

**UJI AKTIVITAS FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK KASAR ENZIM
BAKTERI *Bacillus altitudinis* MENGGUNAKAN METODE *Plate Fibrin***



Oleh :

**Putri Asih Susilowati
23175221A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

**UJI AKTIVITAS FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK KASAR ENZIM
BAKTERI *Bacillus altitudinis* MENGGUNAKAN METODE *Plate Fibrin***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Putri Asih Susilowati
23175221A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2021**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul:

UJI AKTIVITAS FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK KASAR ENZIM BAKTERI *Bacillus altitudinis* MENGGUNAKAN METODE *Plate Fibrin*

Oleh:

Putri Asih Susilowati
23175221A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal :

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan.



Prof. Dr. apt. RA. Oetari, S.U., M.M., M.Sc

Pembimbing,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Ana Indrayati".

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Desi Purwaningsih".

Desi Purwaningsih, M.Si.

Penguji :

1. Dr. apt. Ismi Rahmawati, M.Si.
2. apt. Dwi Ningsih, M.Farm.
3. apt. Meta Kartika Untari, M.Sc.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Four handwritten signatures in blue ink are shown, each followed by a dotted line for a signature. The signatures correspond to the examiners listed in the previous section: Ismi Rahmawati, Dwi Ningsih, Meta Kartika Untari, and Ana Indrayati.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan 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 oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebarluaskan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini terdapat jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta,



Putri Asih Susilowati

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberi rahmat serta karunia-Nya sehingga dapat terselesaikan skripsi ini, dan semoga ini menjadi awal kesuksesan serta keberhasilan saya di masa depan kelak. Oleh karena itu, karya ini kupersembahkan untuk :

1. Allah SWT atas segala rahmat, karunia, serta anugrah yang telah engkau berikan, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
2. Keluarga tercinta yaitu ibu, bapak, adek, mbah yang selalu mendoakan dan mensuport saya untuk selalu semangat. Terimakasih untuk segala pengorbanan, usaha, dan doa-doa yang diberikan untuk saya. Semoga Allah selalu memberi perlindungan, kesehatan, kelancaran, dan kemudahan dalam segala hal untuk keluargaku.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si dan Desi Purwaningsih, M.Si selaku dosen pembimbing yang selalu memberi motivasi, membantu, serta memberi masukan untuk karya saya.
4. Dosen-dosen Universitas Setia Budi yang selalu memberi ilmu dengan ikhlas.
5. Rizky sebagai tim peneliti saya yang selalu membantu dan memberi motivasi.
6. Sahabat-sahabatku M Ryan, Citra, Nanda, Marianti, Suci yang selalu memberi dukungan dan motivasi untuk selalu semangat.
7. Teman-teman seperjuanganku Rima, Agatha, Axel dan semua yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
8. Teman-teman Exess angkatan 25 Nanda, Citra, Kiky, Mita, Feby, Fera, Akbar yang selalu memberi semangat.
9. Seluruh teman S1 Farmasi angkatan 2017 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, terimakasih untuk kebersamaan dari awal kuliah sampai di titik ini.
10. Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa, dan Negara.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kepada Allah SWT yang telah melimpahkan segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**“UJI AKTIVITAS FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK KASAR ENZIM BAKTERI *Bacillus altitudinis* MENGGUNAKAN METODE Plate Fibrin”**" guna memenuhi persyaratan untuk mencapai Sarjana Farmasi dalam ilmu kefarmasian di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

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

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk di setiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. apt. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan pengarahan, ilmu, masukan, serta dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
5. Desi Purwaningsih, M.Si selaku Dosen Pembimbing telah banyak memberikan pengarahan, ilmu, masukan, serta dorongan semangat selama penulisan skripsi ini.
6. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
7. Segenap Dosen, karyawan, staf perpustakaan, staf laboratorium serta teman seprofesi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu selama penelitian.
8. Orangtuaku, adekku, semua saudara, dan keluarga yang telah mendukung dan memberi semangat serta doa .
9. Sahabat-sahabatku yang selalu memberi semangat, dukungan, dan bersedia menjadi pendengar yang baik dalam keluh kesahku.

10. Teman-teman S1 farmasi dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, sehingga saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca untuk perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

Surakarta, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMAHAN	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Hutan Mangrove	5
1. Definisi hutan mangrove	5
2. Tanah hutan mangrove.....	5
B. Bakteri	6
1. Definisi bakteri.....	6
2. Bakteri penghasil enzim fibrinolitik	7
3. Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	7
C. Enzim Fibrinolitik	8
1. Definisi.....	8
2. Peran agen fibrinolitik di bidang farmasi.....	9
D. Kardiovaskular	10
1. Hipertensi.....	10
2. Stroke	11
E. Mekanisme Kerja Agen Fibrinolitik dalam Melisiskan Fibrin	12
F. Mekanisme Kerja Obat-Obat Fibrinolitik	14
1. Streptokinase (SK)	15

2. Tissue Plasminogen Aktivator (tPA)	15
3. Urokinase	15
G. Isolasi Enzim.....	15
1. Sentrifugasi	16
2. Metode ekstraksi	16
3. Kromatografi	16
H. Penetapan Kadar Protein	17
1. Metode <i>Bradford</i>	17
2. Metode <i>Lowry</i>	17
3. Metode Biuret	17
I. Uji Aktivitas Enzim Fibrinolitik.....	18
1. Zimografi	18
2. <i>Fibrin Plate</i>	18
J. Landasan Teori.....	19
K. Hipotesis	21
 BAB III. METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan Sampel.....	22
1. Populasi.....	22
2. Sampel.....	22
B. Variabel Penelitian.....	22
1. Identifikasi Variabel Utama	22
2. Klasifikasi Variabel Utama	22
C. Alat dan Bahan.....	24
1. Alat.....	24
2. Bahan	24
D. Jalannya Penelitian	24
1. Identifikasi gen.....	24
2. Sterilisasi.....	24
3. Pembuatan media	25
4. Peremajaan bakteri.....	25
5. Identifikasi bakteri	26
6. Pembuatan suspensi bakteri	27
7. Produksi ekstrak kasar protein	27
8. Pembuatan larutan standar protein.....	28
9. Pengukuran konsentrasi protein (Metode <i>Bradford</i>)	29
10. Uji aktivitas enzim fibrinolitik secara <i>in vitro</i>	29
E. Analisis Data	30
F. Skema Penelitian	31
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	32

1. Identifikasi gen	32
2. Identifikasi bakteri	32
2.1 Identifikasi secara mikroskopis bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	32
2.2 Identifikasi secara makroskopis bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	34
2.3 Identifikasi biokimia bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	35
3. Ekstraksi enzim fibrinolitik dari bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	36
4. Penetapan kadar protein enzim fibrinolitik bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	38
5. Uji aktivitas ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> secara <i>in vitro</i>	40
6. Analisis data.....	42
 BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
A. Kesimpulan	44
B. Saran.....	44
 DAFTAR PUSTAKA	45
 LAMPIRAN	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Nilai absorbansi larutan standar BSA	39
Tabel 2. Hasil pengukuran aktivitas fibrinolitik ekstrak kasar enzim Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> yang dinyatakan sebagai zona bening	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	7
Gambar 2. Proses fibrinolisis	14
Gambar 3. Skema penelitian	31
Gambar 4. Pewarnaan gram	33
Gambar 5. Pembentukan endospora	34
Gambar 6. Hasil identifikasi makroskopis bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> dengan BAP	35
Gambar 7. Hasil uji katalase bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	36
Gambar 8. Hasil uji koagulase bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	36
Gambar 9. Kurva standar larutan BSA	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil identifikasi gen	52
Lampiran 2. Hasil perhitungan analisa kadar protein	53
Lampiran 3. Cara pembuatan larutan dapar borat 0,1M	54
Lampiran 4. Foto peremajaan bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> pada media NA	55
Lampiran 5. Foto pelet setelah pencucian dan ditambahkan PBS	56
Lampiran 6. Foto setelah proses sonikasi.....	57
Lampiran 7. Foto hasil uji aktivitas fibrinolitik pada media <i>plate fibrin</i>	58
Lampiran 8. Analisis statistik aktivitas fibrinolitik ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	60
Lampiran 9. Foto alat penelitian	62

ABSTRAK

SUSILOWATI, P.A., 2021, UJI AKTIVITAS FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK KASAR ENZIM BAKTERI *Bacillus altitudinis* MENGGUNAKAN METODE *Plate Fibrin*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Enzim fibrinolitik adalah protease yang mampu mendegradasi fibrin. Enzim fibrinolitik salah satunya berasal dari bakteri *Bacillus*. Tanah hutan mangrove terdapat bakteri *Bacillus altitudinis* setelah dilakukan isolasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas fibrinolitik dari ekstrak kasar enzim *Bacillus altitudinis* dalam melisikan fibrin yang berasal dari tanah hutan mangrove.

Penelitian ini diawali dengan identifikasi gen pengkode fibrinolitik dengan NCBI lalu identifikasi bakteri *Bacillus altitudinis* pada media agar darah, pewarnaan Gram, endospora, uji katalase dan uji koagulase. Produksi ekstrak kasar protein bakteri dilakukan dengan sentrifugasi selanjutnya pemecahan sel dengan sonikasi. Pengukuran kadar protein dengan metode *Bradford* serta uji aktivitas fibrinolitik dengan metode *plate fibrin*. Konsentrasi 20, 40, dan 80% ekstrak kasar enzim *Bacillus altitudinis*, nattokinase sebagai kontrol positif, sedangkan aquadest sebagai kontrol negatif. Data yang diperoleh dianalisis statistik menggunakan *One Way Anova*.

Bakteri *Bacillus altitudinis* terdapat gen AprE mengkode fibrinolitik. Bakteri *Bacillus altitudinis* memiliki aktivitas beta hemolis, Gram positif, membentuk endospora, memiliki enzim katalase dan koagulase. Ekstraksi enzim diperoleh hasil 4,5 mL. Kadar protein total ekstrak kasar enzim fibrinolitik *Bacillus altitudinis* adalah 22,908 mg/mL. Konsentrasi yang terbaik pada ekstrak kasar enzim *Bacillus altitudinis* dalam melisikan fibrin adalah konsentrasi 80% dengan zona bening 7,92 mm.

Kata kunci : *Bacillus altitudinis*, fibrinolitik, *plate fibrin*, nattokinase, *bradford*

ABSTRACT

SUSILOWATI, P.A., 2021, ACTIVITY TEST OF FIBRINOLYTIC ENZYME EXTRACT OF BACTERIA *Bacillus altitudinis* USING *Plate Fibrin* METHOD, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Fibrinolytic enzymes are proteases capable of degrading fibrin. One of the fibrinolytic enzymes is derived from *Bacillus* bacteria. Mangrove forest soil contained *Bacillus altitudinis* bacteria after isolation. The purpose of this study was to determine the fibrinolytic activity of the crude extract of the enzyme *Bacillus altitudinis* in lysing fibrin from mangrove forest soil.

This study begins with identification of the gene encoding fibrinolytic with NCBI then identification of *Bacillus altitudinis* bacteria on blood agar media, Gram staining, endospores, catalase test and coagulase test. Production of bacterial protein crude extract was carried out by centrifugation followed by cell breakdown by sonication. Measurement of protein levels using the *Bradford* method and the fibrinolytic activity test using the *fibrin plate* method. Concentrations of 20, 40, and 80% crude extract of the enzyme *Bacillus altitudinis*, nattokinase as a positive control, while aquadest as a negative control. The data obtained were statistically analyzed using *One Way Anova*.

The bacterium *Bacillus altitudinis* contains the AprE gene encoding fibrinolytic. *Bacillus altitudinis* bacteria have beta hemolysis activity, are Gram positive, form endospores, have catalase and coagulase enzymes. Enzyme extraction yields 4.5 mL. The total protein content of the crude extract of the fibrinolytic enzyme *Bacillus altitudinis* was 22,908 mg/mL. The best concentration of crude extract of *Bacillus altitudinis* enzyme in lysing fibrin was 80% concentration with a clear zone of 7.92 mm.

Keywords : *Bacillus altitudinis*, fibrinolytic, *plate fibrin*, nattokinase, *bradford*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit kardiovaskular memiliki berbagai jenis penyakit diantaranya penyakit jantung valvular, penyakit jantung iskemik, tekanan darah tinggi/hipertensi, stroke, infark miokard akut, dan aritmia. Penyakit tersebut menjadi penyebab utama kematian di dunia, termasuk Indonesia. Menurut data WHO penyakit kardiovaskular sudah menyebabkan kematian sekitar 17,3 juta orang pada tahun 2005 atau 30% dari semua penyebab kematian global. Kejadian penyakit kardiovaskular semakin meningkat, sekitar tiga sampai empat kali lebih tinggi pada negara - negara berkembang. Penyakit stroke bisa mencapai angka sebanyak 6,2 juta orang dan penyakit jantung koroner bisa mencapai angka sebanyak 7,3 juta orang. Jumlahnya akan semakin meningkat pada tahun 2030 mendatang hingga 23,6 juta jiwa (WHO 2011).

Penyakit kardiovaskular salah satunya disebabkan karena terjadi akumulasi fibrin, sehingga terbentuknya trombus di pembuluh darah disebut dengan trombosis. Trombosis sering kali mengarah pada kelainan serebrovaskular dan kardiovaskular, seperti infark miokard, stroke dan gagal jantung yang dapat menyebabkan kematian (Kim and Choi 2000). Fibrin merupakan komponen protein yang terbentuk dari fibrinogen oleh aksi trombin dalam proses pembekuan darah. Trombosis dapat dipecah dengan menggunakan agen trombolitik salah satunya adalah enzim fibrinolitik (Fradita *et al* 2016).

Terapi trombolitik adalah pengobatan untuk menghilangkan masalah yang timbul karena bekuan darah atau trombus untuk memperbaiki fungsi area yang terkena. Pemberian tissue plasminogen activator (tPA), streptokinase (SK) dan urokinase (UK) merupakan terapi obat trombolitik utama yang telah dilakukan saat ini. Terdapat beberapa kekurangan dalam penggunaan ketiga obat tersebut diantaranya reaksi di dalam tubuh relatif lama, waktu paruh yang dimiliki pendek, dan harga relatif mahal (Peng *et al.* 2005). Terapi trombolitik dengan penggunaan

enzim fibrinolitik sebagai salah satu pengobatan trombosis adalah melalui infus intravena.

Enzim fibrinolitik adalah fibrin yang didegradasi oleh protease. Fibrin merupakan fibrinogen yang membentuk bekuan darah melalui proteolysis oleh trombin. Bekuan darah yang terbentuk akan menyebabkan trombosis intravaskular yang mengakibatkan penyakit kardiovaskular seperti serangan jantung dan stroke apabila tidak ada keseimbangan hemostatis saat bekuan darah terakumulasi dalam pembuluh darah dari faktor antikoagulan, plasmin.

Penelitian yang dilakukan Mihara *et al.* (1991), berhasil mengisolasi enzim fibrinolitik dari saluran cerna cacing tanah *Lumbricus rubellus* yang secara kolektif diberi nama Lumbrokinase. Berdasarkan mekanisme kerja yang telah diketahui, lumbrokinase berpotensi digunakan sebagai fibrinolitik dan antitrombotik pada kejadian trombosis, seperti pada kejadian infark miokard dan stroke yang dapat menyebabkan kecacatan, pemicu penyakit kardiovaskular, dan berakibat fatal seperti kematian. Lumbrokinase terutama berfungsi sebagai aktivator plasminogen, yaitu mengaktifkan plasminogen menjadi plasmin, sehingga lumbrokinase dapat menghidrolisis fibrin dan fibrinogen menjadi fibrin atau fibrinogen *degradation product*. Lumbrokinase telah terbukti pada beberapa studi pada hewan coba dapat bermanfaat sebagai agen fibrinolitik dan antitrombotik. Setiawan (2008), juga melakukan uji fibrinolitik dari ekstrak enzim cacing tanah *L. rubellus* dengan metode *serial dilution* dalam 3 variasi konsentrasi, yaitu 2,5; 5; dan 10%. Hasil uji fibrinolitik yang dilakukan secara *in vitro* terhadap gumpalan darah memperlihatkan bahwa enzim *L. rubellus* pada konsentrasi 10% mampu mendegradasi fibrin dan fibrinogen pada pH 7 dengan baik. Enzim tidak dapat melarutkan fibrin dan fibrinogen secara sempurna. Secara umum, enzim dengan konsentrasi 5% dapat menghidrolisis sebagian besar fibrin, sedangkan konsentrasi 2,5% hanya sedikit sekali dapat mendegradasi fibrin. Variasi konsentrasi dari ekstrak kasar enzim *Bacillus altitudinis* pada penelitian ini adalah 20%, 40%, dan 80%.

Enzim fibrinolitik umumnya diproduksi oleh mikroorganisme, salah satunya adalah genus *Bacillus* (Mine *et al.* 2005). Beberapa contoh genus *Bacillus*

yang menghasilkan enzim fibrinolitik yaitu *Bacillus cereus*, *Bacillus steroothermophilus*, *Bacillus majovensis*, *Bacillus megaterium* dan *Bacillus subtilis* (Asker et al. 2013). Penelitian yang dilakukan Smitha dan Pradeep (2018) menyatakan bahwa organisme penghasil enzim fibrinolitik yang diisolasi dari tanah dapat diidentifikasi sebagai *Bacillus altitudinis* strain S-CSR 0020. Kondisi lingkungan begitu berpengaruh pada kerja enzim. Enzim juga memiliki kondisi optimum yang berbeda, apabila enzim berada pada kondisi optimum maka dapat bekerja secara maksimal dan efisien. Bakteri yang sudah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari tanah hutan mangrove berdasarkan penelitian Wulandari (2019) adalah bakteri dari genus *Bacillus*, spesies *Bacillus altitudinis*. *Bacillus altitudinis* merupakan salah satu spesies dari genus *Bacillus*.

Mangrove merupakan tempat hidup berbagai jenis gastropoda, kepiting pemakan detritus, dan bivalvia pemakan plankton sehingga akan memperkuat fungsi mangrove sebagai biofilter alami (Mulyadi 2009). Fauna makrobentos memanfaatkan sebagian detritus ini untuk bahan makanannya, sebagian detritus dimanfaatkan pada penyuburan perairan yaitu dengan penguraian bakterial menjadi unsur hara (Syamsurisal 2011).

Indonesia memiliki hutan mangrove dengan luas area sekitar 4,25 juta ha atau sekitar 27% luas mangrove di dunia (Irwanto 2006) dengan potensi mikroorganisme didalamnya. Ekosistem hutan mangrove memiliki produktivitas yang sangat tinggi melalui sumbangan serasah. Serasah mangrove yang terdekomposisi oleh mikroorganisme akan menghasilkan bahan organik yang diserap oleh tanaman dan sebagian lagi akan terlarut dan terbawa arus air ke perairan sekitarnya. Proses dekomposisi dapat terjadi karena adanya salah satu mikroorganisme yaitu bakteri. Oleh karena itu dalam penelitian ini mengambil sampel tanah dari hutan mangrove Semarang untuk mengetahui potensi bakteri penghasil enzim fibrinolitik dari hutan mangrove Semarang, Jawa Tengah.

B. Rumusan Masalah

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

Pertama, apakah bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove mampu menghasilkan enzim fibrinolitik?

Kedua, berapakah kadar protein ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove dengan menggunakan metode *Bradford*?

Ketiga, berapakah konsentrasi terbaik dari variasi konsentrasi 20, 40, dan 80% ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove dalam melisiskan fibrin secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove mampu menghasilkan enzim fibrinolitik.

Kedua, untuk mengetahui nilai kadar protein ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove dengan menggunakan metode *Bradford*.

Ketiga, untuk mengetahui konsentrasi terbaik dari variasi konsentrasi 20, 40, dan 80% ekstrak kasar enzim fibrinolitik bakteri *Bacillus altitudinis* dari tanah hutan Mangrove dalam melisiskan fibrin secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah, diharapkan penelitian ini menambah informasi tentang sumber obat dari bakteri *Bacillus altitudinis* yang mempunyai potensi sebagai agen fibrinolitik dan sebagai dasar ilmiah penggunaan serta penerapan enzim fibrinolitik di bidang farmasi.