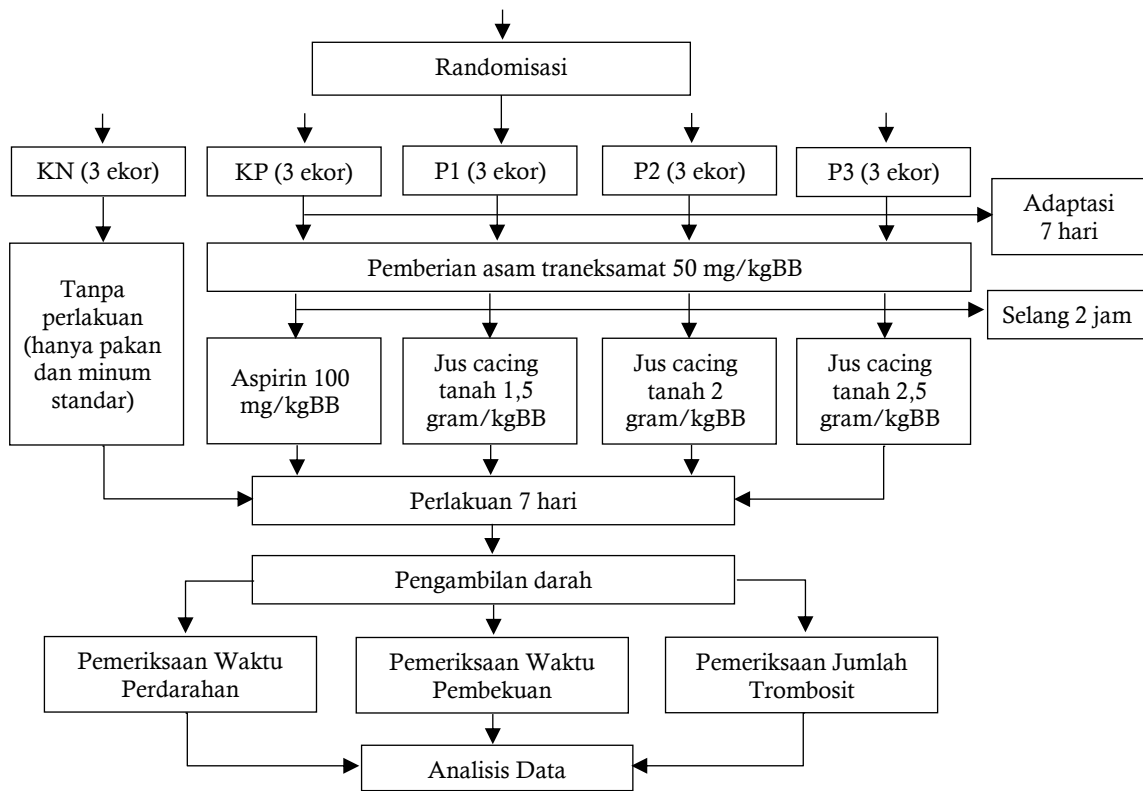
Pada hari ke-7, semua tikus diambil darahnya untuk diuji waktu perdarahan, waktu pembekuan, dan jumlah trombosit. Waktu perdarahan diukur menggunakan metode Duke yaitu dengan memotong ujung ekor tikus sepanjang 0,5 cm yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Darah yang keluar diserap menggunakan kertas saring dengan interval waktu tertentu. Waktu keluarnya darah pertama sampai darah berhenti menetes dan tidak dapat diserap oleh kertas saring dihitung sebagai lamanya waktu perdarahan (Sidrotullah, 2021).

Waktu pembekuan diuji menggunakan metode objek gelas (Gandasoebrata, 2013), yaitu dengan memotong ujung ekor tikus sepanjang 0,5 cm yang sebelumnya telah dibersihkan dengan alkohol 70%. Darah yang keluar pertama kali dihapus menggunakan kertas saring, darah yang keluar selanjutnya diteteskan di atas objek gelas. Ujung lancet digerakkan keatas pada tetesan darah sampai terlihat benang-benang fibrin. Waktu pembekuan dilihat saat terlihat benang-benang fibrin pada tetesan darah.

Pemeriksaan jumlah trombosit dilakukan secara otomatis menggunakan alat *Automatic Hematology Analyzer*. Darah diambil melalui vena orbitalis mata menggunakan mikrohematokrit dan ditampung dalam tabung yang telah diberi EDTA (*ethylenediamine tetraacetic acid*). Sampel darah ditempatkan pada selang tempat sampel pada alat *Automatic Hematology Analyzer*, kemudian sampel akan terhisap oleh selang dan alat mulai melakukan perhitungan. Hasil akan ditampilkan pada layar monitor dan dicetak dalam bentuk print out.

Analisis data

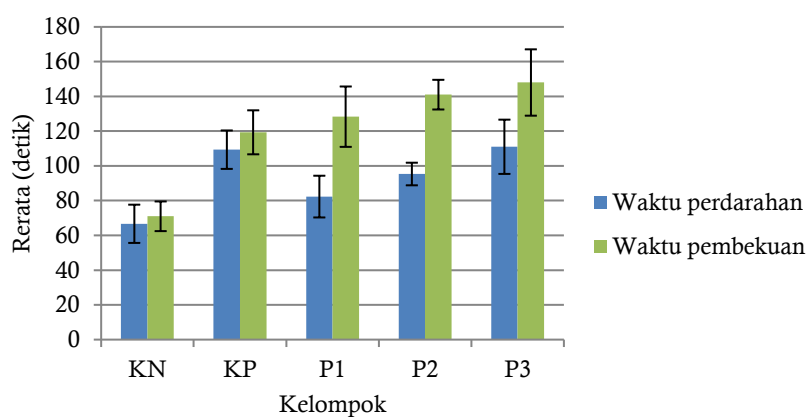
Masing-masing data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk dan diuji homogenitasnya menggunakan uji Levene. Jika data berdistribusi normal dan homogen, dilanjutkan dengan analisis statistik menggunakan one-way anova dengan program SPSS versi 25 dengan taraf kepercayaan 95%. Jika hasil uji anova berpengaruh signifikan kemudian dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference* (LSD).



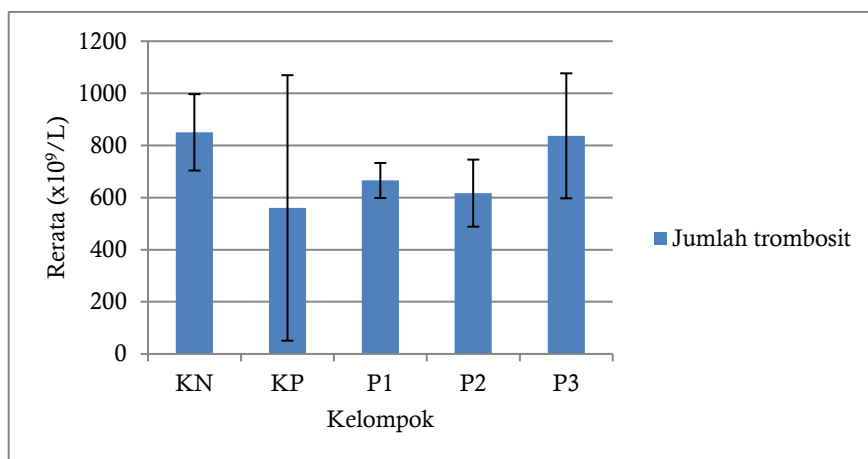
Gambar 1. Kerangka operasional penelitian

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian jus cacing tanah selama 7 hari menyebabkan peningkatan waktu perdarahan dan waktu pembekuan darah, sementara jumlah trombosit mengalami penurunan dan kenaikan. Hasil uji waktu perdarahan dan waktu pembekuan dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Hasil rerata waktu perdarahan dan waktu pembekuan pada tikus yang diberi jus cacing tanah selama 7 hari



Gambar 3. Hasil rerata jumlah trombosit pada tikus yang diberi jus cacing tanah selama 7 hari

Pada Gambar 2 dapat diketahui bahwa waktu perdarahan dan waktu pembekuan tertinggi pada tikus kelompok P3 dan terendah ditemukan pada kelompok KN. Hasil uji statistik normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data waktu perdarahan dan waktu pembekuan, masing-masing berdistribusi normal dan homogen.

Pada Gambar 3, diketahui bahwa jumlah trombosit tertinggi pada kelompok KN dan terendah pada kelompok KP. Hasil uji statistik normalitas dan homogenitas menunjukkan bahwa data jumlah trombosit berdistribusi normal dan homogen. Setelah dianalisis menggunakan *one-way anova*, jus cacing tanah berpengaruh secara signifikan pada waktu perdarahan ($p < 0,05$) dan waktu pembekuan ($p < 0,05$), namun tidak berpengaruh signifikan pada jumlah trombosit ($p > 0,05$).

Tabel 1. Hasil uji LSD waktu perdarahan, waktu pembekuan, dan jumlah trombosit pada tikus yang diberi jus cacing tanah selama 7 hari

Kelompok	Rerata waktu perdarahan (detik \pm SD)	Rerata waktu pembekuan (detik \pm SD)	Rerata jumlah trombosit ($\times 10^9/L \pm$ SD)
KN	66,67 \pm 11,01 ^a	71,00 \pm 8,54 ^a	850,33 \pm 146,57
KP	109,33 \pm 11,06 ^b	119,33 \pm 12,66 ^b	560,33 \pm 509,49
P1	82,33 \pm 12,01 ^{ac}	128,33 \pm 17,38 ^{bd}	665,67 \pm 67,22
P2	95,33 \pm 6,50 ^{bc}	141,00 \pm 8,54 ^{bd}	617,00 \pm 128,67
P3	111,00 \pm 15,62 ^b	148,00 \pm 16,09 ^{cd}	837,33 \pm 239,85

Keterangan: perbedaan huruf superskrip pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan signifikan
 KN (Kontrol normal) : Tanpa perlakuan, hanya pemberian pakan dan minum standar
 KP (Kontrol positif) : Pemberian asam traneksamat 50 mg/kgBB + aspirin 100 mg/kgBB
 P1 (Perlakuan 1) : Pemberian asam traneksamat 50 mg/kgBB + jus cacing 1,5 gram/kgBB
 P2 (Perlakuan 2) : Pemberian asam traneksamat 50 mg/kgBB + jus cacing 2 gram/kgBB
 P3 (Perlakuan 3) : Pemberian asam traneksamat 50 mg/kgBB + jus cacing 2,5 gram/kgBB

Hasil uji LSD waktu perdarahan menunjukkan bahwa kelompok KN tidak berbeda signifikan dengan P1, namun KN berbeda signifikan dengan KP, P2, dan P3. Antar kelompok perlakuan jus cacing hanya P1 dan P3 yang berbeda signifikan. Tikus kelompok KP yang diberi aspirin berbeda signifikan dengan P1, namun tidak berbeda signifikan dengan P2 dan P3 (Tabel 1). Hasil uji LSD data waktu pembekuan menunjukkan bahwa kelompok KN berbeda signifikan dengan semua kelompok lainnya (KP, P1, P2, dan P3). KP berbeda signifikan dengan P3, namun tidak berbeda signifikan dengan P1 dan P2. Sementara itu ketiga kelompok perlakuan jus cacing (P1, P2, dan P3) tidak berbeda signifikan satu sama lain (Tabel 1). Data hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa pemberian jus cacing mampu meningkatkan waktu perdarahan dan waktu pembekuan darah tikus.

Asam traneksamat merupakan golongan obat anti-fibrinolitik yang diberikan sebagai induksi trombolisis. Asam traneksamat dapat memblokir situs pengikatan lisin pada molekul plasminogen sehingga mencegah konversi plasminogen menjadi plasmin (Chauncey & Wieters, 2020). Melalui penghambatan interaksi antara plasminogen dengan plasmin, asam traneksamat dapat menghambat degradasi bekuan fibrin sehingga mempertahankan bekuan darah dari lisis, dan menghasilkan

stabilisasi anyaman fibrin yang kemudian dimanifestasikan dengan berkurangnya perdarahan (Cai *et al.* 2020; McCormack, 2012).

Penghambatan asam traneksamat pada plasmin juga mengakibatkan penurunan fungsi trombin dan induksi plasmin pada trombosit, yang mengakibatkan meningkatnya fungsi trombosit. Meningkatnya fungsi trombosit akan meningkatkan kecenderungan trombosit untuk beragregasi. Apabila terjadi agregasi trombosit berlebih (hiperagregasi trombosit), maka darah menjadi cepat menggumpal. Berkurangnya waktu perdarahan seiring dengan berkurangnya waktu pembekuan, karena waktu perdarahan yang memanjang artinya darah lebih lama untuk mengalami koagulasi. Suatu penelitian metaanalisis menunjukkan bahwa asam traneksamat dapat menurunkan jumlah perdarahan dan menghemat pemakaian faktor-faktor koagulasi (Roberts *et al.* 2012).

Waktu perdarahan kelompok KP, P2, P3, dan KN berbeda secara signifikan, artinya baik pemberian aspirin maupun jus cacing mampu meningkatkan waktu perdarahan. Hasil analisis P1, P2, dan P3 menunjukkan waktu perdarahan P3 lebih tinggi dibanding dengan KP dengan waktu perdarahan P1 dan P2 semakin tinggi mendekati KP. Hal ini dapat diartikan bahwa pemberian jus cacing untuk meningkatkan waktu perdarahan hampir setara dengan aspirin. Aspirin (asetosal) selain berfungsi sebagai agen analgesik, antipiretik, dan antiinflamasi nonsteroid (non-steroidal anti-inflammatory drugs;NSAID), juga memiliki kemampuan sebagai antitrombotik (Tjay & Rahardja, 2002) karena mempunyai efek antiplatelet dan menghambat agregasi trombosit. Aspirin mengganggu produksi tromboksan A2 dalam trombosit dengan menghambat COX-1 (NCBI, 2023).

Tromboksan A2 (TXA2) merupakan lipid yang bertanggung jawab sebagai penguat induksi kuat agregasi platelet, sehingga menyebabkan pembentukan bekuan darah dan risiko infark miokard atau stroke (NCBI, 2023). TXA2 bekerja pada reseptor permukaan platelet dan mengaktifasi fosfolipase C, menyebabkan pembentukan inositol trifosfat yang mengakibatkan peningkatan kalsium intraseluler. Kalsium mengubah reseptor GPIIb/IIIa inaktif pada membran platelet menjadi konformasi dengan afinitas yang tinggi terhadap fibrinogen, sehingga membentuk ikatan silang antarplatelet dan menyebabkan agregasi (Neal, 2006). Aspirin memblokir produksi tromboksan A2 dengan mengasetilasi residu serin secara kovalen di dekat sisi aktif siklooksigenase, yaitu enzim yang menghasilkan prekursor endoperoksida siklik tromboksan A2.

Hasil analisis statistik *one-way anova* waktu perdarahan dan waktu pembekuan pada kelompok P1, P2, dan P3 menunjukkan adanya pengaruh jus cacing yang diberikan. Cacing tanah mengandung enzim fibrinolitik lumbrokinase yang bekerja melarutkan fibrin secara langsung menjadi fibrin degradation product (FDP), dan secara tidak langsung mengubah plasminogen menjadi plasmin dengan menginduksi aktivitas t-PA endogen untuk melarutkan bekuan fibrin (Cao *et al.* 2013; Li *et al.* 2012). Enzim lumbrokinase juga diketahui dapat menurunkan kadar fibrinogen, menurunkan viskositas darah, dan mengurangi agregasi trombosit (Sukmawan, 2020). FDP akan bersaing dengan fibrinogen untuk mengikat membran trombosit dan mengganggu agregasi trombosit (Jennings & White, 2007). Dengan dihambatnya agregasi trombosit tersebut, maka waktu perdarahan dan waktu pembekuan darah akan meningkat. Hasil ini serupa dengan penelitian Hosseinpour *et al.* (2015) dan Trisina *et al.* (2011) bahwa ekstrak cacing tanah mampu meningkatkan waktu perdarahan dan waktu pembekuan.

Enzim lumbrokinase bekerja mengurangi agregasi trombosit dengan cara meningkatkan kadar cyclic adenosine monophosphate (cAMP) dan menghambat kenaikan kalsium (Ca^{2+}) trombosit intraseluler (Ji *et al.* 2008). Kadar kalsium ekstraseluler yang lebih tinggi dan cAMP yang lebih rendah membuat trombosit lebih reaktif sehingga beragregasi pada tingkat stimulasi agonis yang bahkan lebih rendah. Peningkatan kadar cAMP intraseluler mengakibatkan terhambatnya aktivasi dan adhesi trombosit, dan pelepasan isi granula trombosit (Katoh *et al.* 2000). Enzim lumbrokinase meningkatkan kadar cAMP intraseluler baik secara langsung maupun dengan meningkatkan aktivitas adenylate cyclase yang mengarah pada penekanan fungsi dan agregasi trombosit.

Rerata jumlah trombosit kelompok tikus KN dalam kisaran normal (Tabel 1), sesuai dengan pernyataan Giknis & Clifford (2008) bahwa kadar trombosit normal tikus *Rattus norvegicus* berkisar antara 638.000-1.177.000/ μ L darah. Pada penelitian ini, jumlah trombosit kelompok KN paling tinggi sedangkan kelompok KP paling rendah diantara semua kelompok. Semua kelompok perlakuan jus cacing (P1, P2, P3) menunjukkan jumlah trombosit yang lebih tinggi daripada KP. Sementara itu, jumlah trombosit pada kelompok perlakuan jus cacing dari terendah hingga tertinggi berturut-turut yakni P2, P1, kemudian P3. Hasil analisis statistik *one-way anova* menunjukkan semua kelompok perlakuan tidak berbeda signifikan.

Pemeriksaan jumlah trombosit bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian jus cacing tanah terhadap perubahan jumlah trombosit tikus yang sebelumnya diberi asam traneksamat.

Trombosit berperan penting dalam proses homeostasis dengan cara membentuk sumbat trombosit pada pembuluh darah dan membentuk mekanisme hemostatik primer yang efektif. Pembentukan sumbat trombosit terjadi melalui beberapa tahap yaitu adhesi trombosit, agregasi trombosit, dan reaksi pelepasan. Skrining hemostasis dilakukan guna memeriksa kelainan terkait hemostasis seperti *prothrombine time* (PT), *activated partial thromboplastin time* (aPTT), *thrombine time* (TT), dan pengukuran kadar fibrinogen. Selain itu, perlu dilakukan pemeriksaan jumlah trombosit (*platelet count*/PLT) dan keadaan faktor ekstrasvaskular dengan melakukan pemeriksaan *bleeding time* (BT) dan *clotting time* (CT).

Gangguan jumlah trombosit dapat menyebabkan perdarahan abnormal (Sacher & McPherson, 2012). Jika jumlah trombosit terlalu rendah, hal tersebut akan menyebabkan waktu perdarahan yang lama dan waktu pembekuan yang tidak normal. Penurunan jumlah trombosit sering ditemukan pada pasien dengan gangguan fungsi trombosit seperti pada pasien penyakit von-Willebrand (Becker *et al.* 2018). Pada manusia, ketika jumlah trombosit $<100.000 \text{ sel/mm}^3$, fungsi trombosit akan terganggu sehingga integritas vaskular berkurang dan menyebabkan kerusakan vaskular sehingga muncul manifestasi perdarahan (Maharani *et al.* 2018).

Penurunan jumlah trombosit terjadi akibat penghambatan agregasi trombosit yang mengarah pada pemanjangan waktu perdarahan dan waktu pembekuan. Penurunan jumlah trombosit hanya terlihat pada kelompok P2 dengan nilai yang hampir setara dengan KP, sementara pada P1 dan P3 tidak mengalami penurunan. Hal ini diduga diakibatkan oleh waktu perlakuan yang kurang lama. Semakin lama waktu perlakuan, akan semakin besar kemungkinan asam traneksamat bekerja dalam menginduksi trombosit dan jus cacing akan bekerja lebih spesifik menurunkan jumlah trombosit, sehingga kemampuan jus cacing terhadap jumlah penurunan trombosit akan semakin terlihat.

Secara teoritis, jumlah trombosit berkorelasi terbalik dengan waktu perdarahan dan waktu pembekuan. Pada penelitian ini, waktu perdarahan dan pembekuan yang meningkat tidak disertai dengan penurunan jumlah trombosit. Selain karena faktor lamanya waktu perlakuan, hal ini diduga karena target aktivitas enzim lumbrokinase secara khusus pada fibrin dan tidak spesifik pada penurunan trombosit. Sementara agen trombolitik lainnya seperti tPA, streptokinase, dan urokinase (uPA) tidak secara khusus ditargetkan untuk fibrin (Dickey *et al.* 2017). Enzim lumbrokinase membantu mengurangi agregasi trombosit melalui rantai reaksi pada fibrin, cAMP, dan kalsium, yang dikaitkan dengan kenaikan waktu perdarahan dan waktu pembekuan (Sukmawan, 2020; Ji *et al.* 2008). Waktu perdarahan yang lebih lama dengan jumlah trombosit yang normal kemungkinan menunjukkan adanya gangguan trombosit kualitatif.

SIMPULAN

Pemberian jus cacing tanah pada tikus yang diberi asam traneksamat berpengaruh signifikan meningkatkan waktu perdarahan dan waktu pembekuan darah, namun tidak berpengaruh signifikan menurunkan jumlah trombosit. Hal ini menunjukkan bahwa cacing tanah berpotensi dikembangkan sebagai obat terapi fibrinolitik yang aman tanpa risiko perdarahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alban, S. (2012). Adverse effects of heparin. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 4, 211-264. https://doi.org/10.1007/978-3-642-23056-1_10
- Aristedis, R., & Dimitrios, B. (2017). Spinal epidural hematoma mimicking subarachnoid hemorrhage: a case study. *Surgical Neurology International*, 8(182). https://doi.org/0.4103/sni.sni_197_17
- Bain, B. J. (2014). *Hematologi : Kurikulum Inti* (20th ed.; A. S. J. Suyono & F. Sandra, Eds.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Becker, R. C., Sexton, T., & Smyth, S. (2018). Translational implications of platelets as vascular first responders. *Circulation Research*, 122(3), 506-522. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.310939>
- Cai, J., Ribkoff, J., Olson, S., Raghunathan, V., Al-samkari, H., Deloughery, T. G., Shatzel, J. J. (2020). The many roles of tranexamic acid: An overview of the clinical indications for TXA in medical and surgical patients. *European Journal of Haematology*, 104(2), 79-87. <https://doi.org/10.1111/ejh.13348>
- Cao, Y. J., Zhang, X., Wang, W. H., Zhai, W. Q., Qian, J. F., Wang, J. S., ... Liu, C. F. (2013). Oral fibrinogen-depleting agent lumbrokinase for secondary ischemic stroke prevention: results from a multicenter, randomized, parallelgroup and controlled clinical trial. *Chinese Medical Journal*, 126(21), 4060-4065. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20131332>
- Chauncey, J. M., & Wieters, J. S. (2020). Tranexamic acid. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

- Corwin, E. J. (2009). *Buku Saku Patofisiologi*. Jakarta: Penerbit EGC.
- Dewoto, H. R. (2007). Antikoagulan, antitrombotik, trombolitik dan hemostatik. In S. Gunawan, R. Setiabudy, Nafrialdi, & Elysabeth (Eds.), *Farmakologi dan Terapi* (5th ed., pp. 804-806, 816-819). Jakarta: FK UI.
- Dickey, A., Wang, N., Cooper, E., Tull, L., Breedlove, D., Mason, H., ... Wang, K. Y. (2017). Transient expression of lumbrokinase (PI239) in tobacco (*Nicotiana tabacum*) using a geminivirus-based single replicon system dissolves fibrin and blood clots. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 609301. <https://doi.org/10.1155/2017/6093017>
- Dong, Y., Woo, Y. M., Lee, Y. H., Ahn, M. Y., Lee, D. G., Lee, S. H., ... Kim, A. (2019). Data on the potent fibrinolytic effects of the *Lumbricus rubellus* earthworm and the *Perinereis lineata* lugworm. *Data in Brief*, 26, 104484. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104484>
- Dubey, R., Kumar, J., Agrawala, D., Char, T., & Pusp, P. (2011). Isolation, production, purification, assay and characterization of fibrinolytic enzymes (Nattokinase, Streptokinase and Urokinase) from bacterial sources. *African Journal of Biotechnology*, 10(8), 1408-1420. <https://doi.org/10.5897/AJB10.1268>
- Gandasoebrata, R. (2013). *Penuntun laboratorium klinis*. Jakarta: Dian Rakyat
- Ge, L., Ouyang, X., Ban, C., Yu, H., Wu, Q., Wu, H., & Liang, J. (2019). Cerebral microbleeds in patients with ischemic cerebrovascular disease taking aspirin or clopidogrel. *Medicine*, 98(9), 1-7. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000014685>
- Ge, Y. H., Chen, Y. Y., Zhou, G. S., Liu, X., Tang, Y. P., Liu, R., ... Duan, J. A. (2018). A novel antithrombotic protease from marine worm sipunculus nudus. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), 1-17. <https://doi.org/10.3390/ijms19103023>
- Giknis, M L A., Clifford, C. B. (2008). Clinical laboratory parameters for crl: WI(Han) Rats. *Charles River Laboratories*, 1-14. Retrieved from [https://www.criver.com/sites/default/files/TechnicalResources/ClinicalLaboratoryParametersforCrl-WI\(Han\)Rats-March2008.pdf](https://www.criver.com/sites/default/files/TechnicalResources/ClinicalLaboratoryParametersforCrl-WI(Han)Rats-March2008.pdf)
- Global Health Estimates (2016). Deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000-2016. retrieved from Geneva: World Health Organization website: www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html
- Hanson, E. (2012). *The hemostatic pathway in ischemic stroke. clinical studies of genetic variation and plasma protein measurements*. Sweden: University of Gothenberg.
- Heckmann, J. G. (2016). Spinal subarachnoid hemorrhage in cortical superficial siderosis after apixaban and clopidogrel therapy. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 41(4), 654-655. <https://doi.org/10.1007/s11239-015-1329-9>
- Hogg, K., & Weitz, J. I. (2017). Blood coagulation and anticoagulant, fibrinolytic, and antiplatelet drugs. In L. L. Brunton, R. Hilal-Dandan, & B. C. Knollmann (Eds.), *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e (p. 597). USA: McGraw-Hill Medical.
- Hosseinpour, D., Nazifi, S., & Kavooosi, G. (2015). Effect of earthworm *Eisenia fetida* extract on blood and liver enzymes in Wistar rats. *Online Journal of Veterinary Research*, 19(2), 116-123. Retrieved from www.researchgate.net/publication/272505523
- Ivlev, D. A., Shirinli, S. N., Guria, K. G., Uzlova, S. G., & Guria, G. T. (2019). Control of fibrinolytic drug injection via real-time ultrasonic monitoring of blood coagulation. *PLoS ONE*, 14(2), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211646>
- Jennings, L. K., & White, M. M. (2007). Platelet aggregation. In A. D. Michelson (Ed.), *Platelets* (2nd ed., pp. 495-507). <https://doi.org/10.32388/0z6bp0>
- Ji, W., Xu, P., Li, Z., Lu, J., Liu, L., Zhan, Y., ... Chen, L. (2008). Functional stoichiometry of the unitary calcium-release-activated calcium channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(36), 13668-13673. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806499105>
- Katoh, H., Schlotthauer, K., & Bers, D. M. (2000). Transmission of information from cardiac dihydropyridine receptor to ryanodine receptor: Evidence from BayK 8644 effects on resting Ca²⁺ sparks. *Circulation Research*, 87(2), 106-111. <https://doi.org/10.1161/01.RES.87.2.106>
- Kemenkes, RI. (2014). Pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI Situasi Kesehatan Jantung.
- Kemenkes RI. (2019). Laporan Riskesdas 2018 Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. *Laporan Nasional Riskesdas 2018*, 53, 144-174. Retrieved from [http://www.yankes.kemkes.go.id/assets/downloads/PMK No. 57 Tahun 2013 tentang PTRM.pdf](http://www.yankes.kemkes.go.id/assets/downloads/PMK%20No.%2057%20Tahun%202013%20tentang%20PTRM.pdf)
- Li, G. Q., Wang, K. Y., Li, D. H., Wang, N., & Liu, D. H. (2012). Cloning, expression and characterization of a gene from earthworm *Eisenia fetida* encoding a blood-clot dissolving

- protein. *PLoS ONE*, 7(12), e53110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053110>
- Lioudaki, E. L., & Ganotakis, E. S. (2010). Associations of thrombotic-hemostatic factors with cardiovascular disease. *Open Clinical Chemistry Journal*, 3, 25-37. <https://doi.org/10.2174/1874241601003020025>
- Lozano, R., Naghavi, M., Foreman, K., Lim, S., Shibuya, K., Aboyans, V., ... Murray, C. J. L. (2012). Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: A systematic analysis for the global burden of disease study 2010. *The Lancet*, 380(9859), 2095–2128. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61728-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61728-0)
- Lutz, J., Menke, J., Sollinger, D., Schinzel, H., & Thürmel, K. (2014). Haemostasis in chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(1), 29-40. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft209>
- Maharani, D. Y., Apriliana, E., & Angraini, D. I. (2018). Hubungan hasil pemeriksaan penunjang terhadap manifestasi perdarahan pasien demam berdarah dengue di SMF anak RSUD Dr.A.Dadi Tjokrodipo Bandar Lampung. *Jurnal Majority*, 7(3), 56-61.
- McCormack, P. L. (2012). Tranexamic acid: A review of its use in the treatment of hyperfibrinolysis. *Drugs*, 72(5), 585-617. <https://doi.org/10.2165/11209070-000000000-00000>
- NCBI. (2023). PubChem compound summary for CID 2244, aspirin. Retrieved from February 23, 2023 website: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Aspirin.
- Neal, M. J. (2006). *At a glance farmakologi medis* (5th ed.). Yogyakarta: Penerbit Erlangga.
- Pradnyani, G. A. P. I., Ardana, I. B. K., & Kartini, N. L. (2019). Pemberian tepung cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dalam pakan terhadap jumlah trombosit dan nilai MPV (mean platelet volume) pada anak babi landrace jantan lepas sapih. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(3), 289-297. <https://doi.org/10.19087/imv.2019.8.3.289>
- Roberts, I., Perel, P., Prieto-Merino, D., Shakur, H., Coats, T., Hunt, B. J., ... Willett, K. (2012). Effect of tranexamic acid on mortality in patients with traumatic bleeding: Prespecified analysis of data from randomised controlled trial. *BMJ*, 345(7877), 1-8. <https://doi.org/10.1136/bmj.e5839>
- Sacher, R. A., & McPherson, R. A. (2012). *Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium* (11th ed.). Jakarta: Penerbit EGC.
- Saraswati, D., & Lina, N. (2020). Faktor risiko penyakit jantung pada masyarakat di pos pembinaan terpadu (Posbindu) Puskesmas Cibeureum. *Journal Health & Science : Gorontalo Journal Health and Science Community*, 4(1), 1-7. <https://doi.org/10.35971/gojhes.v2i1.4426>
- Sidrotullah, M. S. (2021). Efek waktu henti perdarahan (bleeding time) daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) pada mencit (*Mus musculus*). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(1), 37-44. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v3i1.9909>
- Sukmawan, Y. P. (2020). Lumbrokinase reduced the fibrinogen concentration in ischemic cerebrovascular disease patients: a systematic review and meta-analysis. *Indonesian Journal of Clinical Pharmacy*, 9(1), 43-49. <https://doi.org/10.15416/ijcp.2020.9.1.43>
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2002). *Obat-obat penting, khasiat penggunaan dan efek-efek sampingnya* (5th ed.). Jakarta: PT. Gramedia.
- Trisina, J., Sunardi, F., Suhartono, M. T., & Tjandrawinata, R. R. (2011). DLBS1033, a protein extract from *Lumbricus rubellus*, possesses antithrombotic and thrombolytic activities. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011(519652). <https://doi.org/10.1155/2011/519652>
- Uesugi, Y., Kawata, H., Jo, J. I., Saito, Y., & Tabata, Y. (2010). An ultrasound-responsive nano delivery system of tissue-type plasminogen activator for thrombolytic therapy. *Journal of Controlled Release*, 147(2), 269-277. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.07.127>