

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Proses pembekuan darah merupakan hal yang normal terjadi pada tubuh sebagai upaya menghentikan pendarahan jika pembuluh darah terbuka, contohnya akibat luka. Gumpalan darah yang terbentuk di dalam pembuluh darah dikenal sebagai trombus. Walaupun proses pembekuan darah dapat melindungi seseorang dari hilangnya darah yang berlebihan akibat luka, terbentuknya trombus yang tidak diinginkan dalam pembuluh darah dapat mengakibatkan penyumbatan pembuluh darah. Sumbatan tersebut dapat berujung pada penyakit vaskuler letal, seperti penyakit jantung koroner maupun stroke iskemik (Dean, 2005).

Agen fibrinolitik banyak digunakan sebagai pengobatan untuk mengatasi penyakit kardiovaskuler yang diakibatkan oleh penggumpalan darah, seperti stroke iskemik dan embolisme paru-paru yang dapat berakibat fatal. Pengobatan untuk menghancurkan trombus dapat dilakukan dengan pencegahan, operasi pengangkatan trombus, maupun peluruhan trombus menggunakan agen atau enzim fibrinolitik. Terdapat beberapa jenis enzim yang memiliki aktivitas fibrinolitik yang dapat diekstraksi dari kultur bakteri. Beberapa di antaranya adalah nattokinase yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis*, agen fermentasi makanan khas Jepang, natto; serta streptokinase yang diekstraksi dari beberapa *strain*  $\beta$ -hemolitik *Streptococcus*, salah satu contohnya adalah *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* SK-6 (Bhardwaj & Angayarkanni, 2014; Dean, 2005; Chen *et al.*, 2018).

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan di laboratorium Program Studi Biologi, Universitas Pelita Harapan, telah diisolasi bakteri *B. subtilis* yang

menunjukkan aktivitas fibrinolitik. Isolat bakteri tersebut yaitu *Bacillus subtilis* G8 yang diisolasi dari natto yang dikomersialisasi di Indonesia (Jap *et al.*, 2019; Pinontoan *et al.*, 2021; Dikson *et al.*, 2022) dan *B. subtilis* IFP1.1 yang diisolasi dari saluran pencernaan babi (Elvina, 2019; Fredrik, 2019). Sebelum diteliti, protein perlu diisolasi terlebih dahulu. Salah satu metode yang umum digunakan untuk mengisolasi protein ekstraseluler adalah menggunakan metode presipitasi. Presipitasi protein dapat dilakukan menggunakan berbagai macam reagen, contohnya aseton dan amonium sulfat; dan setiap metode memiliki keunggulan dan kelemahannya masing-masing. Hal utama yang perlu diperhatikan adalah aktivitas dan stabilitas protein yang harus tetap terjaga setelah proses presipitasi. Protein yang teragregasi dalam proses presipitasi akan sulit untuk dilarutkan kembali ke dalam *buffer* sehingga berefek negatif terhadap *recovery percentage* dari protein (Duan *et al.*, 2009; Pérez-Rodríguez *et al.*, 2020). Berdasarkan alasan tersebut, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi metode yang paling tepat dalam mengisolasi protein ekstraseluler. Oleh karena itu studi lanjut dilakukan dengan membandingkan dua jenis metode presipitasi protein terhadap potensi dua *strain Bacillus subtilis* (G8 dan IFP1.1) sebagai agen fibrinolitik.

## **1.2 Rumusan Masalah**

*Bacillus* spp. telah dikenal memiliki potensi sebagai penghasil agen fibrinolitik yang dapat dikembangkan hingga tahap komersialisasi sebagai terapi untuk mengatasi trombosis. Beberapa *strain Bacillus* spp. diketahui dapat menghasilkan protein yang memiliki aktivitas fibrinolitik. Walaupun demikian, perlu dilakukan pengembangan untuk mengisolasi agen fibrinolitik menggunakan

metode yang dapat menjaga kestabilan dan aktivitas sampel. Oleh karena itu, perlu dilakukan perbandingan terhadap hasil presipitasi protein dengan aseton dan amonium sulfat terhadap beberapa *strain Bacillus subtilis*.

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan Umum**

Tujuan umum dari penelitian ini yaitu membandingkan aktivitas enzim fibrinolitik dari *Bacillus subtilis* G8 dan IFP1.1 yang dipresipitasi dengan dua jenis metode presipitasi protein, yaitu menggunakan aseton dan amonium sulfat.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

Secara khusus, penelitian ini bertujuan untuk:

- 1) melakukan dua jenis metode presipitasi protein ekstraseluler dari *Bacillus subtilis* G8 dan IFP1.1, yaitu dengan aseton dan amonium sulfat;
- 2) membandingkan aktivitas degradasi gumpalan darah dari ekstrak kasar enzim secara kualitatif dan kuantitatif berdasarkan persentase degradasi gumpalan darah dan jumlah sel darah yang terlepas dari gumpalan darah dengan hemositometer;
- 3) membandingkan aktivitas fibrinolitik dari ekstrak enzim kasar melalui uji degradasi gumpalan *euglobulin* dan uji degradasi fibrin secara kuantitatif dengan *sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE);
- 4) mengidentifikasi protein dengan aktivitas fibrinolitik dari ekstrak enzim dengan metode *fibrin zymography*;
- 5) membandingkan aktivitas fibrinolitik dari ekstrak enzim dengan metode *euglobulin agar plate*.