

**STUDI LITERATUR UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
FIBRINOLITIK DARI BAKTERI *Bacillus subtilis* PADA GALUR YANG
BERBEDA MENGGUNAKAN METODE PLAT FIBRIN SECARA *In Vitro***



Oleh :

**Mohamad Andry Irfani
NIM. 22164895A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2020**

**STUDI LITERATUR UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
FIBRINOLITIK DARI BAKTERI *Bacillus subtilis* PADA GALUR YANG
BERBEDA MENGGUNAKAN METODE Plat fibrin SECARA *In Vitro***



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)*

*Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Mohamad Andry Irfani
NIM. 22164895A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2020**

PENGESAHAN PENELITIAN

Dengan Judul :

**STUDI LITERATUR UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM
FIBRINOLITIK DARI BAKTERI *Bacillus subtilis* PADA GALUR YANG
BERBEDA MENGGUNAKAN METODE Plat fibrin SECARA *In Vitro***

Oleh :

**Mohamad Andry Irfani
22164895A**

Dipertahankan Di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal, 06 Agustus 2020

Mengetahui
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Dekan,



Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc.

Pembimbing,

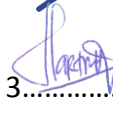
Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

apt. Yane Dila Keswara, M.Sc.

Penguji :

1. Dr. apt. Ika Purwidyaningrum, S.Farm., M.Sc.
2. Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si
3. apt. Inaratul Rizkhy Hanifah, S.Farm., M.Sc.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

1... 
2... 
3... 
4... 



HALAMAN PERSEMBAHAN



“sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan lain). Dan kepada Tuhanmulah kamu berharap”

(Qs. Al-Insyirah: 6-8)

Dengan rahmat tuhan yang maha kuasa dan berkah pertolongannya Alhamdulillah telah selesai sudah penyusunan tugas akhir yang penuh dengan pelajaran ini. Dengan ini saya selaku penulis mengucapkan banyak-banyak terimakasih kepada semua yang terlibat dan turut mensupport penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Kupersembahkan karya ini kepada :

- ❖ Keluarga besarku tercinta
Kepada ibunda Nurul hidayati dan Ayah ku tercinta M.Rifa'I yang selalu mensupport , memberi semangat dan selalu memberi motivasi untuk tetap semangat. Terimakasih banyak untuk semua waktu semua tenaga semua pengorbanan kalian yang begitu besar yang tak pernah ada habisnya. Terimakasih banyak ayah, ibu . terimakasih untuk semua kasih sayang ini untuk adikku tersayang, Sakina septian putri yang juga selalu memberi semangat, kejarlah cita-citamu. untuk kakek-nenek, om, tante, bude, pakde, dan semua keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi semangat sampai akhirnya saya bisa menyelesaikan kuliah, terimakasih.
- ❖ Sahabat-sahabat saya , teman-teman angkatan 2016, teori 4 dan teori 3, teman-teman PCC
- ❖ Sahabatku tercinta anak-anak GGS dan upak-upuk , Feby, Krisna, Rohme, Itong, Firda, Dici, Qori, Theo, Shandi, Bayu, Rizal, Yosi, Vindy, Edo, Madyo yang selama 4 tahun terakhir sudah selalu memberi warna yang berbeda dalam setiap momen, walaupun kita dari latar belakang yang berbeda tapi kurasa petemanan ini tulus adanya. Terimakasih kawan
- ❖ Untuk teman-teman dan sahabat seperjuangan sejak SMK Anna, Siti, Syielly, Aisyah, Sukron, Risky, Liris, terimakasih kawan akhirnya kita sampai di titik ini juga dan semangat untuk menggapai cita-cita kalian

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi, baik secara akademis maupun secara hukum.

Surakarta, Juli 2020



Mohamad Andry Irfani

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“STUDI LITERATUR UJI AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM FIBRINOLITIK DARI BAKTERI *Bacillus subtilis* PADA GALUR YANG BERBEDA MENGGUNAKAN METODE Plat fibrin SECARA *In Vitro* ”** guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) dalam ilmu kefarmasian di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Shalawat dan salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabat

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan motivasi bimbingan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. apt. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si., dan apt. Yane Dila Keswara, M.Sc., selaku Pembimbing yang telah bersedia memberikan nasehat, bimbingan, dan masukan yang maksimal kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Tim penguji skripsi, terimakasih telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan kepada peneliti untuk penyempurnaan skripsi ini.
5. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan, Staf Laboratorium, Karyawan dan Karyawati Universitas Setia Budi, terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
6. Teman-teman S1 Farmasi dan semua pihak yang membantu dalam penelitian ini serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk

memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Surakarta, Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN PENELITIAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
 BAB I PENDAHULUAN	 1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 5
A. Bakteri	5
1. Sistematika Bakteri.....	5
2. Morfologi Bakteri.....	6
3. Definisi Bakteri	6
B. Enzim Fibrinolitik	6
C. Klasifikasi Enzim Fibrinolitik	7
1. Mekanisme Kerja	7
1.1. <i>Tissue plasminogen activator</i> (tPA).....	8
1.2. <i>Streptokinase</i> (SK).	8
1.3. <i>Urokinase</i> (UK).	9
2. Sumber Enzim Fibrinolitik.....	9
2.1. Mikroba.....	9
2.2. Non Mikroba.....	10
D. Penyakit Kardiovaskuler	10

1.	Penyakit Stroke.....	10
1.1.	Stroke Iskemik	11
1.2.	Stroke Hemoragi.	11
2.	Penyakit Jantung Koroner (PJK).....	12
2.1.	Atherosklerosis.	12
2.2.	Angina Pectoris.....	13
2.3.	<i>Myocardial Infarct Acute</i>	13
2.4.	Kardiomiopati.	13
2.5.	<i>Congestive Heart Failure</i> (Gagal Jantung).....	13
E.	Hemostasis.....	14
1.	Dinding pembuluh darah (sistem vaskuler).....	14
2.	Trombosit	15
3.	Faktor koagulasi	16
F.	Pembekuan Darah.....	16
1.	Mekanisme Pembekuan Darah	17
2.	Jalur Pembekuan Darah.....	17
2.1.	Jalur Intrinsik.	17
2.2.	Jalur Ekstrinsik.....	17
3.	Jalur Pembekuan Darah Secara Umum	18
3.1.	Kontriksi Pembuluh Darah.	18
3.2.	Pembentukan Sumbat Trombosit.....	19
3.3.	Pembekuan Darah.	19
G.	Pemecahan Bekuan Darah.....	19
H.	Identifikasi Bakteri	20
1.	Pengujian Mikroskopik	20
2.	Pengamatan Mikroskopik.....	20
3.	Uji Biokimia	20
3.1.	Uji Gram.	21
3.2.	Uji Katalase.....	21
3.3.	Uji Koagulase.....	21
I.	Identifikasi Gen dengan <i>National Centre For Biotechnology Information</i> (NCBI).....	22
2.1.	GenBank.	22
2.2.	Blast.	22
J.	Isolasi Enzim	23
1.	Sentrifugasi.....	23
2.	Metode Ekstraksi	23
3.	Kromatografi	24
K.	Penetapan Kadar Protein	24
1.	Metode Bradford. (Bardford 1976)	24
2.	Metode Biuret (Andarwulan, 2011)	25
3.	Metode Lowry (Apriyantono, 1989)	25
L.	Uji Aktivitas Enzim Fibrinolitik dengan Cawan Fibrin	26
M.	Landasan Teori	27
N.	Hipotesis	29

BAB III	METODE PENELITIAN	30
A.	Populasi Dan Sampel.....	30
B.	Variabel Penelitian	Error! Bookmark not defined.
1.	Identifikasi Variabel Utama.....	Error! Bookmark not defined.
2.	Klasifikasi Variabel Utama.....	Error! Bookmark not defined.
3.	Definisi Operasional Variabel Utama.....	Error! Bookmark not defined.
C.	Alat dan Bahan	30
1.	Alat	30
2.	Bahan.....	30
2.1.	Bahan Utama.....	30
2.2.	Media.	30
2.3.	Pewarnaan.	30
2.4.	Bahan Kimia.	30
D.	Jalannya Penelitian	31
1.	Sterilisasi	31
2.	Identifikasi Gen AprN	31
3.	Pembuatan Nutrien Agar	31
4.	Pembuatan BHI	31
5.	Peremajaan Bakteri.....	31
6.	Pembuatan Suspensi Bakteri	32
7.	Identifikasi Morfologi	32
7.1.	Media Selektif <i>Blood Agar</i>	32
8.	Identifikasi Mikroskopis Bakteri.....	32
8.1.	Pewarnaan Gram.	32
9.	Identifikasi Biokimia Bakteri	33
9.1.	Uji Katalase.....	33
9.2.	Uji Koagulase.....	33
10.	Isolasi Ekstrak Kasar Enzim Fibrinolitik dari <i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 3366	33
11.	Penetapan Kadar Enzim dan Uji Aktivitas Fibrinolitik.	34
E.	Skema Penelitian	35
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	36
A.	Identifikasi Gen Aprn	36
B.	Identifikasi Morfologi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 3366	36
C.	Identifikasi Mikroskopis Bakteri	37
D.	Identifikasi Biokimia Bakteri	38
1.	Uji Katalase	38
2.	Uji Koagulase	39
E.	Ekstraksi enzim Fibrinolitik dari Bakteri <i>Bacillus Subtilis</i> ..	40

F. Pemurnian dan Uji Aktivitas Enzim Fibrinolitik Bakteri <i>Bacillus subtilis</i>	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	48
A. Kesimpulan.....	48
B. Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Bakteri <i>Bacillus Subtilis</i>	5
2. Kerja Aktivator Plasminogen Jaringan (tPA)	8
3. Mekanisme Kerja Streptokinase	9
4. Jalur Pembekuan Darah	18
5. Skema penelitian	35
6. Hasil Uji Morfologi dengan <i>Blood Agar</i>	37
7. Pewarnaan Gram	38
8. Hasil Uji Katalase	39
9. Uji Koagulase	39

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Faktor Pembekuan Darah.....	16
2. Hasil Identifikasi Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 3366 dengan Media <i>Blood Agar Plate</i>	36
3. Hasil Identifikasi Secara Mikroskopis Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 3366 dengan Pewarnaan Gram	38
4. Hasil Review Pemurnian dan Uji Aktivitas Enzim Fibrinolitik Dari Bakteri <i>Bacillus Subtilis</i>	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Gambar alat dan bahan.....	56
2. Perhitungan pelet.....	58

INTISARI

IRFANI, M.A., 2020, STUDI LITERATUR Uji AKTIVITAS EKSTRAK KASAR ENZIM FIBRINOLITIK DARI BAKTERI *Bacillus subtilis* PADA GALUR YANG BERBEDA MENGGUNAKAN METODE PLAT FIBRIN SECARA *In Vitro*

Trombosis merupakan keadaan dimana terjadi pembentukan bekuan darah intravaskuler yang disebabkan oleh pembentukan fibrin yang berlebihan. Kelainan yang disebabkan trombosis dapat diterapi dengan fibrinolitik. Salah satu sumber fibrinolitik adalah *Bacillus subtilis*. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui tentang aktivitas ekstrak kasar enzim fibrinolitik sebagai terapi fibrinolitik yang berasal dari *bacillus subtilis* dengan galur yang berbeda.

Penelitian ini diawali identifikasi gen pengkode fibrinolitik lalu identifikasi pewarnaan Gram, uji agar darah, uji katalase dan koagulase. Selanjutnya ekstraksi enzim dengan sentrifugasi, dilanjutkan pemecahan sel dengan sonikasi. Pemurnian enzim, penetapan kadar dan uji aktivitas dilakukan dengan studi literatur. Pencarian jurnal untuk studi literatur menggunakan google scholar sebagai search engine dengan kriteria jurnal internasional yang terdapat pada elsevier dan NCBI dan jurnal nasional terindeks sinta.

Bacillus subtilis memiliki aktivitas beta hemolisis, Gram positif, memiliki enzim katalase dan koagulase. Uji gen *in silico* terdapat gen Aprn mengkode nattokinase. Isolasi enzim dari *Bacillus subtilis* ATCC 3366 diperoleh hasil 15 ml. Penetapan kadar berdasarkan studi literatur dari berbagai galur *Bacillus subtilis* menyatakan, uji aktivitas terbaik dari *Bacillus subtilis* ICTF-1 dengan aktivitas spesifik 8645 U/mg. Hasil tersebut menunjukan bakteri *Bacillus subtilis* dengan galur yang berbeda memiliki potensi besar sebagai agen fibrinolitik.

Kata kunci : Trombosis, *Bacillus subtilis*, Fibrinolitik, plat fibrin,

ABSTRACT

IRFANI, M.A., 2020, STUDY LITERATUR ACTIVITY OF EXTRACT CRUDE FIBRINOLYTIC ENZYMES OF BACTERIA *Bacillus subtilis* IN DIFFERENT STRAINS USING A FIBRIN PLATES METHOD In Vitro

Thrombosis is a condition in which the formation of an intravascular blood clot caused by excessive fibrin formation. Abnormalities caused by thrombosis can be treated with fibrinolytic. One of the dibrinolytic sources is *Bacillus subtilis*. The purpose of this study is to know about the activity of coarse extracts of fibrinolytic enzymes as a fibrinolytic therapy derived from *Bacillus subtilis* with different strains.

This research begins identification of fibrinolytic coding genes and then identification of Gram staining, test for blood, catalase test and coagulant. Further extraction of enzymes by centrifugation, continuing the breakdown of cells by sonication. Enzyme purification, determination of levels and test of acarity is done by literature study. The journal Search for Literary studies uses Google Scholer as a search engine for international journal criteria contained in Elsevier and NCBI and a National Journal of Synta.

Bacillus Subtilis has beta activity of hemolysis, Gram-positive, has catalase enzymes and coagulase. Test gene *in silico* there is a gene Aprn coding nattokinase. Isolation of enzymes from *Bacillus subtilis* ATCC 3366 obtained results 15 ml. Determination of levels based on literary studies of various strains of *Bacillus subtilis* states, the best activity test of *Bacillus subtilis* ICTF-1 with specific activity 8645 U/mg. The results show that the bacteria of *Bacillus subtilis* with different strains has great potential as a fibrinolytic agent.

Keywords: Thrombosis, *Bacillus Subtilis*, Fibrinolytic, fibrin plate,

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit kardiovaskuler atau biasa disingkat dengan CDVs (*Cardiovascular diseases*) merupakan faktor penyebab kematian nomer satu di dunia. Tahun 2008 diperkirakan sekitar 17,3 juta orang meninggal dunia akibat penyakit kardiovaskuler di dunia. Penyakit kardiovaskuler di Indonesia merupakan penyebab kematian terbanyak pada pria dan wanita yaitu sebanyak 80% kasus. Penyakit kardiovaskuler adalah sekelompok kelainan pada jantung dan pembuluh darah, diantaranya adalah jantung koroner, trombosis, emboli paru, dan hipertensi (WHO, 2011).

Trombosis adalah keadaan dimana terjadi pembentukan massa bekuan darah intravaskuler, yang disebabkan oleh pembentukan fibrin yang berlebihan. Kelainan yang terjadi akibat bekuan darah tersebut dapat memicu berbagai penyakit yang cukup berbahaya salah satunya adalah *infark miokard* akut (IMA). IMA atau kita biasa mengenal dengan istilah serangan jantung terjadi karena sumbatan akibat pembekuan darah yang berlebihan pada pembuluh darah. Sumbatan ini terjadi akibat penumpukan lipid terus menerus pada pembuluh darah yang menuju ke jantung. Kelainan yang disebabkan oleh trombosis ini dapat ditangani dengan terapi fibrinolitik. Fibrin merupakan komponen utama pada proses pembekuan darah, yang terbentuk dari fibrinogen dan trombin. Sistem hemostasis normal, setelah terbentuk benang-benang fibrin pada luka, terdapat regulasi untuk mencegah pembekuan darah yang berlebihan, salah satu mekanisme kontrol tersebut, yaitu aktivitas fibrinolisis dengan mempergunakan plasmin untuk menghancurkan bekuan darah (Ali Mr *et al.*, 2014).

Terapi trombolitik dengan penggunaan enzim fibrinolitik sebagai salah satu pengobatan trombosis adalah melalui infus intravena. Kekurangan dari terapi tersebut adalah dibutuhkan dosis terapeutik yang besar, hanya cocok untuk penggunaan injeksi dan dapat mengakibatkan komplikasi pendarahan selain itu harganya juga mahal.

Enzim fibrinolitik merupakan protease serin atau *metalloprotease* yang dapat mendegradasi atau memecah trombus. Enzim fibrinolitik dikelompokkan menjadi 2 kelompok menurut mekanisme kerjanya yaitu yang pertama adalah tipe aktivator plasminogen (PA) dan tipe lainnya yaitu *plasmin-like protein*. Tipe aktivator plasminogen diantaranya *tissue-plasminogen activator* (t-PA), streptokinase (SK), dan urokinase (UK), tipe tersebut bekerja dengan cara mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin aktif sehingga fibrin dapat terdegradasi. Sementara untuk tipe lainnya bekerja secara langsung untuk mendegradasi fibrin sehingga dengan cepat dapat melarutkan trombus (Kotb, 2013)

Enzim fibrinolitik dapat diproduksi oleh tumbuhan, hewan, maupun mikroorganisme. Tumbuhan yang memproduksi enzim fibrinolitik salah satunya adalah *Allium tuberosum* (Chung *et al.*, 2010), selain itu dalam penelitian lain dikatakan bahwa ekstrak dari *Mangivera silvatika* Roxb. Juga memiliki aktivitas dapat melisiskan bekuan darah yang artinya ekstrak tersebut juga memiliki aktivitas sebagai agen fibrinolitik (Rashaduz *et al.*, 2015). Enzim fibrinolitik dari hewan dapat ditemukan pada bisa ular dan *Lumbricus rubellus* yaitu lumbrikokinase (LK) (Lu & Chen, 2012). Mikroorganisme penghasil enzim fibrinolitik dapat berasal dari bakteri, jamur, aktinomises, dan alga (Peng *et al.*, 2005). Bakteri tersebut antara lain *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, dan *Staphylococcus* sp. Sementara jamur penghasil enzim fibrinolitik antara lain *Cordyceps militaris*, *Penicillium* sp, *Rhizopus chnensia*. Dengan potensi besar yang dimiliki mikroorganisme untuk dapat menghasilkan agen fibrinolitik dan produksinya juga dapat ditingkatkan dengan rekayasa genetik yang ada maka isolasi enzim fibrinolitik dari mikroorganisme khususnya bakteri menjadi penting untuk dilakukan. Berbagai penelitian tentang bakteri menunjukkan bahwa bakteri memiliki potensi menghasilkan enzim fibrinolitik.

Enzim fibrinolitik selain ditemukan pada tumbuhan, mikroorganisme maupun hewan enzim tersebut juga banyak ditemukan pada makanan fermentasi. Menurut (Mahajan 2012) beberapa dekade terakhir, telah diidentifikasi beberapa agen trombolitik yang efektif berasal dari mikroorganisme dapat menghasilkan enzim fibrinolitik. Agen trombolitik tersebut diperoleh dari berbagai makanan dan

minuman fermentasi. Makanan fermentasi tersebut diharapkan dapat menghasilkan enzim fibrinolitik yang dapat di gunakan untuk kesehatan salah satunya untuk mencegah penyakit kardiovaskuler. Makanan fermentasi yang ada saat ini hanya ada beberapa yang dapat menghasilkan enzim fibrinolitik, salah satunya yaitu natto dari Jepang. Nattokinase bekerja dengan cara mengubah plasminogen menjadi plasmin aktif yang menghasilkan aktivitas fibrinolitik, enzim nattokinase tersebut diproduksi oleh *Bacillus natto*.

Mikroorganisme penghasil enzim fibrinolitik yang lain juga di temukan pada makanan khas korea yaitu *chungkook-jang* dan *doen-jang* yang merupakan makanan fermentasi dari kacang-kacangan seperti natto dari Jepang, mikroorganisme yang ditemukan di sini adalah *Bacillus sp.* CK dan *Bacillus sp.* DJ-4 (Kotb, 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Peng *et al.* (2003) ditemukan bahwa makanan tradisional yang berasal dari China yaitu douchi juga memiliki enzim fibrinolitik yaitu enzim subtilisin DFE. Enzim ini diperoleh dari pemurnian supernatan *Bacillus amyloquefaciens* DC-4 yang bersifat termofilik, hidrofilik dan memiliki aktivitas fibrinolitik kuat.

Uji aktivitas fibrinolitik dapat dilakukan secara kualitatif menggunakan media *plat fibrin*. Hasil positif dari uji ini apabila terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri akibat terdegradasinya bekuan fibrin oleh enzim fibrinolitik yang dihasilkan bakteri atau mikroorganisme tersebut. Karakterisasi bakteri penghasil enzim fibrinolitik dapat dilakukan secara mikroskopis yaitu dengan dilakukannya pewarnaan Gram untuk mengetahui jenis bakteri yang kita amati bersifat Gram positif atau Gram negatif, selain itu dapat juga dilakukan karakterisasi fisiologis yang dapat dilakukan dengan uji biokimia. Dari uraian di atas maka pada penelitian kali ini dilakukan isolasi dan pengujian aktivitas enzim fibrinolitik dari bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 3366 terhadap kemampuannya dalam melisikan fibrin.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat di rumuskan masalah yaitu sebagai berikut :

Pertama, apakah bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda menghasilkan enzim fibrinolitik?

Kedua, berapakah konsentrasi dari enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda ?

Ketiga, bagaimanakah mekanisme enzim fibrinolitik dari bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda ?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui apakah bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda menghasilkan enzim fibrinolitik

Kedua, untuk mengetahui berapa konsentrasi enzim fibrinolitik dari bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda

Ketiga, untuk mengetahui mekanisme enzim fibrinolitik dari bakteri *Bacillus subtilis* pada galur yang berbeda

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah, diharapkan penelitian ini dapat menambah informasi mengenai bakteri penghasil enzim fibrinolitik khusus dari bakteri *Bacillus subtilis* dengan galur yang berbeda serta sumber yang berbeda sehingga dapat digunakan sebagai agen enzim fibrinolitik dan sebagai dasar ilmiah penggunaan dan penerapan enzim fibrinolitik di bidang farmasi.