

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cardiovascular Disease (CVDs) adalah suatu penyakit yang menyerang jantung dan pembuluh darah. Trombus atau gumpalan darah terbentuk di dalam pembuluh darah melalui proses thrombosis yang merupakan faktor utama terjadinya CVDs. Komponen utama protein di dalam bekuan darah yaitu fibrin, yang terbentuk dari fibrinogen oleh proses hidrolisis plasmin yang berasal dari plasminogen. Dalam kondisi tidak seimbang, fibrin tidak terdegradasi secara sempurna, sehingga terjadi penyumbatan dalam pembuluh darah yang disebut thrombosis. Fibrin dapat di degradasi oleh enzim fibrinolitik menjadi FDP (*Fibrin Degradation Product*) (Thokchom dan Joshi, 2014).

Enzim fibrinolitik merupakan protease yang dapat mengaktivasi plasminogen dan merubahnya menjadi plasmin yang dapat menghidrolisis fibrin (Thokchom dan Joshi, 2014). Pengobatan klinis yang diberikan untuk pasien CVDs salah satunya dengan terapi enzim fibrinolitik. Enzim fibrinolitik dibedakan menjadi 2 jenis, yang pertama adalah pengaktivasi plasminogen atau yang memiliki kemampuan sebagai agen trombolitik, seperti t-Pa (*tissue plasminogen activator*), streptokinase dan urokinase. Jenis yang kedua adalah yang mengaktivasi plasmin untuk mendegradasi fibrin, sehingga trombus dapat larut secara sempurna (Essayagh *et al.*, 2005; Kotb, 2013). Namun, pengobatan klinis tersebut dinilai kurang efektif karena banyaknya efek samping yang dihasilkan, seperti mual, anafilaksis, alergi, hipertensi hingga pendarahan (Kunamneni dan Durvasula, 2014).

Banyaknya efek samping yang dihasilkan dari pemberian streptokinase, urokinase dan t-Pa, sehingga saat ini banyak diteliti mengenai sumber enzim fibrinolitik yang lain. Enzim fibrinolitik dapat bersumber dari hewan, tanaman dan dari mikroorganisme (Raju dan Divakar, 2014). Air liur kelelawar, cacing tanah dan bisa ular adalah contoh potensi yang berasal dari hewan yang telah teruji klinis menghasilkan agen trombolitik (Nascimento *et al.*, 2015). Namun, kekurangan potensi agen trombolitik yang berasal dari hewan adalah penguji harus mengutamakan kode etik dalam pemeliharaan dan

penggunaan hewan, serta memakan waktu yang cukup lama untuk meneliti potensi agen trombolitik tersebut (Doke dan Dhawale, 2015).

Potensi agen trombolitik yang lain dapat berasal dari ekstrak tanaman, baik dari daun, akar maupun keseluruhan tanaman. Indonesia sendiri merupakan negara yang kaya akan flora serta fauna dan sudah banyak penelitian tentang tanaman asli Indonesia, seperti ekstrak yang berasal dari *Tamarindus indica*, *Allium sativum* L., *Curcuma Longa* L., *Lantana Camara* L., *Lablab purpureus*, *Ginko biloba*, yang merupakan sumber potensi agen trombolitik (Khan *et al.*, 2011; Al-Mamun *et al.*, 2012; de Souza Silva *et al.*, 2012; Siddique *et al.*, 2013; Sadeghi *et al.*, 2017). Agen trombolitik pada suatu tanaman dapat diketahui dengan cara mengukur secara kuantitatif jumlah sel darah yang terlepas saat sel darah merah yang terkandung dalam bekuan fibrin terdegradasi agen trombolitik dan akhirnya terjadi proses lisis atau disebut dengan nilai *clot lysis*. Irfan Newaz Khan di tahun 2011 melaporkan bahwa *Curcuma Longa* L., mempunyai aktivitas *clot lysis* dengan pelarut air sebesar 32,94 % dan jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu Streptokinase dengan *clot lysis* sebesar 86,2 % diperoleh nilai indeks trombolitik sebesar 38,21 % (Khan *et al.*, 2011).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Hossain di tahun 2018 dengan tanaman *Centella asiatica* dilaporkan bahwa didapatkan nilai *clot lysis* terbesar pada ekstrak pegagan dengan pelarut petroleum eter sebesar 50,53% dan jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu Streptokinase dengan *clot lysis* sebesar 63,74% diperoleh indeks trombolitik sebesar 79,23 % (Hossain *et al.*, 2018). Indeks trombolitik yang dimiliki oleh *C.asiatica* sangat jauh lebih besar apabila dibandingkan dengan indeks trombolitik yang dimiliki oleh *Curcuma Longa* L., hal tersebut menunjukkan bahwa *Centella asiatica* berpotensi besar sebagai sumber agen trombolitik. Tanaman *Centella asiatica* merupakan salah satu tanaman asli dari Indonesia yang lebih dikenal dengan nama pegagan. Pegagan sudah sering digunakan untuk berbagai macam pengobatan, seperti sebagai antiinflamasi, antioksidan, penyembuh luka dan antikanker. Pegagan ditemukan banyak mengandung senyawa aktif seperti senyawa asiatikosida, madekosida, kuersetin, kaempferol, apigenin, luteolin, asam madekasat dan lain sebagainya. Senyawa fenolik tersebut dipercaya bertanggung jawab dalam aktivitas trombolitik yang dihasilkan oleh ekstrak pegagan ini (Kemenkes RI, 2017; Yasurin, Sriariyanun dan Phusantisampan, 2015). *Centella asiatica* juga dilaporkan juga memiliki kandungan lipid sebesar 6 % dan kandungan protein sebesar 22% (Mertz *et al.*, 2019).

Kandungan protein yang besar pada sebuah tanaman dipercaya dapat meningkatkan aktivitas agen trombolitik yang dimilikinya. Dilaporkan juga bahwa tanaman yang memiliki kandungan protein yang besar dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme penghasil agen trombolitik karena protein merupakan sumber nitrogen dan karbon yang merupakan nutrisi bagi mikroorganisme tersebut (Raju dan Divakar, 2014). Seperti pada tanaman *Glycine Max L.* atau Kedelai yang memiliki kandungan protein tinggi dapat meningkatkan aktivitas dari *Bacillus subtilis* dan *Bacillus cereus* yang merupakan probiotik penghasil agen trombolitik (Syahbanu *et al.*, 2020).

Probiotik adalah suatu mikroorganisme hidup dengan jumlah tertentu yang mampu memberikan manfaat dalam kesehatan bagi inang dan organisme lainnya (Sdaners, 2008). Penelitian mengenai keuntungan probiotik ini semakin berkembang dari tahun ke tahun, seperti *Bacillus natto* yang menghasilkan enzim nattokinase pada makanan natto, *Bacillus amyloquefaciens* menghasilkan enzim Subtilisin DFE pada makanan *douchi*, serta *Bacillus sp.* DJ-4, DJ-2 dan *Bacillus subtilis* QK-02. Selain itu, probiotik juga merupakan salah satu sumber potensi agen trombolitik. Streptokinase yang berasal dari *Streptococcus hemolyticus* dan Stapilokinase dari *Streptococcus aureus* adalah contoh produk dari probiotik yang teruji klinis ampuh dalam pengobatan penyakit kardiovaskular. Salah satu spesies probiotik yang merupakan sumber terbesar agen trombolitik adalah *Bacillus subtilis* (Peng, Yang dan Zhang, 2005). *Bacillus* dapat menghasilkan protease ekstraseluler selama fase eksponensial maupun pada fase stationer (Akhtar, Hoq dan Mazid, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Jun Yuan, dkk., *Bacillus subtilis* LD-8547 menunjukkan aktivitas trombolitik sebesar 21750 Unit/ml (Yuan *et al.*, 2012). Untuk mendapatkan aktivitas trombolitik yang maksimal, probiotik harus dikembangkan pada sebuah media tanaman yang bisa menjadi sumber karbon dan nitrogen untuk nutrisi probiotik melalui proses fermentasi (Raju dan Divakar, 2014).

Fermentasi adalah cara untuk mendapatkan metabolit primer dan sekunder dari tumbuhan melalui aktivitas metabolisme mikroorganisme. Mikroorganisme memicu perusakan dinding sel tumbuhan dan melakukan proses biotransformasi dari senyawa aktif tanaman tersebut, sehingga mendapatkan metabolit yang lebih besar dan spesifik (Singh, 2017). Fermentasi dapat menimbulkan efek yang baik untuk kesehatan dan juga dapat meningkatkan efek antioksidan, antialergi dan antiinflamasi (Şanlıer, Gökçen dan Sezgin, 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Hunaefi (2013), *Brassica oleracea* difermentasi selama 7 hari dengan *Lactobacillus acidhopillus*, terbukti dapat meningkatkan efek antioksidannya (Hunaefi, Akumo dan Smetanska, 2013). Lalu, *Houttuynia cordata*

yang difermentasi oleh *Bacillus* selama 38 jam, terbukti dapat meningkatkan kandungan flavonoid dan meningkatkan efek antiinflamasinya (Kwon dan Ha, 2012). Selain itu, fermentasi dari teh *Centella asiatica* juga terbukti dapat meningkatkan efek antioksidan yang dimilikinya (Niamnuy *et al.*, 2013). Efektifitas proses fermentasi juga dipengaruhi oleh sumber media yang digunakan. Media yang mengandung ion metal seperti kalsium, kobalt, tembaga dan boron terbukti dapat meningkatkan aktivitas trombolitik yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis*, *Psuedomonas aeruginosa*, serta *Bacillus cereus* GD55 (Raju dan Divakar, 2014). Selain pemilihan probiotik yang sesuai serta media yang digunakan, hasil fermentasi yang maksimal juga dipengaruhi oleh pH, suhu, serta lamanya waktu fermentasi (Bordoloi dan Ganguly, 2014; Abbasiliasi *et al.*, 2017).

Waktu fermentasi dipercaya dapat berpengaruh langsung pada sifat fisika, sifat kimia serta bioaktif dari suatu tanaman. Pada penelitian yang dilakukan Jiyun Jeong, dkk. (2017) membuktikan bahwa enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh ginseng yang difermentasi oleh *Bacillus subtilis* MC 31 selama 10 hari meningkat hingga 15% apabila dibandingkan dengan hari ke 3 dan ke 5 fermentasi. Lalu *Doenjang* yang difermentasi oleh *Aspergillus oryzae* juga mengalami peningkatan aktivitas fibrinolitik hingga 85% setelah hari ke 30 proses fermentasi. Hal tersebut terjadi karena semakin lama waktu proses fermentasi, probiotik akan lebih banyak memecah protein dari tanaman tersebut, terbukti dengan menurunnya viskositas media secara signifikan. Sehingga, aktivitas fibrinolitik dan efek teurapetik yang dimiliki tanaman tersebut akan meningkat (Jeong, Rhee dan Kim, 2017).

Saat ini, kombinasi fermentasi tanaman oleh probiotik sudah banyak digunakan dan menghasilkan banyak produk yang dipasarkan. Contoh dari produk tersebut adalah teh kombucha yang difermentasi oleh *E.coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Agrobacterium tumefaciens* yang telah digunakan sejak lama sebagai penguat imun di Jepang (Wozniak, 2014). Lalu ada kombinasi antara *Allium cepa* yang difermentasi oleh probiotik *Acetobacter acetii* yang berfungsi sebagai antibakteri (El Mashad, Zhang dan Pan, 2019) dan terdapat produk dari hasil fermentasi *Ginkgo Biloba* oleh *Saccharomyces cerevisiae* yang berfungsi sebagai antioksidan (Marques *et al.*, 2011). Namun penelitian ilmiah mengenai efek terapetik yang dihasilkan dari kombinasi herbal dan probiotik masih jarang dilakukan, sehingga perlu adanya penelitian baru mengenai kombinasi tersebut.

Berdasarkan dari uraian diatas, maka pada penelitian kali ini dilakukan inovasi baru dengan melakukan kombinasi melalui proses fermentasi daun *Centella asiatica* bagi oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633 untuk mengetahui adanya peningkatan aktivitas trombolitik

yang dimiliki oleh *Centella asitica* dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633, serta diharapkan dapat menjadi informasi awal mengenai sumber potensi agen trombolitik yang terbarukan dan dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif penyakit kardiovaskular.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah fermentasi *Centella asiatica* oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dapat meningkatkan aktivitas trombolitik yang dimiliki oleh *Centella asiatica* dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633?
2. Berapa lama waktu fermentasi optimum yang dapat menghasilkan produksi agen trombolitik yang maksimum pada hasil fermentasi *Centella asiatica* oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa fermentasi *Centella asiatica* oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dapat meningkatkan aktivitas agen trombolitik yang dimiliki oleh *Centella asiatica* dan *Bacillus subtilis* ATCC 6633
2. Mengetahui lama waktu fermentasi optimum yang dapat menghasilkan agen trombolitik maksimum dari hasil fermentasi daun *Centella asiatica* oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan bisa menjadi informasi awal tentang aktivitas trombolitik yang berasal dari hasil fermentasi daun *Centella asiatica* oleh *Bacillus subtilis* ATCC 6633 sebagai pengganti terapi untuk penyakit kardiovaskular.

1.4.2 Bagi Institusi

Penelitian ini diharapkan dapat menambah sumber pustaka yang dapat digunakan dalam mengembangkan ilmu pengetahuan khususnya pada bidang farmasi serta dapat menghasilkan produk yang memiliki nilai bisnis yang berguna bagi masyarakat serta dapat meningkatkan nama baik institusi.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat terkait produk herbal yang dapat menjadi pertimbangan terapi yang efektif untuk pengobatan penyakit kardiovaskular.