

## Efek Angiogenesis Lumbrokinase terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Galur Wistar Hipertensi

### *Angiogenesis Effect of Lumbrokinase on the Cardiac Histopathology of Hypertensive Wistar Rat*

Sharfina, Suryono, Arief Suseno  
Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121  
e-mail: sharfina.zone@yahoo.com

#### **Abstract**

*Hypertension remains a serious health problem it is dubbed as “the silent killer”. Pathophysiology of hypertension involve alteration of vascular structure. The use of anti hypertension leads to many side effects, and many people tend to choose natural therapy. The study aimed to investigate the effect of lumbrokinase on angiogenesis as a hypertension therapy agent. In true experimental design, 22 males wistar rat were divided into control group and treatment group (Lumbrokinase 0.5 gr/KgBW/day). The results showed that the systolic blood pressure decrease after therapy with lumbrokinase from 187 mmHg to 159 mmHg whereas diastolic blood pressure consistant at 80 mmHg after induction of hypertension as well as therapy of lumbrokinase. An examination of cardiac histopathology, there was an increasing number of blood vessels in the treatment group,  $10.55 \pm 1.44$  compared to  $7.45 \pm 1.21$  in control group. It can be concluded that lumbrokinase had an angiogenesis effect and decrease systolic blood pressure in hypertensive rat model.*

**Keyword** : Hypertension, lumbrokinase, vascular structure, angiogenesis.

#### **Abstrak**

Hipertensi sampai saat ini masih merupakan masalah serius dalam bidang kesehatan, hipertensi disebut sebagai “the silent killer”. Patofisiologi hipertensi melibatkan adanya perubahan struktur vaskular. Dengan adanya efek samping terhadap penggunaan obat anti hipertensi, mendorong masyarakat untuk memilih pengobatan dari bahan alami. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek lumbrokinase terhadap angiogenesis pada hipertensi. Dengan menggunakan desain eksperimental murni, 22 wistar jantan dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (Lumbrokinase 0,5 gr/KgBB/hari). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan sistolik setelah diberikan terapi dengan lumbrokinase dari 187 mmHg menjadi 159 mmHg, sedangkan tekanan diastolikny tidak mengalami perubahan, yaitu 80 mmHg setelah induksi hipertensi maupun setelah terapi lumbrokinase. Pada pengamatan gambaran histopatologi jantung, didapatkan peningkatan jumlah pembuluh darah pada kelompok perlakuan, dengan rata-rata  $10,55 \pm 1,44$  pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan  $7,45 \pm 1,21$  pada kelompok kontrol. Dapat disimpulkan bahwa lumbrokinase mempunyai efek angiogenesis dan dapat menurunkan tekanan darah sistolik pada model tikus hipertensi.

**Kata kunci**: Hipertensi, lumbrokinase, struktur vaskular, angiogenesis.

## Pendahuluan

Hipertensi merupakan salah satu masalah yang serius dalam bidang kesehatan, disebut sebagai *the silent killer*. Angka kejadian hipertensi hampir sama besar baik di Negara yang sedang berkembang maupun di Negara maju [1]. Menurut survey yang dilakukan oleh World Health Organization (WHO) pada tahun 2000, jumlah penduduk dunia yang menderita hipertensi untuk pria sekitar 26,6% dan wanita sekitar 26,1% dan diperkirakan pada tahun 2025 jumlahnya akan meningkat menjadi 29,2% [2].

Patofisiologi yang terjadi pada hipertensi diantaranya adalah adanya perubahan pada struktur vaskular. Oleh karena itu untuk mengatasinya dapat dilakukan stabilisasi homeostasis vaskular dan pertumbuhan pembuluh darah baru melalui pro-angiogenik atau terapi anti hipertensi jangka panjang dengan ACE inhibitor [3]. Akibat dari timbulnya efek samping terhadap pengobatan antihipertensi, masyarakat cenderung memilih pengobatan alternatif komplementer, yaitu gabungan antara inkonvensional dan konvensional [4][5]. Salah satu penggunaan *biosimilar* yang digunakan sebagai obat penyakit kardiovaskular adalah lumbrokinase. Lumbrokinase adalah ekstrak enzim dari saluran cerna cacing tanah *Lumbricus rubellus*. Lumbrokinase diketahui berpotensi sebagai fibrinolitik dan antitrombotik pada kejadian trombotik, seperti pada kejadian infark miokard dan stroke yang menyebabkan kecacatan dan fatal pada manusia [6]. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek angiogenesis lumbrokinase terhadap gambaran histopatologi pembuluh darah jantung tikus yang dibuat hipertensi.

## Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan true experimental design, dilaksanakan di tiga tempat, yaitu di Laboratorium Biomedik Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk pemeliharaan tikus, Laboratorium Farmasi Klinik dan Komunitas Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pemeriksaan tekanan darah tikus, serta Laboratorium Patologi Anatomi RSAL dr Ramelan Surabaya untuk pembuatan dan pembacaan preparat histologi jantung tikus pada bulan September s/d Oktober 2014.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 22 ekor tikus wistar jantan yang dibagi menjadi 2 kelompok baik perlakuan maupun kontrol, masing-masing sejumlah 11 ekor tikus. Pada dua kelompok dilakukan induksi hipertensi dengan menggunakan prednison 1,5 mg/KgBB + NaCl 2%. Tekanan darah diukur 14 hari setelah pemberian prednison. Kemudian pada kelompok perlakuan diberikan Lumbrokinase dengan dosis 0,5 gram/KgBB/hari selama 8 hari, setelahnya dilakukan pengukuran tekanan darah kembali. Pengukuran tekanan darah menggunakan tempat khusus (cuff) dan detektor denyut, keduanya diletakkan pada ekor tikus dan dihubungkan dengan perekam tekanan darah. Pada permulaan, tikus harus dihangatkan dengan suhu 37°C pada papan yang hangat sekitar 15 menit (jika tidak hangat, denyut tidak terdeteksi pada detektor). Pada cuff dipasang karet disposibel, yang dipasang pertama pada ekor tikus, kemudian diikuti dengan cuff sebagai detektor denyut. Pada permulaan denyut tikus dicoba dilihat dulu dan jika bagus, maka perekaman dimulai dan denyut akan tercatat. Cuff otomatis akan mengembang menekan ekor tikus yang dialiri darah, dan denyut aliran darah akan terdeteksi walaupun tidak lama. Denyut yang terukur ini merupakan tekanan darah sistolik tikus. Pada hari ke-9 setelah terapi, dilakukan pemeriksaan histopatologi jantung. Pembuatan preparat histologi dengan metode parafin blok dan pewarnaan HE.

Untuk pemeriksaan histopatologi menggunakan pembesaran objektif 40x dalam 3 lapang pandang. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah pembuluh darah kapiler yang terbentuk kemudian dibandingkan jumlahnya dengan kelompok kontrol. Analisis data yang digunakan adalah analisis uji beda *independent sample t-test*.

## Hasil Penelitian

Dari penelitian ini didapatkan rata-rata tekanan darah sistolik dan diastolik pada kelompok kontrol dan perlakuan (tabel 1 dan tabel 2).

Tabel 1. Rata-rata tekanan darah sistolik pada kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	TDS* (mmHg ± SD)		
	Hari ke-1	Hari ke-14	Hari ke-22
Kontrol	145 ± 5,36	185 ± 3,52	180 ± 2,62
Perlakuan	145 ± 9,47	187 ± 3,72	159 ± 2,86

\*TDS=Tekanan Darah Sistolik

Tabel 2. Rata-rata tekanan darah diastolik pada kelompok kontrol dan perlakuan

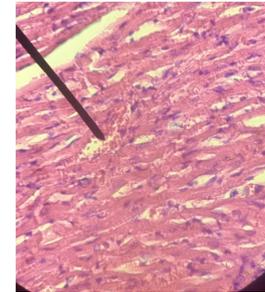
Kelompok	TDD* (mmHg ± SD)		
	Hari ke-1	Hari ke-14	Hari ke-22
Kontrol	80 ± 0,27	80 ± 0	80 ± 0,31
Perlakuan	80 ± 0,26	80 ± 0,40	80 ± 0,13

\*TDD=Tekanan Darah Diastolik

Berdasarkan table 1 dan 2 diatas pada kelompok perlakuan setelah diberi terapi selama 8 hari dengan lumbrokinase tampak penurunan tekanan sistolik dengan rata-rata tekanan sistolik dari 187 mmHg menjadi 159 mmHg dan tekanan diastolik yang stabil sebesar 80 mmHg. Kemudian dilakukan uji *independent sample t-test*, didapatkan hasil pada tekanan sistolik setelah diberi perlakuan  $p=0,00$  dan hasil pada tekanan diastolik  $p=0,329$ . Hasil uji analisis data tekanan darah sistolik didapatkan  $p<0,05$  dan diastolik  $p>0,05$  yang artinya terdapat perbedaan tekanan darah sistolik pada kelompok perlakuan dan kontrol, tetapi tidak terdapat perbedaan diastolik antara kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberikan terapi lumbrokinase.

Penghitungan jumlah pembuluh darah untuk mengetahui efek angiogenesis lumbrokinase setelah dibuat hipertensi dilakukan secara mikroskopis dengan pembesaran objektif 40x dilakukan di 3 lapang pandang dengan cara membandingkan jumlah pembuluh darah kapiler yang dilapisi sel endotel antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Peningkatan angiogenesis ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah pembuluh darah yang terbentuk. Dari penelitian ini diketahui bahwa rata-rata jumlah pembuluh darah yang terbentuk pada kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol.

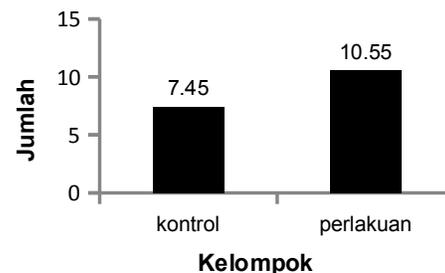
Gambaran pembuluh darah kapiler pada kelompok perlakuan ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Gambaran histopatologi jantung dengan pewarnaan HE dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran obyektif 40x. Kelompok Perlakuan, dalam 1 lapang pandang terdapat 3 pembuluh darah kapiler.

Setelah dilakukan pengamatan dalam 3 lapang pandang didapatkan jumlah rata-rata pembuluh darah kapiler adalah 7,45 pada kelompok kontrol sedangkan pada kelompok perlakuan sebanyak 10,55.

Berdasarkan data rata-rata jumlah pembuluh darah pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan dapat digambarkan melalui grafik yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik diagram batang perbandingan jumlah pembuluh darah pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Peningkatan jumlah pembuluh darah antara kelompok kontrol dan perlakuan dilakukan analisis data dengan menggunakan *independent sample t-test*. Hasilnya menunjukkan nilai  $p=0,00$  (yang berarti  $p < 0,05$ ) maka terdapat perbedaan yang bermakna antara jumlah pembuluh darah kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

## Pembahasan

Proses angiogenesis merupakan suatu proses pertumbuhan pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh, baik dalam kondisi fisiologis maupun patologis. Apabila terjadi kerusakan terjadi kerusakan jaringan, proses angiogenesis berperan dalam mempertahankan kelangsungan fungsi berbagai jaringan dan organ yang terkena. Hal ini terjadi melalui terbentuknya pembuluh darah baru yang menggantikan pembuluh darah yang rusak. Pada hipertensi terjadi ketidaknormalan pada dinding pembuluh darah. Untuk mengatasinya dapat dilakukan stabilisasi homeostasis vaskular dan pertumbuhan baru *microvessels* melalui proses angiogenesis. Beberapa mediator yang berperan dalam proses angiogenesis antara lain kelompok faktor angiogenik yang memiliki target sel endotel seperti VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), kelompok yang mengaktifasi sel target secara luas selain sel endotel seperti sitokin, kemokin dan enzim angiogenik, serta kelompok ketiga yang merupakan faktor yang bekerja tidak langsung yang dihasilkan dari makrofag [7].

Lumbrakinase merupakan *obat-obatan biosimilar* yang berperan sebagai fibrinolitik dan trombolitik. Dari berbagai penelitian didapat bahwa *Lumbricus rubellus* memiliki kandungan protein yang tinggi antara lain mengandung enzim Lumbrakinase, peroksidase, katalase, dan selulosa [8]. Berdasarkan pengamatan histopatologi jantung dapat diketahui bahwa jumlah pembuluh darah kelompok perlakuan mengalami peningkatan dibandingkan dengan jumlah pada kelompok kontrol.

Penelitian yang dilakukan Ye Shize menunjukkan adanya ketidaknormalan dari dinding pembuluh darah (disfungsi endotelium atau kerusakan sel endotelium), ketidaknormalan faktor homeostasis, platelet, dan fibrinolisis yang diduga hipertensi dapat menyebabkan protombotik dan hiperkoagulasi yang semakin lama akan semakin parah dan merusak organ target [9]. Berdasarkan mekanisme tersebut lumbrakinase ini juga dapat menurunkan tekanan darah melalui proses fibrinolitik dan trombolitik pada hipertensi yang beresiko trombosis [10].

Pada penelitian ini membuktikan bahwa lumbrakinase menyebabkan efek angiogenesis terhadap gambaran histopatologi jantung serta berperan pada penurunan tekanan darah sistolik pada tikus yang dibuat hipertensi .

## Simpulan dan Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan Lumbrakinase dengan dosis 0,5 gram/KgBB/hari dapat menyebabkan efek angiogenesis dan menurunkan tekanan darah sistolik pada tikus model hipertensi.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait bioaktivitas spesifik dari enzim lumbrakinase yang berperan pada proses angiogenesis.

## Daftar Pustaka

- [1] Rahajeng E, Sulistyowati T. Prevalensi Hipertensi dari Determinannya di Indonesia [Internet]. 2009 ; (39)2: [about 8pp.]. Available from : <http://indonesia.digitaljournals.org/index.php/idnmed/article/download/700/699> .
- [2] Apriany RE. Asupan Protein, Lemak Jenuh, Natrium, Serat dan IMT Terkait Dengan Tekanan Darah Pasien Hipertensi Di RSUD TUGUREJO SEMARANG. J Nutrition College. 2012; 700-714.
- [3] Humar R, Zimmerli L, Battegay. E. Angiogenesis and Hypertension : an update. Journal of Human Hypertension Division and Research Unit of Internal Medicine, University , Zurich Switzerland. 2009; 23: 773-782.
- [4] Roeswim AP. Antihypertensive Effect of *Brucea javanica* (L.) Merr. Fruit Extract. Makara Journal of Science. 2012. 71-76.
- [5] Yulianti S. 30 Ramuan Penakluk Hipertensi. Jakarta : Agro Media Pustaka; 2006.
- [6] Gayatri A, Purwastyastuti.. Penggunaan Lumbrakinase sebagai Fibrinolitik dan Antitrombotik Oral [Internet]. 2013 ; 40 (3):[about 4 pp.]. Available from: <http://www.kalbemed.com>
- [7] Frisca SCT , Sandra F. Angiogenesis: Patofisiologi dan Aplikasi Klinis. JKM. 2009; 8 (2): 174-87.
- [8] Palungkun R. Sukses Beternak Cacing Tanah. Jakarta : Penebar Swadaya ; 2008.
- [9] Shize Y, AiHua S, WeiDi G, YueXian J, JianPing Z. Lumbrakinase in Treatment of primary Hypertension in 51 Patients. Clinical Medicine Zheijang Institute of Traditional Chinese Medicine.

2007: 27(93) : 59-60.  
[10] Mihara H, Sumi H, Akazawa K. A Novel

Fibrinolytic Enzyme Extracted from the  
Earthworm, *Lumbricus rubellus*.  
Japanese J. Physicol. 1991;41: 461-47.