

AKTIVITAS PROTEOLITIK DAN FIBRINOLITIK ISOLAT BAKTERI DARI PERAIRAN PANTAI PAPUMA KABUPATEN JEMBER (*PROTEOLYTIC AND FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF BACTERIAL ISOLATES FROM THE PAPUMA BEACH ON JEMBER DISTRICT*)

Arif Setiawan, Sattya Arimurti, Kartika Senjarini, Sutoyo
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember (UNEJ)
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
E-mail: arimurtifmipa@unej.ac.id

Abstrak

Berbagai jenis bakteri dari perairan pantai dapat dieksplorasi sebagai sumber penghasil senyawa penting. Sejauh ini, bakteri dari Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember yang memiliki aktivitas proteolitik dan fibrinolitik belum dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah menguji aktivitas proteolitik dan fibrinolitik pada sejumlah isolat bakteri. Metode penelitian meliputi uji aktivitas proteolitik menggunakan Media *Skim Milk Agar* (SMA) terhadap 23 isolat bakteri dan uji aktivitas fibrinolitik menggunakan Media Fibrin pada isolat yang diketahui memiliki aktivitas proteolitik. Metode uji aktivitas dilakukan secara semikuantitatif. Sebanyak 11 isolat bakteri memiliki aktivitas proteolitik. Isolat bakteri WU 021012* memiliki indeks proteolitik tertinggi yaitu 4,3. Isolat bakteri yang fibrinolitik diperoleh sebanyak 3 isolat. Isolat bakteri WU 021055* memiliki indeks tertinggi sebesar 11.

Kata Kunci: fibrinolitik, isolat bakteri, Perairan Pantai Papuma Jember, proteolitik.

Abstract

Many species bacteria from coastal waters can be explored as resource of important compound. The recent, bacteria from the Papuma Coast Jember District which have the proteolytic and fibrinolytic activity have not been reported yet. The research objective assay proteolytic and fibrinolytic activity for the bacterial isolates. The research methods are the test of proteolytic activity with Skim Milk Agar (SMA) Media for 23 bacterial isolates and the test of fibrinolytic activity with Fibrin Media for bacterial isolates which have the proteolytic activity. The assay studied semiquantitatively. The number of 11 bacterial isolateofs are known that have proteolytic activity. The highest activity index of the proteolytic activity shown by bacterial strain WU 021012, i.e. 4.3. The number of 3 isolates are proved as fibrinolytic activity bacterial isolates, with the WU 021055* bacteria is known as the highest fibrinolytic index activity, that is 11.*

Keywords: fibrinolytic, bacterial isolates, Papuma Coast on Jember District, proteolytic.

PENDAHULUAN

Perairan Pantai Tanjung Papuma adalah salah satu kawasan wisata yang terletak di sebelah selatan Kota Jember Provinsi Jawa Timur yang berada di jalur Bromo, Ijen, dan Bali karena kondisi geografisnya stabil, telah menjadi kawasan ini sebagai tempat wisata. Kondisi lingkungan yang mendukung tersebut memungkinkan komunitas penyusun dari mikroba cukup bervariasi seperti jenis bakteri, arkea, protista, dan fungi merupakan biomassa laut terbesar [1]. Dengan diketahuinya komunitas mikroba laut tersebut maka dapat dimanfaatkan potensinya dalam berbagai bidang antara lain senyawa bioaktif, biokatalis dan bioprospeksi biokatalis [2]. Penelitian terdahulu diperoleh 60 isolat bakteri dari Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember [2].

Bakteri adalah salah satu mikroba dari sumber daya alam yang perlu dimanfaatkan dan dikembangkan. Di dalam bidang bioteknologi bakteri memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan aktivitas yang spesifik untuk

dikembangkan di industri [3]. Potensi tersebut berhubungan dengan kemampuan yang dimilikinya seperti amilolitik, proteolitik, lipolitik, antibiotik, fibrinolitik, dan sebagainya. Potensi ini dapat dimanfaatkan untuk industri pangan, minuman, obat-obatan dan penanganan limbah.

Pada saat ini, salah satu potensi di bidang kesehatan adalah agen fibrinolitik yang bekerja dengan cara mendegradasi fibrin dalam bekuan darah. Agen fibrinolitik yang telah digunakan sebagai agen terapeutik pengobatan. Oleh karena itu, eksplorasi sumber-sumber baru penghasil agen fibrinolitik dari bakteri penting untuk dilakukan yang memiliki spesifitas tinggi terhadap fibrin dan memiliki waktu paruh yang panjang.

Telah banyak diteliti bakteri yang menghasilkan agen fibrinolitik diperoleh berasal dari berbagai jenis makanan fermentasi. Bakteri asal makanan fermentasi yang menghasilkan enzim fibrinolitik diperoleh dari berbagai jenis makanan seperti *Bacillus subtilis* dari makanan natto [4], *Bacillus subtilis* DC33 dan *Bacillus subtilis* LD-8547 dari makanan Douchi [5,6] dan *Bacillus* sp. strain CK 11-4 dari makanan Chungkook-Jang [7]. Oleh karena itu, perlu

dilakukan eksplorasi sumber-sumber baru bakteri penghasil enzim fibrinolitik yang berasal dari perairan.

Eksplorasi potensi proteolitik dan fibrinolitiknya belum diteliti. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah dilakukan skrining terhadap isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik dan fibrinolitik.

METODE PENELITIAN

Peremajaan Isolat Bakteri dari Perairan Pantai Papuma Jember

Sebanyak 23 isolat bakteri dari stok gliserol (-80° C) ditumbuhkan dengan cara mengambil 1 ose, kemudian menggoreskannya secara aseptis pada media NA padat. Setelah itu biakan bakteri diinkubasi pada inkubator dengan suhu ruang selama 48 jam. Kemudian biakan bakteri yang tumbuh digoreskan dengan cara *streak plate* 4 kuadran pada media NA padat untuk mendapatkan koloni tunggal (*single colony*). Sehingga akan diperoleh koloni tunggal untuk uji aktivitas proteolitik dan fibrinolitik.

Uji Aktivitas Proteolitik Isolat Bakteri

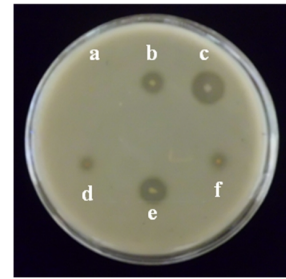
Sebanyak 23 isolat bakteri dari *working plate* diambil satu ose menggunakan tusuk gigi lalu dititik pada media SMA. Bakteri ditumbuhkan dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 30° C selama 48 jam. Aktivitas proteolitik ditentukan dengan rumus Indeks Aktivitas Enzim (IAE) yaitu membandingkan diameter zona bening (cm) dengan diameter koloni (cm).

Uji Aktivitas Fibrinolitik Isolat Bakteri

Semua isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik ditumbuhkan pada media fibrin. Kemudian isolat bakteri diinkubasi pada inkubator dengan suhu 30° C selama 48 jam. Isolat bakteri yang memiliki aktivitas fibrinolitik adalah bakteri yang tumbuh dan memberikan zona bening di sekitar koloni. Aktivitas fibrinolitik isolat bakteri ditentukan dengan mengukur indeks fibrinolitik seperti pada uji aktivitas proteolitik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil skrining yang dilakukan terhadap kemampuan proteolitik 23 isolat bakteri Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember pada media *Skim Milk Agar* (SMA) menunjukkan bahwa 11 isolat bakteri memiliki aktivitas proteolitik, sedangkan 12 isolat bakteri lainnya tidak bersifat proteolitik. Aktivitas proteolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni (Gambar 1.). Menurut [9], zona bening yang terbentuk disekitar koloni bakteri disebabkan oleh substrat kasein yang tampak putih dalam suspensi koloid media SMA telah dihidrolisis menjadi peptida dan asam amino. Hidrolisat ini merupakan sumber protein yang digunakan untuk metabolisme pertumbuhan dan perkembangan sel.



Gambar 1. Aktivitas proteolitik beberapa isolat bakteri dari Perairan Pantai Papuma Jember pada Media SMA

Isolat bakteri yang bersifat proteolitik menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler. Rujukan [10] menyatakan, bakteri proteolitik adalah bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease ekstraseluler. Enzim protease ekstraseluler merupakan salah satu enzim pendegradasi protein yang diproduksi dalam sel dan dilepaskan ke luar dari sel. Isolat bakteri yang tidak bersifat proteolitik memiliki enzim protease di dalam selnya tetapi tidak dikeluarkan.

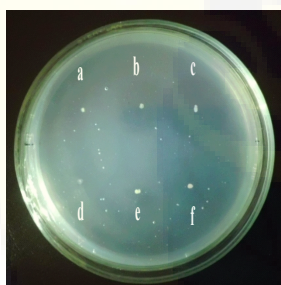
Tabel 1. Aktivitas proteolitik isolat bakteri dari Perairan Pantai Papuma Jember selama 48 jam

Isolat Bakteri	Indeks Proteolitik	Keterangan
WU 021015*	2,0	+
WU 021004	4,2	+
WU 021012*	4,3	+
WU 021055*	3,4	+
WU 021001*	3,0	+
WU 021018	1,3	+
WU 021052	2,8	+
WU 021002*	1,0	-
WU 021003	1,0	-
WU 021042	1,0	-
WU 021033*	1,0	-
WU 021005	1,0	-
WU 991	1,4	+
WU 994	1,0	-
WU 997	1,2	+
WU 6916	1,9	+
WU 6917	1,0	-
WU 9918	1,0	-
WU 6934	1,0	-
WU 6956	1,0	-
WU 6970	1,3	+
WU 6975	1,0	-

(+) = ada aktivitas; (-) = tidak ada aktivitas

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh 11 isolat bakteri yang memiliki indeks aktivitas enzim proteolitik yang ditunjukkan pada Tabel 1. Pada tabel tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri WU 021001*, WU 021055*, WU 021004, dan WU 021012* memiliki indeks proteolitik lebih tinggi yaitu berkisar antara 3,0-4,3 dibandingkan isolat bakteri lainnya yaitu WU 997, WU 021018, WU 6970, WU 991, WU 6916, WU 021052, dan WU 021015* berkisar antara 1,2-2,8. Indeks aktivitas enzim proteolitik yang diperoleh ini tinggi dibandingkan dengan penelitian oleh [11] yang menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari jenis Spons *Jaspis* sp. di perairan laut sebelah barat dari kepulauan Waigeo, Kabupaten Raja Ampat, Papua Barat diperoleh indeks proteolitik ≥ 3 .

Hasil uji aktivitas fibrinolitik 11 isolat bakteri yang bersifat proteolitik diperoleh 3 isolat bakteri memiliki aktivitas fibrinolitik, sedangkan 8 isolat bakteri lainnya tidak memiliki aktivitas fibrinolitik pada media fibrin agar. Aktivitas fibrinolitik ditentukan oleh kemampuan enzim yang dapat menghidrolisis substrat fibrin, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri (Gambar 2). Semakin besar aktivitas fibrinolitik menunjukkan semakin besar zona bening yang terbentuk. Rujukan [12] menyatakan, terbentuknya zona bening yang semakin lebar dan jelas menunjukkan semakin banyak fibrin yang terhidrolisis oleh enzim fibrinolitik.



Gambar 2. Aktivitas fibrinolitik beberapa isolat bakteri dari Perairan Pantai Papuma Jember pada Media Fibrin Agar

Tabel 2 menunjukkan bahwa 3 isolat bakteri dengan kode isolat WU 021055*, WU 021012*, dan WU 021001* mempunyai fibrinolitik yang tinggi masing-masing memiliki indeks fibrinolitik sebesar 11, 10, dan 2,7. Indeks fibrinolitik dari isolat bakteri tersebut memiliki aktivitas lebih tinggi jika dibandingkan dengan isolat bakteri KJ-31 dari makanan tradisional Korea *Jeot-gal* dengan indeks fibrinolitik sebesar 2,15[13].

Tabel 2. Aktivitas fibrinolitik isolat bakteri dari Perairan Pantai Papuma Jember selama 48 jam

Isolat Bakteri	Indeks Fibrinolitik	Keterangan
WU 021015*	1,0	-
WU 021004	1,0	-
WU 021012*	10,0	+
WU 021055*	11,0	+

WU 021001*	2,7	+
WU 021018	1,0	-
WU 021052	1,0	-
WU 991	1,0	-
WU 997	1,0	-
WU 6916	1,0	-
WU 6970	1,0	-

(+) = ada aktivitas; (-) = tidak ada aktivitas

Aktivitas proteolitik dari isolat bakteri juga memiliki aktivitas yang berbeda terhadap fibrin. Perbandingan indeks aktivitas proteolitik (Tabel 1.) dan fibrinolitik (Tabel 2.) menunjukkan bahwa isolat bakteri WU 021055*, WU 021012*, dan 021001* memiliki indeks proteolitik yang tinggi dan memiliki indeks fibrinolitik tinggi. Indeks fibrinolitik dari ketiga isolat tersebut lebih tinggi dibandingkan indeks proteolitiknya pada media SMA. Hasil ini menunjukkan bahwa enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh ketiga isolat bakteri tersebut memiliki sifat *inducible* yang spesifik terhadap substrat fibrin. Rujukan [14] menyatakan, dalam keadaan normal jumlah enzim yang dihasilkan sedikit, tetapi akan meningkat dengan cepat bila substratnya terdapat dalam media, terutama jika substrat tersebut merupakan sumber karbon satu-satunya bagi sel. Berbeda dengan isolat bakteri diatas, isolat bakteri WU 021004 memiliki indeks proteolitik tinggi, tapi tidak memiliki aktivitas fibrinolitik. Hal ini diduga karena isolat bakteri tersebut mampu memanfaatkan protein selain fibrin.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan uji aktivitas proteolitik, 23 isolat bakteri Perairan Pantai Papuma Jember diperoleh 11 isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik. Isolat bakteri WU 021012* memiliki indeks proteolitik tertinggi sebesar 4,3. Sedangkan kemampuan fibrinolitik dari 11 isolat bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik diperoleh 3 isolat bakteri yang memiliki indeks fibrinolitik yaitu WU 021001* sebesar 2,7, WU 021012* sebesar 10, dan WU 021055* sebesar 11. Karakterisasi terhadap enzim proteolitik dan fibrinolitik dilakukan untuk mengetahui lebih detail karakteristik fibrinolitik yang dihasilkan. Lebih jauh. Sehingga isolat bakteri yang memiliki aktivitas fibrinolitik merupakan agen potensial penghasil enzim fibrinolitik dalam pendegradasian fibrin dalam bekuan darah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis A.S. mengucapkan terima kasih kepada Grup riset Bakteri dan *Transmission Blocking Vaccine* (TBV) yang diketuai oleh Dr.rer.nat Kartika Senjarini, S.Si., M.Si. yang telah memberikan dukungan finansial.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Whitman *et al.*, dalam A. Tontowi, "Pendekatan metagenomik dan bioinformatika untuk menganalisis komunitas mikroba laut indonesia," *SIGMA*, Vol. 12 (2008) (1) 21-22.
- [2] O. K. Radjasa, "Bioprospecting of marine microorganisms," Workshop on oil-degrading microbes: marine biotechnology and bioprospecting. Puslit Bioteknologi LIPI, Bogor (2006)
- [3] N. Huda, "BOX-PCR dan *BIOLOG GN2* metabolic fingerprinting untuk menentukan keanekaragaman isolat bakteri dari perairan pantap Papuma Jember," *Jur. Bio.*, Jember Univ., Jember (2010).
- [4] A. Hatmanti, "Pengenalan *Bacillus* spp.," *Oseana*, Vol. 25 (2000) (1) 31-41.
- [5] K. I. Fayek, and S. T. El-Sayed, "Fibrinolytic activity of an enzyme produced by *Bacillus subtilis*," *Z. Ernaehrwiss*, Vol. 19 (1980) 21-23.
- [6] C. T. Wang, B. P. Ji, B. L. R. Nout, P. L. Li, H. Ji, and L. F. Chen, Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme of *Bacillus subtilis* DC33, isolated from Chinese traditional Douchi," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 33 (2006) 750-758.
- [7] S. H. Wang, C. Zhang, Y. L. Yang, M. Diao, and M. F. Bai, "Screening of a high fibrinolytic enzyme producing strain and characterization of the fibrinolytic enzyme produced from *Bacillus subtilis* LD-8547," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, Vol 24 (2008) 475-482.
- [8] W. Kim, K. Choi, Y. Kim, Y. Park, J. Choi, Y. Lee, H. Oh, I. Kwon, and S. Lee, "Purification And Characterization Of A Fibrinolytic Enzyme Produced from *Bacillus* sp. Strain CK 11-4 Screened from Chungkook-Jang," *Appl. Environ. Microbiol.*, 62 (1996) 2482-2488.
- [9] L. Kaiser, "Microbiology a manual" USA: The Benjamin Publish (2005).
- [10] W. A. Volk, & M. F. Wheeler, "Mikrobiologi dasar" Jakarta: Erlangga (1993).
- [11] D. Mahdiyah, A. T. Wahyudi, dan B. H. Mukti, "Isolasi bakteri yang berasosiasi dengan Spons *Jaspis* sp. penghasil enzim protease.," *BIOSCIENTIAE*, Vol.9 (1) (2012) 1-7.
- [12] M. Milner, and K. Makise, "Natto and Its Active Ingredient Nattokinase: A Potent and Safe Thrombolytic Agent. Alternative and Complementary Therapies," New York: Marry Ann Liebert Inc (2002).
- [13] K. J. Hwang, K. H. Choi, M. J. Kim, C. S. Park, and J. Cha, "Purification and characterization of a new fibrinolytic enzyme of *Bacillus subtilis* KJ-31, isolated from Korean Traditional *Jeot-gal*," *J. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 17 (9) (2007) 1469-1476.
- [14] A. L. Lehninger, "Dasar-Dasar Biokimia. Jilid kesatu. Maggy Thenawidjaja, penerjemah," Jakarta: Erlangga (1993).