

**PENELITIAN PENGUATAN**



**PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI ENZIM  
FIBRINOLITIK ASAL BAKTERI PANTAI SELATAN  
JEMBER**

**Peneliti:**

**Sattya Arimurti, SP., SP., M.Si (Ketua Peneliti)**

**Didanai DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2014 Nomor: DIPA  
023.04.414995/2014 Tanggal 5 Desember 2013 Revisi ke-02 Tanggal 24 Maret 2014**

**Tahun Anggaran 2014**

## Abstrak

### Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Fibrinolitik Asal Bakteri Pantai Selatan Jember

Peneliti : Sattya Arimurti<sup>1</sup>, Evi Umayah Ulfa<sup>2</sup>  
Mahasiswa Terlibat : Ajeng Maharani S.P<sup>3</sup>, Dewi Masruroh<sup>4</sup>, Izzay afkarina<sup>5</sup>  
Sumber Dana : DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2014

<sup>1</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

<sup>2</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember

<sup>3</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember

<sup>4</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

<sup>5</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

### ABSTRAK

Fibrinolitik dapat digunakan sebagai obat untuk pasien dengan kelainan trombosis seperti serangan jantung (*infark miokardia*) ataupun stroke. Streptokinase sebagai “drug of choice” bagi penderita serangan jantung telah diketahui memiliki kekurangan seperti waktu paruh pendek (15-30 menit) dan spesifitas yang rendah terhadap fibrin sehingga sering mengakibatkan terjadinya resiko perdarahan. Pencarian sumber enzim fibrinolitik yang berasal dari bakteri sangat penting bagi penelitian bidang mikrobiologi dan kesehatan untuk mengatasi kelemahan yang dimiliki oleh pengobatan menggunakan streptokinase. Luasnya daerah perairan di Indonesia (sekitar 6% sumber air dunia atau 21% dari total sumber air di Asia Pasifik) merupakan potensi sumber daya alam yang sangat vital yang dapat dimanfaatkan sebesar-besarnya untuk kesejahteraan manusia. Salah satu pemanfaatan dalam bidang kesehatan terhadap biodiversitas bakteri yang memiliki >90% biomassa perairan adalah skrining terhadap aktivitasnya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan enzim fibrinolitik baru asal bakteri perairan sebagai sumber obat untuk mengatasi *infark miokardia*. Identifikasi bakteri WU 121012\* berdasarkan sekuen 16 S rRNA menunjukkan telah berhasil dilakukan isolasi DNA, PCR 16 S rRNA, purifikasi produk PCR dan sekuensing. Hasil BLAST menunjukkan isolat WU 021012\* memiliki homologi dengan *B. megaterium* sebesar 98%, sedangkan berdasarkan morfologi menunjukkan isolat WU121012\* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang. Ekstrak Protein Kasar isolat WU 121012\* dapat dipresipitasi menggunakan aseton. Presipitat yang diperoleh memiliki aktivitas fibrinolitik. Hasil SDS PAGE menunjukkan terdapat 7 pita dominan pada presipitat. Hasil uji zimografi menunjukkan terdapat satu pita protein yang memiliki aktivitas fibrinolitik.

Kata kunci : purifikasi, karakterisasi, fibrinolitik, bakteri, pantai selatan Jember.

## Executive Summary

### Purifikasi dan Karakterisasi Enzim Fibrinolitik Asal Bakteri Pantai Selatan Jember

Peneliti : Sattya Arimurti<sup>1</sup>, Evi Umayah Ulfa<sup>2</sup>  
Mahasiswa Terlibat : Ajeng Maharani S.P<sup>3</sup>, Dewi Masruroh<sup>4</sup>, Izzay afkarina<sup>5</sup>  
Sumber Dana : DIPA Universitas Jember Tahun Anggaran 2014

<sup>1</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

<sup>2</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember

<sup>3</sup> Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Jember

<sup>4</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

<sup>5</sup> Jurusan Biologi, Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember

### EXECUTIVE SUMMARY

*Infark miokard* akut atau yang lebih dikenal dengan serangan jantung merupakan penyakit yang terjadi akibat sumbatan bekuan darah pada pembuluh darah koroner. Berdasarkan data dari WHO tahun 2001, Infark miokard akut menduduki peringkat kedua penyebab kematian di Indonesia setelah kanker.

Enzim fibrinolitik adalah enzim pendegradasi fibrin (bekuan darah) yang dapat dihasilkan oleh tanaman, hewan, dan mikroorganisme. Mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim fibrinase diantaranya adalah bakteri, actinomycetes and fungi. Bakteri sangat potensial sebagai penghasil enzim yang mempunyai nilai ekonomis dengan beberapa keunggulan, yaitu mudah ditumbuhkan, pertumbuhan lebih cepat, skala produksi sel lebih mudah ditingkatkan, kondisi produksi tidak tergantung pada musim dan waktu yang dibutuhkan relatif tidak lama.

Eksplorasi potensi bakteri fibrinolitik menjadi penting untuk pencarian sumber obat baru. Penelitian sebelumnya telah diperoleh 106 isolat bakteri perairan asal pantai selatan Jember yang telah dianalisis morfologi secara makroskopis dan mikroskopis dan 40 isolat diantaranya telah dianalisis diversitasnya berdasarkan BOX-PCR dan 25 isolat telah dianalisis *finger print metabolic* menggunakan BIOLOG. Hasil pendahuluan menunjukkan bahwa dari 23 isolat yang diuji, 11 isolat mempunyai aktivitas protease (data belum dipublikasikan). Berdasarkan hasil uji protease tersebut perlu diuji lebih lanjut terhadap aktivitas fibrinolitik karena fibrinolitik merupakan salah satu golongan protease. Diharapkan diperoleh kandidat bakteri lokal asal Pantai Selatan Jember (Pantai Papuma), penghasil enzim fibrinolitik yang berpotensi mengatasi serangan jantung ataupun aterosklerosis, merupakan luaran yang

diharapkan dari hasil penelitian ini. Tujuan penelitian ini adalah mempurifikasi dan mengkarakterisasi enzim fibrinolitik asal bakteri pantai selatan Jember WU 021021\*.

Metode penelitian meliputi (1) Identifikasi Isolat Bakteri WU 021012\* berdasarkan PCR 16S rRNA menggunakan 2 pasang primer yaitu p 27 F, 907R, 533F, dan 1427R untuk menghasilkan produk PCR sebesar 800-950 basa nukleotida untuk masing-masing primer. Urutanpasangan primer tersebut adalah :

27 F : 5'AGAGTTTGATCMTGGGTCAG 3'

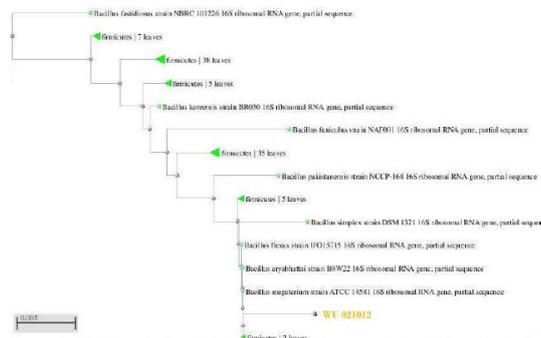
907 R : 5' CCGTCAATTCMTTTGAGTTT 3'

533 F : 5' GTGCCAGCMGCCGCGGTAA3'

1427 R : 5'GGTTACCTTGTTACGACTT3'

(2) Presipitasi dan Purifikasi Enzim fibrinolitik (3) Uji aktivitas fibrinolitik menggunakan metode *fibrin plate assay*.

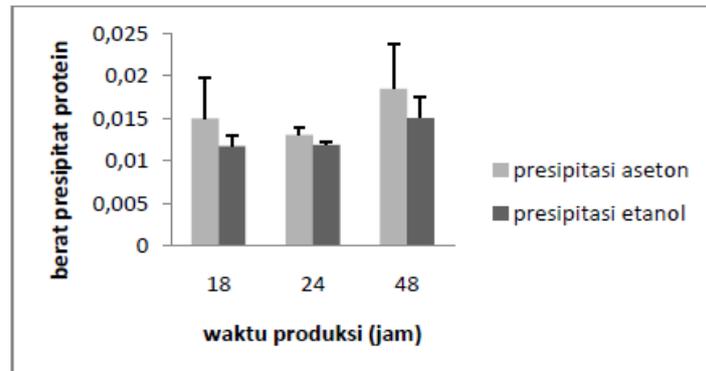
Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri WU 021021\* berdasarkan sekuen gen 16S rRNA menunjukkan nilai homologi tertinggi isolat bakteri WU021012 menunjukkan kedekatansekuen 16S rRNANYa parsial sekuen dengan *Bacillus flexus* strain SBMP3 (99%), *B.Anabhatai* strain BBW22 (99%) dan dengan komplit sekuen 16S rRNA dengan *B.Megaterium* strain QM B1551 (98%)



Gambar 1. Pohon Filogeni Isolat Bakteri WU 021012\* dengan Isolat yang lain di *Gene Bank*

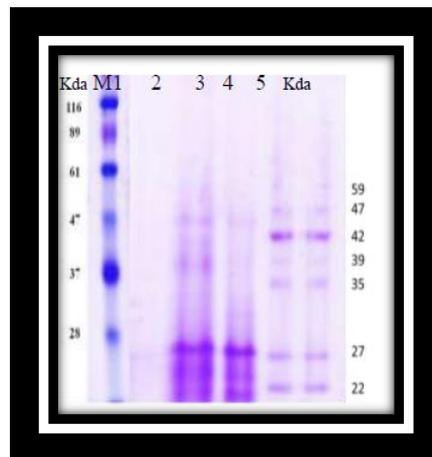
Hasil presipitasi dengan pelarut aseton dingin dan etanol dingin dapat dilihat pada Gambar 2. Rata-rata berat presipitat protein hasil presipitasi dengan aseton dingin lebih besar dari hasil presipitasi dengan etanol dingin. Ketika EPK ditambahkan aseton dingin, lapisan solvasi yang mengelilingi enzim akan berkurang, karena aseton secara cepat memindahkan air dari permukaan enzim dan membuat air berikatan di lapisan hidrasi di sekitar molekul aseton. Hal ini menyebabkan interaksi enzim dengan air (pelarut polar) lebih sedikit, sehingga protein akan cenderung berkurang kelarutannya (mengendap). Hasil presipitasi dengan pelarut aseton dingin dan etanol dingin dapat dilihat pada Gambar 2. Rata-rata berat presipitat protein hasil presipitasi dengan aseton dingin lebih besar dari hasil presipitasi dengan etanol dingin. Ketika EPK ditambahkan aseton dingin, lapisan solvasi yang mengelilingi enzim akan berkurang,

karena aseton secara cepat memindahkan air dari permukaan enzim dan membuat air berikatan di lapisan hidrasi di sekitar molekul aseton. Hal ini menyebabkan interaksi enzim dengan air (pelarut polar) lebih sedikit, sehingga protein akan cenderung berkurang kelarutannya (mengendap).



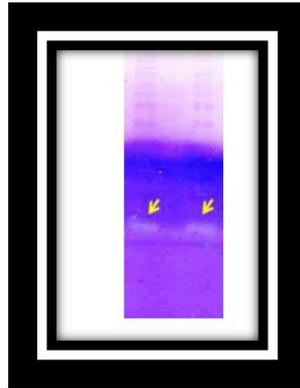
**Gambar 2. Rata-rata berat protein hasil presipitasi etanol dan aseton**

Karakterisasi yang dilakukan berupa SDS PAGE. Hasil SDS PAGE presipitat dapat dilihat pada gambar 5.6. Hasil SDS PAGE diperoleh 7 pita dominan dengan ukuran sebesar 22-59 Kda.



**Gambar 3. Hasil SDS PAGE EKP dan presipitat. (M) Marka protein (1) EKP, (2) Presipitat aseton jam ke 24, (3) presipitat etanol jam ke 24, (4) presipitat aseton jam ke 48, (5) presipitat etanol jam ke 48**

Hasil pengujian zimografi presipitat (Gambar 4) menunjukkan adanya satu pita bening yang terbentuk pada sampel protein enzim.



**Gambar 4. Hasil zimografi presipitat protein.**

Tanda panah menunjukkan pita yang memiliki aktivitas fibrinolitik

Kesimpulan dari penelitian ini adalah bakteri wu 012012\* memiliki homologi dengan bakteri *Bacillus flexus* strain SBMP3 (99%). Enzim fibrinolitik asal bakteri 021021\* hasil purifikasi menunjukkan adanya 7 pita protein yang dominan dengan ukuran sebesar 22-59 Kda dan memiliki aktivitas fibrinolitik.