

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Cardiovascular Disease (CVDs) adalah suatu gangguan fungsi normal jantung dan pembuluh darah yang meliputi penyakit jantung koroner, hipertensi, dan stroke (WHO, 2021). Salah satu faktor dari CVDs adalah terjadinya trombosis yang merupakan adanya akumulasi gumpalan fibrin atau trombus di pembuluh darah arteri (Chandrasekaran *et al.*, 2015). Dalam kondisi normal, fibrin dihidrolisis oleh plasmin dalam proses pelarutan benang-benang fibrin yang disebut fibrinolisis. Namun dalam kondisi abnormal, trombus tidak terhidrolisis sehingga terjadi bekuan trombus yang disebut trombosis (Kotb, 2013). Untuk mencegah terjadinya trombosis, dapat digunakan agen trombolitik untuk melarutkan bekuan darah (Umesh *et al.*, 2014).

Agen trombolitik dapat dihasilkan dari berbagai sumber seperti hewan, tanaman, dan mikroorganisme. Potensi agen trombolitik dari hewan yang telah diuji diketahui adanya enzim fibrinolitik yaitu pada usus ikan Tambaqui (*C. macropomum*), dan udang *Litopenaeus vannamei* (Oliveira *et al.*, 2019). Pada mikroorganisme terdapat pada hasil fermentasi makanan seperti nattokinase (NK) pada *Bacillus natto*, Subtilisin DFE pada *Bacillus amyloliquefaciens*, maupun DC-4, dan soybean pada *Bacillus cereus* SRM-001 (Chandrasekaran *et al.*, 2015). Agen trombolitik dapat ditemukan dari tanaman biji-bijian seperti biji asam jawa (*Tamarindus indica*) (Biswas *et al.*, 2017), kacang koro (*Canavalia ensiformis*) (AT Poernomo *et al.*, 2014), dan biji *Ginkgo biloba* (Guo N, Jiang Y. W *et al.*, 2019). Agen trombolitik dari tanaman dapat memberikan efek terapeutik melalui proses biotransformasi oleh jamur agar aktif secara biologis yang memicu dilakukannya fermentasi (Hussain *et al.*, 2016).

Fermentasi merupakan proses untuk mendapatkan metabolit melalui proses biotransformasi atau modifikasi biokimia dari senyawa untuk menghasilkan produk bermutu tinggi (Hussain *et al.*, 2016). Fermentasi memerlukan nutrisi seperti karbon dan nitrogen yang dapat diperoleh dari beberapa limbah agroindustri. Berdasarkan hasil penelitian Yu *et al* pada tahun 2017, diketahui bahwa fermentasi bungkil kedelai sebagai substrat (media) oleh mikroorganisme jamur *Aspergillus oryzae* dihasilkan enzim protease sehingga dapat meningkatkan aktivitas trombolitik (Yu *et al.*, 2017). Proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yakni salah satunya kondisi saat dilakukannya fermentasi baik waktu, pH, dan suhu (Abbasiliasi *et al.*, 2017).

Selain waktu, pH, dan suhu hasil produksi enzim fibrinolitik juga dipengaruhi oleh volume inokulum dan mikroorganisme (Surti, Poernomo and Adrianto, 2016). Pada penggolongan fermentasi berdasarkan teknologinya dibagi menjadi dua, yaitu fermentasi cair dan fermentasi padat. Dari kedua jenis fermentasi tersebut yang paling ekonomis untuk digunakan yaitu fermentasi padat. Fermentasi padat atau yang sering dikenal SSF (*Solid State Fermentation*) adalah fermentasi yang terjadi dalam keadaan matriks yang padat dengan adanya air atau bahkan hampir tidak ada air, namun dalam pertumbuhan dan aktivitas substrat juga perlu kelembaban (El-Bakry *et al.*, 2015).

Fermentasi padat biasanya digunakan untuk membuat enzim, antibiotic, asam organik, dan lain lain. Pada penelitian sebelumnya, oleh Xiao lin ao et al pada tahun 2018 menyatakan bahwa *Aspergillus oryzae* Y1 yang diisolasi dari kacang buncis (*Broad beans*) yang difermentasi secara alami dapat menghasilkan protease netral (Ao *et al.*, 2018). Adapun penelitian lain yang dilakukan oleh Naing Hsu et al pada 2019, diketahui bahwa bungkil kedelai (*Soybean meal*) yang difermentasi dengan SSF oleh *Aspergillus niger* dapat meningkatkan nilai gizi (Naing, Swe and Muu, 2019).

Bungkil kedelai (*Soybean meal*) umumnya limbah bekas pembuatan minyak kedelai yang secara tradisional telah digunakan sebagai protein makanan dalam industri pakan ternak. Namun, bungkil kedelai dapat dikonsumsi manusia apabila faktor anti-nutrisi dikurangi dengan fermentasi. Fermentasi bungkil kedelai dalam produksi enzim fibrinolitik dan peptida dapat mengurangi faktor anti-nutrisi, seperti inhibitor tripsin, asam fitat dan urease. Pada penelitian yang dilakukan oleh Sodruzhestvo LLC, menyebutkan bahwa bungkil kedelai yang diproduksi mengandung 47,0% protein kasar, 4,1% serat kasar, 2,1% lemak kasar (Galkin, Vorobyova and Chichaeva, 2020).

Kandungan protein yang tinggi pada bungkil kedelai berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan mikroba penghasil proteolitik dan fibrinolitik, serta dapat meningkatkan aktivitas dari *Aspergillus oryzae* yang merupakan probiotik penghasil agen trombolitik (Syahbanu *et al.*, 2020). Berdasarkan besarnya manfaat dan potensi agen trombolitik yang dimiliki bungkil kedelai (*Soybean meal*), diharapkan hasil fermentasi dari substrat ini dapat menghasilkan aktivitas trombolitik yang lebih besar dibandingkan penelitian sebelumnya. Semakin banyak penelitian yang sudah terbukti lebih optimum dari penggunaan probiotik pada fermentasi produk, membuat penggunaan obat herbal hasil fermentasi semakin meningkat.

Metode fermentasi yang paling banyak digunakan adalah fermentasi menggunakan mikroorganisme. Dengan fermentasi, mikroorganisme dapat bermanfaat bagi manusia

dalam banyak aspek (Nelofer *et al.*, 2018). Namun tidak semua mikroorganisme mampu menghasilkan enzim fibrinolitik. Mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim fibrinolitik yakni termasuk bakteri, *actinomyces*, jamur, dan alga (Ulfa *et al.*, 2017). Selain itu juga terdapat fungi/jamur penghasil probiotik yang sering digunakan pada makanan, seperti *Rhizopus* dan *Aspergillus*. Spesies *Aspergillus* banyak digunakan untuk fermentasi bungkil kedelai karena dapat menghasilkan beberapa enzim hidrolisis (Su *et al.*, 2018). Beberapa jenis *Aspergillus* yang umum digunakan yaitu *Aspergillus wentii*, *Aspergillus oryzae*, dan *Aspergillus niger* (de Souza *et al.*, 2015). Selain itu, *Aspergillus oryzae* juga merupakan probiotik potensial sebagai penghasil enzim fibrinolitik. Sehingga dapat disimpulkan bahwa *Aspergillus oryzae* bisa digunakan untuk proses fermentasi padat sebagai protease penghasil trombolitik.

Aspergillus oryzae merupakan fungi probiotik yang menghasilkan banyak enzim ekstraseluler yang mendegradasi karbohidrat, polipeptida, dan asam nukleat. *Aspergillus oryzae* secara umum telah digunakan dalam proses fermentasi beras, kedelai, dan gandum pada makanan dan minuman Asia yang difermentasi seperti kecap, miso, sake dan shochu (Khomaizon A, *et al.* 2012). *Aspergillus oryzae* yang diisolasi dari beras (*Oryza sativa*) memiliki suhu pertumbuhan optimal 32–36 °C (± 1 °C) dan tidak mampu tumbuh di atas 44 °C. Dengan pH pertumbuhan optimal 5-6 dan dapat berkecambah pada pH 2-8. Data tersebut diperoleh berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh K. Gomi pada tahun 2014 (K. Gomi, 2014).

Dalam penelitian lain oleh Xiao-ChunYu beserta timnya pada tahun 2017, didapatkan hasil penelitian yang menunjukkan perbedaan peningkatan aktivitas protease media dibandingkan dengan selain *Aspergillus oryzae*. Peningkatan terbesar ketika digunakan dalam fermentasi bungkil kedelai, yaitu tingkat konversi polipeptidanya mencapai 35,9%, yang kira-kira dua kali lipat lebih tinggi. Analisis kandungan asam amino menunjukkan bahwa kandungan asam amino esensial dan komposisi asam amino dari produk fermentasi meningkat secara signifikan ketika *Aspergillus oryzae* digunakan untuk fermentasi bungkil kedelai. Oleh karena itu, dipilihlah *Aspergillus oryzae* untuk diteliti lebih lanjut dalam peningkatan aktivitas trombolitik dari bungkil kedelai (Yu *et al.*, 2017).

Agen trombolitik dapat diketahui dengan mengukur secara kuantitatif jumlah sel darah yang terlepas saat sel darah merah didalam bekuan fibrin terkena agen trombolitik dan terjadilah proses lisis atau disebut dengan nilai *clot lysis*. Dalam pengukuran aktivitas trombolitik, berbagai metode telah dikembangkan. Salah satu metode yang

paling terjangkau dan dapat digunakan adalah model *clot lysis* secara in-vitro. Metode lainnya yang dapat digunakan adalah dengan komputasi dan model matematika, namun metode tersebut rumit dan sangat mahal (Prasad *et al.*, 2006), sehingga pada penelitian kali ini digunakan metode *clot lysis* secara in-vitro.

Metode *clot lysis* adalah metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas trombolitik dengan persen lisis bekuan darah sebagai parameter pengamatan. Dengan membentuk bekuan sel darah merah, kemudian bekuan dipapar dengan enzim fibrinolitik yang diuji (Kotb, 2013). Setelah lisis, dapat dihitung persentase *clot lysis*-nya. Untuk menghitung persentase *clot lysis*, berat bekuan darah yang sudah lisis dibagi dengan berat bekuan darah awal, kemudian dikali seratus persen (Hossain *et al.* 2018). Maka akan didapatkan persen *clot lysis*nya. Kemudian aktivitasnya ditentukan menggunakan indeks trombolitik.

Berdasarkan uraian di atas, dibuatlah penelitian ini untuk mengetahui aktivitas trombolitik dari hasil fermentasi bungkil kedelai menggunakan *Aspergillus oryzae*. Diharapkan dari penelitian ini dapat diketahui adanya peningkatan aktivitas trombolitik.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah enzim yang dihasilkan dari fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 memiliki aktivitas trombolitik?
2. Berapa waktu fermentasi optimum fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 yang dapat menghasilkan aktivitas trombolitik maksimum?
3. Apakah hasil fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 dapat meningkatkan persentase clot lysis dari sebelum dilakukan fermentasi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa enzim yang dihasilkan dari fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 memiliki aktivitas trombolitik.
2. Mengetahui waktu fermentasi optimum pada fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 untuk menghasilkan aktivitas trombolitik maksimum.
3. Mengetahui bahwa persentase clot lysis yang dihasilkan dari fermentasi bungkil kedelai oleh *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 lebih besar dari bungkil kedelai sebelum fermentasi.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan dapat diperoleh data ilmiah bahwa “bungkil kedelai yang difermentasi dengan *Aspergillus oryzae* FNCC 6004 memiliki aktivitas trombolitik dengan persentase *clot lysis* yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak bungkil kedelai tanpa fermentasi mikroorganisme”, sehingga diharapkan dapat diaplikasikan lebih lanjut dan menjadi alternatif pengobatan agen trombolitik.

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.