

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

1. Klasifikasi tanaman asam jawa



Gambar 1. Tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.) (Putri, 2014)

Taksonomi dari tanaman asam jawa menurut *Integrated Taxonomic Information System – Plant Data base* dalam Putri (2014), sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Division	: Spermatophyta
Sub Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Sub Class	: Risidae
Ordo	: Fabales
Family	: Fabaceae
Genus	: <i>Tamarindus</i> L.
Species	: <i>Tamarindus indica</i> L.

2. Morfologi tanaman asam jawa

Tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.) atau yang biasa disebut dengan asam jawa adalah tanaman yang memiliki banyak fungsi dan tersebar di seluruh Indonesia, populasi tanaman ini banyak di temukan di Pulau Jawa (Silalahi dan Mustaqim, 2020). Negara afrika adalah negara asal dari tanaman asam jawa, kemudian menyebar dan berkembang di India, Pakistan, Sudan, Filipina, Spanyol, Meksiko, dan sampai di Indonesia (Putri, 2014).

Pertumbuhan pohon asam jawa berlangsung lambat dan mampu bertahan hidup dengan sangat lama, serta dapat bertahan terhadap hembusan angin kencang (Putri, 2014). Pohon asam jawa setinggi kurang lebih 25 m, dan memiliki diameter batang sampai 1 m, kulit batangnya berwarna coklat tua, retak-retak, pecah seperti sisik pada ikan. Daunnya berbentuk menyirip genap dan bermacam, serta

terdapat daun penumpu kecil. Tangkai dan rakis daunnya memiliki panjang hingga 4-16 cm, anak daun berjumlah 8-18 pasang (Silalahi dan Mustaqim 2020).

Bakal buah asam jawa adalah *superus* (menumpang) dan biasanya jumlah biji berkisar 8-12. Tipe buah pada asam jawa yaitu polong tanpa ada yang pecah. Ukuran buahnya lonjong dan memanjang, dengan panjang kurang lebih 6-15 cm dan lebarnya kurang lebih 1-3 cm. Daging buah asam jawa berwarna coklat tua, jika dimakan akan terasa seperti lembek dan rasanya asam. Jumlah biji tiap polong berbeda akan tetapi biasanya tiap polong jumlahnya kurang lebih 10 biji. Umumnya bentuk biji asam jawa seperti telur sungsang dan pipih, bijinya berwarna coklat tua dan nyaris hitam. Ukuran biji asam jawa berkisar 11-17 mm dengan lebar kurang lebih 10-12 mm (Silalahi dan Mustaqim 2020).

3. Kandungan senyawa kimia

Buah asam jawa mengandung senyawa yang berlimpah diantaranya adalah alkaloid, tanin, polifenolik, dan fenolik yang terdiri dari beta-sitosterol, asam *eicosanoic* atau asam arakidonat, n-heksacosane, pinitol, dan (*proanthocyanidins*) telah diisolasi dan didapatkan dari bagian tanaman tersebut (Landgraf Guiguer dan Barbalho, 2016).

Pada bagian buahnya juga mengandung karbohidat dan protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan beberapa bagian lainnya. Asam organik juga diketahui terkandung dalam buah asam jawa, antara lain asam tartarat, asam asetat, asam sitrat, asam format, asam malik, dan asam suksinat. Kandungan lain yang terdapat pada buah asam jawa yaitu asam amino, *invert glucose* sekitar 25-30%, pektin, lemak, pirazina, dan tiazol (bahan yang menghasilkan aroma bau) (Putri, 2014).

4. Khasiat tanaman

Asam jawa (*Tamarindus indica* L.) digunakan untuk obat tradisional oleh masyarakat Indonesia dan di seluruh dunia dalam kurun waktu yang lama (Kuru, 2014). Menurut penelitian Kuru (2014) buah asam jawa dapat dikonsumsi untuk mengatasi sakit perut, diare, disentri, maupun sebagai anti-inflamasi. Asam jawa juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri, mencegah diabetes melitus, menurunkan kadar kolesterol, mencegah obesitas, serta dapat digunakan sebagai analgesik, antikoagulan, antiplatelet dan antioksidan.

B. Darah

1. Darah dan plasma darah

Darah merupakan zat cair dalam tubuh manusia fungsinya sebagai pengangkut oksigen yang dibutuhkan sel diseluruh tubuh. Darah juga mengangkut nutrisi, hormon dan zat sisa metabolisme yang nantinya akan disuplai ke jaringan tubuh manusia. Kandungan di darah sebagai bahan penyusun kekebalan tubuh untuk melawan berbagai penyakit (Castaka & Teguh, 2017).

Plasma darah terdiri dari komponen cair yang didalamnya terkandung berbagai macam nutrisi serta substansi penting lainnya yang dibutuhkan tubuh manusia. Misalnya, protein albumin, globulin, faktor-faktor pembekuan darah, dan berbagai elektrolit lainnya seperti natrium, kalium, klorida, magnesium, hormon dan sebagainya (Firani, 2018).

2. Hemostasis tubuh

Hemostasis merupakan suatu proses untuk mencegah perdarahan secara otomatis supaya tidak kehilangan darah yang banyak saat pembuluh darah terluka, sehingga darah tetap cair serta mengalir dengan lancar (Umar & Sujud, 2020).

Proses hemostasis diawali dengan trauma, pembedahan, ataupun penyakit yang menyebabkan kerusakan pada lapisan endotel pembuluh darah. Hemostasis mempertahankan keadaan ini melalui proses keseimbangan yaitu diantara perdarahan dan trombosis yang menyertakan komponen sistem vaskuler, trombosit, faktor koagulasi, maupun fibrinolisis serta anti-fibrinolisis (Umar & Sujud, 2020).

3. Pembekuan darah

Tujuan dari pembekuan darah adalah untuk mengatasi masalah cedera vaskular agar tidak terjadi pendarahan yang berlebih, tempat terjadinya pembekuan darah dibatasi disekitar (dilokalisir) di daerah cedera (Bakta, 2013).

Faktor pembekuan darah terdiri dari jumlah suatu protein yang bekerja sebagai enzim, kalsium dan faktor sel itu sendiri. Fibrin adalah suatu protein yang terdiri dari sejumlah serat yang terbentuk menjadi jaring. Protein ini dapat larut dan ada di sel plasma saja. Serangkaian hal ini dapat disebut atau dikenal sebagai perubahan fibrinogen yang diubah menjadi fibrin (Sadikin, 2001).

C. Infark Miokard Akut

1. Definisi

Infark miokard akut (IMA) atau yang biasa disebut dengan serangan jantung disebabkan oleh aliran darah pada arteri tersumbat, sehingga darah yang mengalir ke organ pada otot jantung terputus. Hal ini, akan menjadikan penyebab utama dari kematian sel serta kerusakan secara *irreversible* (tidak dapat kembali). Jika sumbatan berlangsung secara berkelanjutan hingga kondisi yang parah, maka dapat menyebabkan detak jantung terhenti (Vedika Rathore dan Neelima Singh, 2018).

Sumber pemicu dari infark miokard akut yaitu plak aterosklerosis dari pembuluh darah koroner yang pecah disebabkan oleh komposisi plak yang berubah serta jaringan fibrosa yang telah menipis. Trombus yang banyak mengandung trombosit terbentuk karena plak yang pecah dan disertai proses pengumpulan dari trombosit serta pengaktifan jalur koagulasi. Lubang pembuluh darah koroner kemudian tersumbat oleh trombus, baik secara penuh ataupun sebagian (PERKI, 2018).

2. Gejala klinis

Menurut penelitian Antman (2001) nyeri di dada adalah gejala umum yang dialami para pasien penyakit infark miokard akut. Nyeri pada infark miokard akut lebih kuat dan lama jika dibandingkan dengan nyeri penyakit angina pektoris. Selain itu, nyeri ini dapat menjalar ke kedua lengan, leher, punggung maupun perut. Pasien juga mengalami gejala lain seperti pusing, mual, dan muntah.

3. Mekanisme

Infark miokard akut mulanya terjadi karena pembuluh darah jantung (arteri koroner) yang fungsinya sebagai penyalur nutrisi bagi sel-sel di jantung. Suplai darah yang lemah dapat memicu sumbatan pada arteri koroner. Penyebabnya adalah arteri koroner yang tersumbat oleh ruptur plak aterosklerosis, yang dikenal dengan Infark Miokard Akut atau IMA (Muttaqin, 2009). Tahapan menurut penelitian dari Canon *et al.*, (2009), terjadinya infark miokard akut terbagi menjadi 3 yaitu :

3.1. Mekanisme pembuatan plak aterosklerosis. Penyakit darah tinggi, kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan atau penurunan komponen lipid dalam plasma (Dislipidemia), maupun DM. Pada lapisan subendotelium, sel radang

(monosit) berpindah ke lapisan subendotelium, dan mengalami diferensiasi menjadi makrofag. Makrofag menembus ke dalam dinding arteri yang akan membentuk *foam cells* dan mencerna *low-density lipoprotein* (LDL). Makrofag yang sudah aktif akan menghasilkan sitokin, kemoatraktan (monosit & protein) TNF α , dan interleukin. Sel endotel akan menghasilkan produk matriks ekstraselular yang lebih banyak dari biasanya karena rangsangan oleh interleukin yang mendatangkan makrofag ke tempat terbentuknya plak (Canon *et al.*, 2009).

3.2. Stabilitas plak dan kecenderungan rupture. Variasi pada stabilitas plak aterosklerosis diantaranya plak yang tidak sulit untuk ruptur yaitu plak yang berinti lipid tebal, masa jenis serta T limfosit besar, jumlah pada matriks metalloproteinase banyak yang berfungsi untuk pendegradasi kolagen, model yang eksentrik, dan ada aliran vaskular atau penyumbatan darah oleh plak (Canon *et al.*, 2009).

3.3 Gangguan pada plak, trombosis, dan sindrom koroner akut. Proses terjadinya infeksi sindrom koroner akut melalui tahapan yang sangat rumit antara endotel, sel-sel peradangan, dan trombogenesis darah. Rupturnya plak aterosklerosis menyebabkan sebagian besar 75% IMA yang fatal, dan sisanya diakibatkan oleh erosi pada endotel.

Makrofag aktif serta T-limfosit yang terdapat di tempat pecahnya plak akan melepas metalloproteases dan sitokin yang membuat tutup fibrosa lemah, kemungkinan menyebabkan terkikisnya plak oleh tekanan aliran darah. Rupturnya plak aterosklerosis menyebabkan matriks subendotelial yang mengandung prokoagulan menyebar ke sirkulasi darah dan menyebabkan adesi, agregasi, dan platelet yang teraktivasi kemudian menyebabkan trombus (Canon *et al.*, 2009).

4. Tatalaksana pengobatan IMA

Pengobatan IMA berprinsip pada patofisiologi kondisi pasien dan waktu terjadinya cedera akibat dari infark miokard ireversibel. Obat terapi untuk IMA terbagi kedalam beberapa golongan yaitu :

4.1. ACE Inhibitor. *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) Inhibitor berfungsi untuk mengurangi peregangan pada otot jantung (remodeling) dan mengurangi angka kematian pasien penderita setelah terkena infark miokard akut dengan gangguan pada fungsi sistolik jantung, yang mengalami gagal jantung ataupun tidak mengalami gagal

jantung. ACE-Inhibitor bisa dipakai dalam jangka waktu yang lama kecuali jika terdapat kondisi tertentu pada pasien sehingga pengobatan harus dihentikan pada pasien dengan fraksi ejeksi ventrikel kiri < 40%, serta pasien DM, hipertensi dan gagal ginjal (PERKI, 2015).

Kaptopril adalah salah satu golongan ACE Inhibitor yang bekerja dengan cara mengurangi beban pada jantung, mengurangi gejala, dan meminimalkan progresi penyakit. Tekanan preload mengalami penurunan akibat dilatasi vena serta afterload diakibatkan oleh dilatasi arteriol. Kaptopril juga menyebabkan pengurangan tonus vascular menurunkan kerja serta kebutuhan O₂ pada pasien gagal jantung (Neal, 2006).

4.2. Calcium Channel Blocker (CCB). *Calcium Channel Blocker* (CCB) berfungsi sebagai pereda gejala iskemia pada penderita yang mempunyai kontraindikasi terhadap Beta Blocker. Salah satu contoh golongan CCB adalah Verapamil. Verapamil memiliki efek pada nodus sinoatrial (PERKI, 2015).

Mekanisme kerja verapamil dengan cara memblokir kanal kalsium tipe L serta memiliki efek secara khusus dengan kuat pada avascular necrosis, dimana seluruh keadaan bergantung dengan spike kalsium. Efek seperti inotropik negatif juga ditimbulkan oleh verapamil dengan cara menghambat ion kalsium (Ca²⁺) selama kondisi berat badan tidak turun meski sudah diet (DiPiro, 2015).

4.3. Beta-blocker. Beta-blocker bekerja dengan cara menghambat reseptor β -Adrenergic di berbagai organ tubuh yaitu jantung, pembuluh darah perifer, bronkus, pankreas, dan hati (BNF, 2018). Salah satu contoh obat golongan beta-blocker adalah propranolol. Mekanisme kerja propranolol dengan cara mengurangi frekuensi detak jantung dengan memblokir respon stimulasi α -bloker dan β -bloker adrenergik cepat dan efektif (Sari, 2020).

Berdasarkan data di Indonesia menunjukkan bahwa obat propranolol yang termasuk golongan β -bloker diresepkan untuk terapi pada penyakit gagal jantung, tekanan darah tinggi (hipertensi), IMA, dan sirosis pada hati memperlihatkan obat betablocker digunakan dalam terapi penyakit heart failure, hipertensi, infark miokard dan sirosis hepatik pada pasien rawat inap. Bisoprolol dan propranolol merupakan obat golongan betablocker yang sering digunakan dalam terapi tersebut (Amalia, 2014; Farida & Cahyani, 2018; Sulistyoningrum & Murtisiwi, 2020; Widuri, 2019).

4.4. Fibrinolitik. Tujuan dari terapi yang menggunakan fibrinolitik yaitu untuk mengembalikan patensi secara penuh dari penyakit arteri koroner (Newby *et al.*, 2010). Menurut penelitian PERKI (2015) terdapat beberapa macam obat golongan fibrinolitik yaitu streptokinase, alteplase, reteplase, dan tenecteplase.

D. Agen Fibrinolitik

1. Definisi

Fibrinolitik adalah suatu tahapan degradasi fibrin dengan enzimatis. Fibrin tersusun dari protein yang tak larut. Fibrin terbentuk dari proses degradasi fibrinogen pada trombin selama tahapan bekuan darah. Agen fibrinolitik misalnya enzim plasmin berguna sebagai pengkatalis selama proses fibrinolisis terjadi dan hasilnya adalah peptida yang berukuran kecil dari sebelumnya dan dapat larut (Sadikin, 2001).

Agen fibrinolitik dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu yang pertama ialah agen yang tidak spesifik pada fibrin misalnya streptokinase (SK) dan urokinase (u-PA). Yang kedua ialah agen yang spesifik pada fibrin misalnya alteplase (t-PA), tenecteplase (TNK), dan reteplase (r-PA) (Fox *et al.*, 2013; Vivek, 2017).

1.1. Streptokinase. Streptokinase merupakan agen fibrinolitik yang berasal dari enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh β -hemolytic *Streptococcus* strains. Strain beta-hemolitik yaitu polipeptida dengan rantai tunggal dan massa molarnya 47 kilodalton (kDa) yang tersusun oleh 414 residu dari asam amino. Protein dari streptokinase ini memiliki kemampuan aktivitas maksimalnya di pH 7,5 serta tidak mempunyai kandungan sistein, sistin, fosfor, karbohidrat terkonjugasi dan lipid (Banerjee *et al.*, 2004).

Mekanisme kerja streptokinase merubah plasminogen menjadi plasmin, perubahan ini dengan cara mengikat plasminogen agar terbentuk enzim yang kompleks. Agen ini juga menyebabkan kandungan kadar protein C meningkat, hal ini menyebabkan kenaikan gumpalan darah. Efek samping yang ditimbulkan pada pemakaian streptokinase antara lain: darah rendah (hipotensi), reaksi alergi dan bahkan dapat menyebabkan pendarahan mayor (Fox *et al.*, 2013).

1.2. Urokinase. Urokinase pertama kali dijelaskan oleh Vassalli *et al.*, (1985) dan Stoppelli *et al.*, (1985) sebagai aktivitas pengikatan afinitas tinggi permukaan sel untuk rantai-A dari urokinase.

Urokinase bersumber dari urin manusia dan urin sapi (Roldan *et al.*, 1990; Kristensen *et al.*, 1991; Kra tzschar *et al.*, 1993).

Urokinase berasal dari proses sintesis yang terletak di organ ginjal dari manusia, dimana urokinase mempunyai kemampuan dengan cara memecah membran sel plasmin. Mekanisme kerja urokinase adalah merusak pembekuan darah dari dalam dengan cara memicu plasminogen menjadi aktif, terutama yang terjebak di dalam proses pembekuan darah (Katzung, 2006).

1.3. Alteplase. Alteplase merupakan obat yang dipakai untuk pengobatan IMA dengan ST-elevasi (STEMI), emboli paru masif, dan gangguan pembekuan darah lainnya (Jun Lu *et al.*, 2019).

Mekanisme kerja dari alteplase adalah mengubah plasminogen menjadi plasmin sesudah mengikat bekuan darah yang berisi fibrin. Kemudian plasmin akan didegradasi menjadi matriks fibrin dari trombus yang terbentuk dan menghasilkan trombolisis (Jun Lu *et al.*, 2019).

1.4. Tenecteplase. Tenecteplase merupakan golongan jenis tissue plasminogen activator (tPA) yang digunakan secara umum untuk terapi pengobatan trombolitik dan stoke iskemik akut dikarenakan karakteristik dari obat yang memudahkan dalam pemberian dan tidak merugikan (Steven J. Warach *et al.*, 2020).

tPA endogen terbentuk oleh protease serin yang di dalam sel endotel yang berfungsi sebagai pengkatalis pembelahan plasminogen menjadi plasmin. Selanjutnya, akan dilakukan degradasi fibrin dalam trombus yang merupakan bagian dari homeostasis koagulasi (Steven J. Warach *et al.*, 2020).

1.5. Reteplase. Reteplase merupakan golongan jenis tissue plasminogen activator (tPA) yang dimodifikasi dengan cara menghilangkan beberapa sekuen dari asam aminonya (Katzung, 2002).

Salah satu kelebihan reteplase dibanding dengan alteplase adalah mekanisme aksi dari durasinya lebih lama dan pemberiannya dengan cara dimasukan langsung kedalam pembuluh darah vena (bolus), sehingga pada saat pemberian tidak memerlukan infus intravena. Kemampuan dari reteplase adalah untuk plasminogen yang terikat dengan fibrin yang sifatnya mirip dengan alteplase (Vivek, 2017).

1.6. Nattokinase. Nattokinase merupakan hasil hasil ekstraksi dan pemurnian yang bersumber dari makanan yang disebut dengan

Natto, makanan tradisional ini berasal dari Jepang. Nattokinase dibuat dengan cara fermentasi antara kedelai dan bakteri *Bacillus subtilis*. Enzim dari nattokinase memiliki kemampuan untuk menghancurkan gumpalan darah secara langsung dengan proses hidrolisis pada fibrin serta substrat plasmin. Penghancuran gumpalan darah dilakukan oleh enzim ini dengan perubahan endogen pro-urokinase menjadi urokinase, dan menyebabkan *Plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) menurun serta *tissue Plasminogen Activator* (t-PA) meningkat, dimana t-PA ini adalah yang menjadi pendukung dari aktivitas fibrinolitik (Weng *et al.*, 2017).

Menurut penelitian yang dilakukan Weng *et al.*, (2017) bahwa luka pada arteri yang diobati dengan menggunakan nattokinase, menyebabkan terbentuknya trombus dan agregasi platelet menjadi terganggu. Nattokinase mempunyai kemampuan dalam memecah trombi dan fibrin, serta fungsinya mirip dengan obat aspirin yaitu dengan mengencerkan darah. Letak perbedaan keduanya adalah aspirin menimbulkan pendarahan dan penyakit pada lambung, sedangkan nattokinase membuat aliran darah menjadi meningkat tanpa menimbulkan efek samping.

2. Enzim fibrinolitik

Enzim fibrinolitik merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan bekuan darah (fibrin) pada pengobatan trombus (penyakit yang masih berkaitan dengan kardiovaskular). Pengobatan terapi yang menggunakan agen ini telah diaplikasikan secara umum, harganya relatif tinggi dan gejala yang ditimbulkan salah satunya yaitu terjadi perdarahan di dalam saluran pencernaan (Kotb, 2012)

Enzim fibrinolitik diperoleh dari bermacam-macam makhluk hidup, misalnya tumbuh-tumbuhan, binatang, jamur (fungi), dan bakteri maupun mikroorganisme. Hal ini, akan menghasilkan suatu potensi untuk dilakukan pengembangan makanan yang memiliki fungsional serta obat yang mempunyai khasiat sebagai terapi penyakit kardiovaskular (Kotb dan Rashad *et al.*, 2012).

3. Mekanisme agen fibrinolitik

Mekanisme kerja agen fibrinolitik bergantung pada jenis fibrinolitiknya. Jenis fibrinolitik yang bekerja dengan cara mengikat plasminogen dan mengubah plasminogen menjadi plasmin yaitu streptokinase. Selanjutnya jenis fibrinolitik yang bekerja dengan cara menghasilkan plasmin dengan mekanisme pemecahan plasminogen

serta *clot* banyak mengandung fibrin dipecah menjadi *Fibrin Degradation Products* (FDP) atau yang disebut dengan produk degradasi fibrin (Baskin *et al.*, 2012).

E. Metode Uji Potensi Fibrinolitik

1. Metode *clot lysis*

Metode *clot lysis* adalah metode uji fibrinolitik yang pada prinsipnya untuk mengetahui kemampuan atau proses penghancuran deposit fibrin oleh sistem fibrinolitik. Proses ini dikenal dengan fibrinolisis dengan berdasarkan dari banyaknya bekuan darah yang dapat diretraksi sepanjang waktu inkubasi. Suatu zat yang terkandung dalam bahan alam yang memiliki kemampuan untuk menghancurkan bekuan darah dinyatakan dengan satuan persen (%), maka dapat diketahui aktivitas fibrinolitik totalnya dalam melisiskan bekuan darah (Rohmah, 2019).

2. Metode *fibrin plate*

Metode *fibrin plate* merupakan metode ekstraksi yang pada dasarnya mengandalkan pencampuran antara fibrinogen dan trombin (enzim yang berperan dalam pembekuan darah) yang kemudian dilarutkan ke dalam suatu media agar. Metode ini mempunyai kelebihan yaitu sangat spesifik pada fibrinolisis, sedangkan kelemahannya adalah menghabiskan banyak waktu untuk mengerjakannya (Pan *et al.*, 2009).

F. Ekstraksi Enzim

1. Metode *Enzyme-Assisted Extraction* (EAE)

Metode *Enzyme-Assisted Extraction* (EAE) merupakan metode ekstraksi yang menggunakan bantuan enzim protease serta karbohidrat yang bertujuan untuk melepaskan senyawa aktif dari tanaman (Grosso C dkk, 2015). Prinsip dari metode ini yaitu berasal dari penggabungan antara maserasi yang ditambahkan enzim di dalamnya pada saat pengadukan. Metode *enzyme-assisted extraction* biasa dipakai dikarenakan selama ekstraksi protein dan fikoeritrin (R-PE), enzim memiliki kemampuan untuk mengurangi senyawa polisakarida yang terkandung di dalam tumbuhan (Nguyen *et al.*, 2016).

Pemakaian metode *enzyme-assisted extraction* juga berfungsi sebagai pemecah dinding sel yang mempunyai beragam jenis struktur dan komponen kimia yang tergolong cukup tinggi. Tahapan dasar

untuk memudahkan saat ekstraksi dari senyawa bioaktif salah satunya adalah dengan cara menghilangkan ataupun degradasi polisakarida yang terdapat di dinding sel (Wijesinghe & Jeon, 2013).

2. Metode *Solid-Phase Extraction* (SPE)

Metode *Solid-Phase Extraction* (SPE) adalah metode ekstraksi fase padat yang banyak digunakan secara umum yang biasa dipakai untuk analisis, pemisahan, dan pemurnian sampel (Rahmatia, 2016). Pada dasarnya SPE memakai beberapa fase diam untuk proses ekstraksi analit dari beragam matriks cairan yang berbeda. Keunggulan dari metode ini antara lain: tidak sulit untuk diterapkan, waktu pengerjaan relatif singkat, tidak dibutuhkan volume pelarut dengan jumlah yang banyak dan mekanisme interaksinya dapat digabungkan dengan mode campuran interaksi serta ekstasi yang masih dalam sekelas senyawa dengan kelas lainnya. Fase diamnya dipilih berdasar pada senyawa yang dikehendaki, sehingga diharuskan untuk mengetahui mekanisme interaksinya (Berthod, Roberts, & Mills, 2014).

Metode *Solid-Phase Extraction* memiliki masalah dan kendala jika terdapat komposisi dari sampelnya tidak diketahui yang sifatnya kompleks serta mempunyai kandungan komponen kimia berwujud cairan dalam jumlah yang besar dan terdapat pengembang partikel padat (Rahmatia, 2016). Kekurangan dari metode ekstraksi tersebut diantaranya adalah kurangnya selektivitas, dan menimbulkan ko-ekstraksi yang terbentuk disebabkan oleh material yang mengganggu dengan target analisisnya (Afifah & Wicaksono, 2018).

G. Pemurnian Enzim

Pemurnian enzim bertujuan untuk meningkatkan kemampuan aktivitas spesifik dari suatu enzim. Metode untuk pemurnian enzim dapat dilakukan dengan penambahan garam amonium sulfat dan dialisis. Suatu tahapan ini dikenal dengan sebutan salting in, sebaiknya saat presipitasi menggunakan garam amonium sulfat dan diikuti dengan tahap dialisis. Tahap dialisis bertujuan agar sisa dari garam amonium sulfat yang ada pada sampel hilang (Duong-Ly dan Gabelli, 2014).

1. Sentrifugasi

Sentrifugasi adalah proses untuk memisahkan komponen yang ada di dalam sel dengan gaya sentrifugal menggunakan alat yang bernama sentrifugator. Alat ini mempunyai peranan yang penting pada saat isolasi dan pemurnian (purifikasi). Supernatan jernih dan endapan

akan terletak di dasar tabung yang selanjutnya akan dipisah dengan normal. Proses ini adalah tahapan permulaan (awal) dari pemurnian enzim (Scopes, 1982; Walsh dan Headon, 1994; Campbell *et al.*, 2002).

2. Presipitasi

Presipitasi merupakan metode yang menggunakan variasi konsentrasi garam untuk melakukan pengendapan. Caranya adalah dengan menambahkan garam pada ekstrak kasar pada enzim (*crude* enzim) dengan pengadukan pada suhu rendah. Jenis enzim menentukan pilihan jenis garam yang akan dipakai, biasanya secara umum garam yang digunakan adalah amonium sulfat sebab mempunyai nilai kelarutan yang tinggi (Janson, 2011).

3. Kromatografi penukar ion

Kromatografi penukar ion pada dasarnya adalah interaksi ionik antara analit polar dengan ion. Gugus fungsinya terikat pada kolom kromatografi sedangkan ion akan terletak pada eluennya. Ikatan ionik akan menyebabkan ion melekat pada kolom kromatografi dan muatan ion yang mirip dengan kolom kromatografi akan menyebabkan ion tidak bisa menempel atau mirip dengan ion yang ada di resin (Bhattacharyya & Rohrer, 2012).

4. SDS-PAGE

Metode SDS-PAGE prinsipnya adalah pemisahan protein yang didasarkan pada berat molekul. Pada dasarnya SDS-PAGE ialah denaturasi protein yang menggunakan *Sodium Dodecyl Sulfate* yang berlanjut dengan metode elektroforesis yang memakai gel. Tujuannya adalah pemisahan molekul yang didasarkan pada berat molekulnya, dalam kasus ini yang digunakan yaitu poliakrilamida (Janson *et al.*, 1998).

Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis atau yang dikenal dengan SDS- PAGE adalah metode yang memisahkan zat fraksi berdasar pada pergerakan partikel muatan bawah yang dipengaruhi oleh suatu medan listrik. Hal ini disebabkan oleh perbedaan sifat kimia dan fisika. Cara ini dapat dipakai sebagai penentuan tingkat kemurnian, kerusakan protein, berat molekul protein. SDS-PAGE juga dapat melakukan pemisahan partikel molekul yang berbeda baik secara kuantitatif maupun kualitatif dan dapat menentukan titik dari iso-elektrik pada protein. Untuk memecah protein dengan cara melakukan pemanasan sampel yang sebelumnya sudah ditambah dengan 2-Mercaptoethanol yang berfungsi sebagai pemotong

pada jembatan disulfida dan gliserol serta *Sodium Dodecyl Sulfate* (Wilson dan Walker, 2000).

H. Penetapan Kemurnian Protein

Penetapan kemurnian protein ekstrak buah asam jawa menggunakan spektrofotometri UV. Spektrofotometri UV adalah instrumen yang penting dalam melakukan analisis kimia digunakan untuk menguji sampel yang berorientasi pada parameter kuantitatif maupun kualitatif. Maka instrumen ini berperan penting untuk penelitian (Sölvason & Foley, 2015).

Prinsip kerjanya menggunakan radiasi gelombang elektromagnetik yang berinteraksi dengan materi. Dimana radiasi UV nantinya akan menembus molekul dengan panjang gelombang tertentu serta energi yang cukup. Energi tersebut akan terserap ke dalam molekul tersebut yang kemudian terjadi peralihan atau perpindahan elektromagnetik yang menyebabkan molekul tereksitasi (Sastrohamidjojo, 1991 dalam Kurniawan, 2008).

Metode spektrofotometri UV berpinsip pada oligonukleotida dan protein yang ada pada larutan menyerap radiasi dari UV. Nukleotida akan menyerap radiasi maksimalnya pada lamda 260 nm dan protein akan menyerap radiasi maksimalnya pada lamda 280 nm. Jika terjadi suatu kontaminan pada sampel oleh RN maka akan ditunjukkan suatu rasio lebih dari 2,0. Jika terjadi suatu kontaminan sampel oleh protein maka akan ditunjukkan suatu rasio kurang dari 1,8 (Sulandri dan Zein, 2003; Sambrook dan Russell, 2001).

I. Metode Analisis Protein

1. Metode Lowry

Metode Lowry, menurut penelitian Ozdal, dkk (2013), menyatakan bahwa kelarutan dari protein bisa dipengaruhi oleh senyawa fenolik. Oleh karena itu, pengukuran kadar protein perlu dilakukan dengan metode lowry. Metode lowry lebih baik dan lebih sensitif (100 kali) daripada menggunakan metode biuret. Sampel dari protein yang dibutuhkan untuk metode ini lebih sedikit dari metode biuret. Untuk kisaran batas deteksi pada metode lowry ini adalah di konsentrasi 0,01 mg/mL.

Mulanya metode Biuret berkembang menjadi metode Lowry. Reaksi yang terjadi yaitu kompleks tembaga (II) atau (Cu^{2+}) dan

protein akan terbentuk sama halnya di metode Biuret, tembaga (II) yang masih dalam suasana alkalis akan mengalami reduksi menjadi tembaga (I). Reagen pendeteksi *Folin Ciocalteu* akan direduksi oleh ion dari tembaga (I) yaitu Cu^+ , secara kompleks *phosphomolybdat – phosphotungstate* nantinya akan menghasilkan *heteropoly molybdenum blue* yang terjadi akibat dari redoks. Gugus aromatik yaitu rantai samping dari asam amino dikatalisis oleh tembaga atau Cu dan menghasilkan warna biru yang intensif dan dapat dideteksi secara kalorimetri (Taurina *et al.*, 2019). Hasil reduksi yang diperoleh kemudian dapat dianalisa dengan lebih lanjut dengan cara melihat titik puncak absorpsi yang lebar di daerah panjang gelombang pada sinar tampak yang berkisar antara 400-800 nm.

Dalam membaca kurva standar untuk menentukan kadar pada protein, dengan cara membuat larutan protein yang murni. Protein tersebut sebelumnya, sudah diketahui kadar proteinnya yaitu *Bovine Serum Albumin* atau yang biasa disebut dengan BSA. BSA mempunyai konsentrasi dengan rentang tertentu, saat konsentrasi dari sampel protein termasuk dalam rentang tersebut dengan konsentrasi yang semakin meningkat (Slamet Sudarmadji *et al.*, 1981).

2. Metode Bradford

Metode Bradford yaitu pengujian dengan cara diukur konsentrasi protein totalnya. Metode ini dilakukan dengan cara kalorimetri pada suatu larutan dengan menambahkan Coomassie Brilliant Blue atau CBB, ditamhkannya pewarna CBB bertujuan untuk mengikat protein (Murtiyaningsih & Hazmi, 2017). Kemudian terbentuk larutan yang berwarna biru (Masri, 2014), dan absorbansi protein akan terukur menggunakan spektrofotometer dengan lamda 465-595 nm (Purwanto, 2014). Selanjutnya, digunakan data absorbansi kurva standar Bovine Serum Albumin atau yang biasa disebut dengan BSA agar dapat menentukan dan mengetahui kadar protein dalam sampel tersebut.

Dalam kondisi basa CBB akan menimbulkan warna kemerah-merahan dan sedikit coklat. Kejadian ini disebabkan adanya kandungan endapan dari asam amino berantai samping aromatik seperti tirosin, triptofan, dan fenilalanina maupun yang sifatnya basa misalnya arginina, histidina, dan leusina. Jadi, absorbansi hanya dapat diukur dan ditentukan dengan lambda atau panjang gelombang 465 nm (Yisluth, 2013).

J. Landasan Teori

Serangan jantung atau yang biasa disebut dengan Infark miokard akut merupakan kondisi yang menyebabkan jaringan otot pada jantung mengalami kematian, kejadian ini disebabkan karena tidak seimbangnya kebutuhan dan pasokan oksigen yang terjadi secara tiba-tiba. Pemicu yang umum yaitu penyumbatan pada pembuluh di jantung, dan terganggunya sirkulasi darah dimulai dengan hipoksia miokard (Soleh, 2012).

Faktor yang memicu terjadinya IMA, misalnya gaya hidup yang tidak sehat, kebiasaan merokok, kurangnya olahraga, stress yang berlebihan, dan kelebihan berat badan. Makanan yang mengandung lemak tinggi juga salah satu potensi penyebab IMA. Pencegahan IMA juga dapat dilakukan dengan menghindari makanan olahan dari daging, pengawet yang memakai nitram, garam, dan bahan pengawet lainnya (Moeloek, 2012).

Fibrinolisis dapat menghancurkan sumbatan dalam pembuluh darah yang diakibatkan oleh pembekuan darah dengan bantuan plasmin. Prinsip fibrinolisis yaitu pengaktifan plasminogen yang diubah menjadi enzim proteolitik plasmin. Hal ini menyebabkan bentuk trombus menjadi berubah dengan memecah fibrin yang ada pada bekuan darah, dan menghambat trombosis berkembang (Black *et al.*, 2013). Perolehan enzim fibrinolitik didapatkan dari beberapa sumber, misalnya mikroorganisme seperti bakteri, kelompok fungi (jamur), hewan dan juga dari kelompok tumbuhan (Kotb, 2012).

Tumbuhan asam jawa (*Tamarindus indica* L.) pada bagian buahnya mempunyai kandungan karbohidat dan protein yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan beberapa buah lainnya. Asam organik diketahui terkandung dalam buah asam jawa, antara lain asam tartarat, asam asetat, asam sitrat, asam format, asam malik, dan asam suksinat. Kandungan lain yang terdapat pada buah asam jawa yaitu asam amino, *invert glucose* sekitar 25-30%, pektin, lemak, pirazina, dan tiazol (bahan yang menghasilkan aroma bau) (Putri, 2014).

Pengujian buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dilakukan dengan pemurnian pada endapan atau ekstrak kasar enzim (*crude enzim*) buah asam jawa dengan garam amonium sulfat pada tingkat kejenuhan sebesar 80% (Afifah *et al.*, 2014). Ekstrak kasar dari enzim buah asam jawa tersebut dibuat dalam konsentrasi yang bervariasi, yaitu 20, 40, dan 80% (Rizky, 2022).

Uji aktivitas fibrinolitik dengan menggunakan ekstrak enzim pada buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan potensi dari fibrinolitiknya secara *in vitro*. Tanaman asam jawa mempunyai aktivitas fibrinolitik yaitu berupa protease serin yang berfungsi untuk melisiskan bekuan darah (Asad *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian dari Biswas *et al.* (2017) membuktikan bahwa tanaman asam jawa terdapat aktivitas fibrinolitik, yang berperan dalam proses melisiskan bekuan darah.

K. Hipotesis

Pertama, kadar protein total ekstrak kasar enzim fibrinolitik buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) berpotensi sebagai agen fibrinolitik.

Kedua, penambahan garam amonium sulfat 80% berpengaruh terhadap kadar protein total pada buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.).

Ketiga, konsentrasi yang paling optimum dari hasil uji adalah 80% ekstrak enzim buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang berpotensi sebagai agen fibrinolitik secara *in vitro*.