

## ABSTRAK

Trombosis adalah keadaan tersumbatnya pembuluh darah, dimana hal itu merupakan pemicu berbagai penyakit mematikan. Sumbatan tersebut salah satunya disebabkan oleh pembekuan darah intravaskuler akibat pembentukan fibrin berlebihan. Trombosis yang banyak terjadi saat ini adalah trombosis otak (cerebral stroke) dan jantung (infark miokard). Pengobatan trombosis yang banyak dilakukan adalah terapi trombolitik menggunakan aktivator plasmin, namun menimbulkan efek imunogenik yang kurang diinginkan dan harganya mahal. Enzim fibrinolitik merupakan enzim yang dapat memecah bekuan darah, sehingga dapat menjadi alternatif terapi trombolitik yang cenderung lebih aman. Enzim tersebut banyak ditemukan secara alami di berbagai sumber yang mengandung protein. Salah satu pangan tradisional Indonesia yaitu tempe kedelai yang merupakan makanan yang mengandung enzim fibrinolitik. Dalam penelitian ini dilakukan analisa terhadap potensi tempe kedelai untuk menghasilkan enzim fibrinolitik dari keseluruhan produk tempe kedelai. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya aktivitas enzim fibrinolitik dari tempe kedelai yang dipurifikasi secara parsial dengan penambahan ammonium sulfat 60% dan penggunaan *Amicon Ultra-2 Centrifugal Filter Units* MWCO 10 kDa (membran ultrafiltrasi), adapun metode yang digunakan untuk mengkonfirmasi aktivitas enzim meliputi: metode spektrofotometri dengan substrat fibrin, *in vitro* model clot lysis (fibrin clot) dan zimografi fibrin. Dari data penelitian ini didapatkan hasil bahwa tempe kedelai dengan waktu fermentasi selama 6 hari memiliki aktivitas fibrinolitik tertinggi yaitu sebesar 2.64 FU/mg. Dari hasil SDS-PAGE dan zimografi hasil dialisis enzim protease fibrinolitik menunjukkan terdapat 2 pita protein yang memiliki aktivitas enzim fibrinolitik dengan masa molekul 34 dan 36 kDa. Berdasarkan hasil karakterisasi didapatkan bahwa enzim fibrinolitik dari tempe optimum pada suhu 45°C dan pH 6. Serta stabil pada pH 5-8 dan suhu 27°C-45°C. Aktivitas enzim fibrinolitik ini secara signifikan dihambat oleh penambahan PMSF dan CuCl<sub>2</sub>, dan aktivitasnya secara signifikan dengan penambahan ion logam ZnCl<sub>2</sub> CaCl<sub>2</sub>, KCl dan EDTA. Hasil analisa sequence peptida dengan UHPLC-HRMS dari in-gel digestion peptida menunjukkan bahwa mikroorganisme yang berperan memproduksi enzim fibrinolitik dari tempe kedelai adalah *Paenibacillus saccheonensis* dengan sequence peptida 34 kDa (DVLISVVLRLIGGPLLALAVVWLMR) dan 36 kDa (SALFIIIFR).

**Kata kunci:** Trombosis, Tempe kedelai, Sequence Peptida, Karakterisasi, *In vitro* model clot lysis

## ABSTRACT

Thrombosis is a condition where blood vessels are blocked, which is a trigger for various deadly diseases. One of the causes of this blockage is intravascular blood clots due to excessive fibrin formation. Thrombosis that occurs a lot today is thrombosis of the brain (cerebral stroke) and heart (myocardial infarction). The most widely used treatment for thrombosis is thrombolytic therapy using plasmin activator, but it has undesirable immunogenic effects and is expensive. Fibrinolytic enzymes are enzymes that can break down blood clots, so they can be an alternative to thrombolytic therapy which tends to be safer. These enzymes are found naturally in various sources that contain protein. One of Indonesia's traditional foods is soybean tempeh which is a food that contains fibrinolytic enzymes. In this study, an analysis was conducted of the potential of soy tempe to produce fibrinolytic enzymes from all soy tempe products. Therefore, the purpose of this study was to determine the activity of fibrinolytic enzymes from partially purified soybean tempeh with the addition of 60% ammonium sulfate and the use of Amicon Ultra-2 Centrifugal Filter Units MWCO 10 kDa (ultrafiltration membrane). Confirming enzyme activity includes: spectrophotometric method with fibrin substrate, in vitro clot lysis model (fibrin clot) and fibrin zymography. In this study, soybean tempeh with a fermentation time of 6 days had the highest fibrinolytic activity, which was 2.64 FU/mg. From the results of SDS-PAGE and zymography the results of the fibrinolytic protease enzyme dialysate showed that there were 2 protein bands that had fibrinolytic enzyme activity with a molecular mass of 34 and 36 kDa. Based on the characterization results, it was found that the fibrinolytic enzymes from tempe were optimum at 45°C and pH 6. Also stable at pH 5-8 and 27°C-45°C. The activity of this fibrinolytic enzyme was significantly inhibited by the addition of PMSF and CuCl<sub>2</sub>, and its activity was significantly inhibited by the addition of the metal ion ZnCl<sub>2</sub> CaCl<sub>2</sub>, KCl and EDTA. The results of peptide sequence analysis using UHPLC-HRMS from in-gel digestion of peptides showed that the microorganism responsible for producing fibrinolytic enzymes from soy tempeh was *Paenibacillus sacheonensis* with peptide sequence : 34 kDa (DVLISVVLRLIGGPLLALAVVWLMR) and 36 kDa (SALFIIIFR).

**Keywords** : Thrombosis, Soy-bean Tempeh, Peptide sequence, Characterization, In vitro model clot lysis