



JURNAL BIOSAINS

(Journal of Biosciences)

<http://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains>
email : jbiosains



KAPANG DENGAN AKTIVITAS FIBRINOLITIK YANG DIISOLASI DARI TANAH RUMAH POTONG HEWAN

Nur Khikmah*, Nunung Sulistyani

Akademi Analis Kesehatan Manggala Yogyakarta

*email : khikmahnr@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik dari tanah rumah potong hewan. Isolasi kapang dilakukan dengan metode *spread plate* pada *Potato Dextrose Agar*. Seleksi aktivitas proteolitik dan fibrinolitik dilakukan pada *Skim Milk Agar* dan *fibrin plate agar* berdasarkan indeks aktivitas enzim. Hasil penelitian memperoleh empat puluh satu isolat kapang fibrinolitik. Lima dari isolat tersebut mempunyai indeks aktivitas enzim fibrinolitik ≥ 10 . Isolat teridentifikasi sebagai anggota dari *Aspergillus* (isolat S3, S4 dan R5) dan *Penicillium* (isolat G1 dan G2).

Kata kunci: kapang fibrinolitik, fibrin, proteolitik, trombosis

FUNGI WITH FIBRINOLYTIC ACTIVITY ISOLATED FROM SLAUGHTERHOUSE SOIL

ABSTRACT

The aim of the research was to obtain fungi with fibrinolytic activity in slaughterhouse soil. The isolation of fungi was done by using a *spread plate* method on *Potato Dextrose Agar*. Selection of proteolytic and fibrinolytic activity was done through *Skim Milk Agar* and *fibrin plate agar* media, based on enzymes activity index. The result showed that there were forty-one isolates of fibrinolytic fungi. Five of them had fibrinolytic enzymes activity index ≥ 10 . Those isolates were identified as *Aspergillus* (S3, S4 and R5 isolates) and *Penicillium* (G1 and G2 isolates).

Key words : fibrinolytic fungi, fibrin, proteolytic, thrombosis

Pendahuluan

Kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik dapat dimanfaatkan pada bidang kesehatan. Kapang akan menghancurkan fibrin, suatu bekuan darah yang terbentuk dari fibrinogen melalui proses penghancuran protein oleh trombin. Fibrin dihancurkan oleh enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh kapang (Muisristanto *et al.*, 2015). Pada kondisi hemostatis di dalam tubuh terjadi keseimbangan antara proses pembekuan darah dan fibrinolisis (Bakta, 2007).

Akumulasi fibrin yang berlebihan di dalam pembuluh darah tanpa adanya keseimbangan hemostatis akan menyebabkan terjadinya trombosis. Trombosis sering kali mengarah pada

kelainan serebrovaskular dan kardiovaskular, seperti infark miokard, stroke dan gagal jantung yang dapat menyebabkan kematian (Kim and Choi, 2000). Hasil Rikesda tahun 2013 berdasarkan diagnosis gejalanya, prevalensi infark miokard di Indonesia sebesar 1,5% (Kemenkes RI, 2013). Kelainan yang disebabkan oleh trombosis dapat ditangani dengan pemberian terapi obat trombosis (trombolitik).

Terapi obat trombolitik utama yang telah dilakukan saat ini adalah dengan pemberian *tissue plasminogen activator* (tPA), streptokinase (SK) dan urokinase (UK). Penggunaan obat tersebut mempunyai beberapa kekurangan diantaranya harga relatif mahal, waktu paruh pendek dan reaksi di dalam tubuh relatif lama. Hanya dapat diberikan melalui injeksi dan menimbulkan efek samping

seperti pendarahan pada usus apabila diberikan secara oral (Peng *et al.*, 2005). Saat ini streptokinase kurang diminati sebagai trombolitik dibandingkan tPA karena menyebabkan banyak fibrinogenolisis (Klabunde, 2015). Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian tipe baru enzim fibrinolitik yang bersumber dari bakteri, kapang dan streptomyces.

Isolasi kapang fibrinolitik dapat dilakukan dari habitat yang banyak mengandung protein, salah satunya tanah pada Rumah Potong Hewan (RPH). Kegiatan pada RPH menghasilkan limbah padat dan cair. Limbah cair dari RPH umumnya dibuang begitu saja dan mengendap di dalam tanah (Padmono, 2005). Limbah cair RPH yang mengendap pada tanah memiliki kandungan protein tinggi yaitu 52,5%. Adanya protein dalam tanah memungkinkan sebagai sumber kehidupan bagi kapang fibrinolitik (Risris *et al.*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik dari tanah RPH.

Bahan dan Metode

Isolasi Kapang

Isolasi kapang dari tanah Rumah Potong Hewan (RPH) dilakukan dengan metode *surface plating*. Sampel tanah diencerkan dari 10^{-1} sampai 10^{-6} kemudian sebanyak 0,1 ml sampel dari masing-masing pengenceran diinokulasikan ke dalam medium *Potato Dextrose Agar* (PDA), diinkubasi pada 30°C selama 5 x 24 jam.

Seleksi Isolat Proteolitik

Seleksi dilakukan dengan inokulasi kapang ke dalam medium *Skim Milk Agar* (SMA), diinkubasi pada 30°C selama 2 x 24 jam. Aktivitas proteolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni. Perhitungan Indeks Aktivitas Enzim (IAE) proteolitik kapang adalah membandingkan diameter zona jernih dengan diameter koloni. Kapang yang mempunyai indeks proteolitik diseleksi aktivitasnya dalam menghasilkan fibrinolitik.

Seleksi Isolat Fibrinolitik

Seleksi kapang fibrinolitik dilakukan pada medium *fibrin plate agar*. Sebanyak 0,3 gram fibrin dan 1,7 gram agarosa dilarutkan dalam 100 mL buffer asam borat pH 7,8. Setelah agarosa larut dengan pemanasan, medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada 121°C, 20 menit. Ditambahkan 200 μ L metilen blue pada cawan petri steril kemudian ditambahkan medium *fibrin agar* (Muisristanto *et al.*, 2015). Isolat kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni. Perhitungan IAE fibrinolitik kapang adalah membandingkan diameter zona jernih dengan diameter koloni.

Identifikasi Kapang Fibrinolitik

Isolat genus kapang terpilih diidentifikasi berdasarkan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis mengacu pada *Introduction to Food and Airborne Fungi* (Samson *et al.*, 2004) dan *Compendium of Soil Fungi* (Domsch *et al.*, 1980).

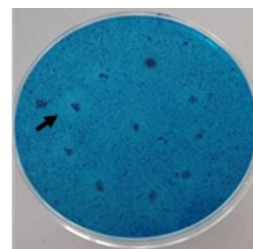
Hasil dan Pembahasan

Isolasi dari tanah RPH menggunakan PDA memperoleh 43 isolat kapang. Menurut Saha *et al.* (2008), *Potato Dextrose Agar* (PDA) merupakan salah satu medium umum yang digunakan untuk isolasi kapang. Komposisi nutrisi dalam PDA sederhana, sehingga merupakan medium yang baik untuk mendukung pertumbuhan berbagai jenis kapang.

Kapang hasil isolasi pada PDA selanjutnya diseleksi kemampuan proteolitik pada medium *Skim Milk Agar* (SMA). Empat puluh tiga isolat kapang yang diseleksi menunjukkan semua isolat mempunyai aktivitas proteolitik.

Muisristanto *et al.* (2015), menyatakan medium yang digunakan untuk mendeteksi aktivitas proteolitik menggunakan medium yang mengandung kasein yaitu *Skim Milk Agar* (SMA). Menurut Poernomo *et al.* (2015), kasein merupakan protein yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kasein yang tidak larut dalam air. Larutan kasein berwarna putih sehingga dapat diamati secara langsung pada saat dicampur dengan agar. Kasein dalam medium akan terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino. Hidrolisis kasein menyebabkan terbentuknya zona jernih pada media SMA 1%.

Kapang yang memiliki aktivitas proteolitik juga berpotensi memiliki aktivitas fibrinolitik (Muisristanto *et al.*, 2015). Sebanyak 43 isolat kapang yang mempunyai aktivitas proteolitik selanjutnya diseleksi aktivitas fibrinolitiknya pada medium *fibrin agar*. Hasil seleksi menghasilkan 41 isolat kapang mempunyai aktivitas fibrinolitik. Adanya aktivitas fibrinolitik ditandai dengan terbentuknya zona jernih pada medium *fibrin agar*. (Gambar 1).



Gambar 1. Pembentukan zona jernih pada medium *fibrin agar* oleh kapang. Zona jernih ditunjukkan dengan tanda panah (➤)

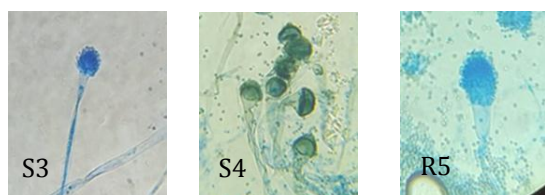
Zona jernih yang terbentuk sangat tipis sehingga sulit terlihat. Poernomo *et al.* (2015), menyatakan bahwa dengan penambahan *methylen blue* 0,02% pada medium *fibrin agar*, memperjelas zona jernih yang terbentuk. Semakin besar zona jernih yang terbentuk, maka aktivitas fibrinolitik juga semakin besar.

Isolat kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik, akan memecah fibrin pada medium *fibrin agar* menjadi protein dengan bentuk yang lebih sederhana sehingga terbentuk zona jernih pada medium *fibrin agar*. Dalam keadaan normal jumlah enzim yang dihasilkan hanya sedikit, tetapi akan meningkat jika substrat fibrin tersebut hanya satu-satunya sumber nutrisi bagi kapang (Setiawan *et al.*, 2016). Zona jernih yang terbentuk selanjutnya dihitung IAE fibrinolitik. Lima isolat kapang mempunyai IAE fibrinolitik ≥ 10 (Tabel 1).

Tabel 1. Indeks Aktivitas Enzim (IAE) fibrinolitik dari 5 (lima) isolat kapang

Asal Isolat	No	Kode Isolat	IAE Fibrinolitik
Tanah RPH	1	S3	10
Segoroyoso	2	S4	10
Tanah RPH Srandakan	3	R5	10
Tanah RPH	4	G1	10
Godean	5	G2	10

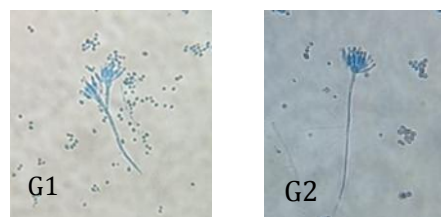
Karakteristik koloni isolat S3, S4 dan S5 adalah bertekstur granular, berwarna hijau, warna medium dan sebalik koloni (*reverse side*) tidak berwarna. Hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat S3, S4 dan S5 ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi mikroskopis isolat S3, S4 dan S5

Karakteristik mikroskopis isolat S3, S4 dan S5 adalah hifa bersekat, hialin dan konidiofor tunggal. Ujung konidiofor membengkak membentuk struktur yang disebut vesikel. Konidia bulat, berwarna hijau, tersusun pada ujung fialid yang terdapat di atas vesikel.

Karakteristik koloni isolat G1 dan G2 adalah bertekstur *velvety*, berwarna hijau kebiruan dan sebalik koloni (*reverse side*) tidak berwarna. Hasil pengamatan morfologi mikroskopis isolat G1 dan G2 ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Morfologi mikroskopis isolat G1 dan G2

Karakteristik mikroskopis isolat G1 dan G2 adalah hifa bersekat, hialin dan fialid membentuk struktur seperti sapu terbalik. Konidia bulat, berwarna hijau, tersusun pada ujung fialid. Bentuk percabangan konidiofor termasuk dalam kategori sederhana.

Identifikasi isolat kapang dilakukan berdasarkan karakterisasi makroskopis dan mikroskopis isolat dengan mengacu pada *Introduction to Food and Airborne Fungi* (Samson *et al.*, 2004) dan *Compendium of Soil Fungi* (Domsch *et al.*, 1980). Berdasarkan karakterisasi tersebut, maka isolat S3, S4 dan R5 teridentifikasi sebagai anggota *Aspergillus* dengan ciri spesifik adanya vesikel. Isolat G1 dan G2 teridentifikasi sebagai anggota *Penicillium* dengan ciri adanya percabangan pada konidiofor.

Kesimpulan

Isolasi dari tanah RPH memperoleh empat puluh satu isolat kapang yang mempunyai aktivitas fibrinolitik. Lima isolat kapang dengan IAE fibrinolitik ≥ 10 teridentifikasi sebagai anggota *Aspergillus* (isolat S3, S4 dan R5) dan *Penicillium* (isolat G1 dan G2).

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Dirjen Penguatan Riset dan Pengembangan KEMRISTEK DIKTI melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun Anggaran 2018.

Daftar Pustaka

- Bakta, I.M. 2007. *Hematologi Klinik Ringkas*. EGC, Jakarta.
- Domsch, K.H., W. Gams and T.H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Academic Press, London.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Kemenkes RI]. 2013. Riset Kesehatan Dasar

2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Kim, S.H and Choi, N.S. 2000. Purification and Characterization of Subtilisin DJ-4 Secreted by *Bacillus* sp. Strain DJ-4 Screened from Doen-jong. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 64: 1722-1725.
- Klabunde, R.E. 2015. Thrombolytic (Fibrinolytic) Drugs. <https://www.cvpharmacology.com/thrombolytic/thrombolytic>. (Diunduh 6 Desember 2018).
- Muisristanto, D., A. Poernomo, and T. Sugijangto. 20015. Isolasi dan Penapisan Fibrinolitik Jamur Tanah Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi.* 4 (2) : 11-17.
- Padmono, D. 2005. Alternatif Pengolahan Limbah Rumah Potong Hewan- Cakung. *Jurnal Teknik Lingkungan.* 6 (1): 303-310.
- Peng, Y., X. Yang and Y. Zhang. 2005. Microbial Fibrinolytic Enzymes : An Overview of Source, Production, Properties, and Thrombolytic Activity *In Vivo*. *Appl. Microb. Biotechnol.* 69: 126-132.
- Poernomo, A., Isnaeni and Purwanto. 2015. Aktivitas Invitro Enzim Fibrinolitik Ekstrak Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus oligosporus* ATCC 6010 pada Substrat Kedelai Hitam. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi.* 4 (2): 18-24.
- Risris, N., Y. Sastro and B. Bakrie. 2011. Karakteristik Fisik, Kimia dan Biologi dari Tepung Limbah Rumah Potong Ayam sebagai Bahan Baku untuk Pakan Ternak. Di dalam: *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*; Jakarta. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian, Jakarta. 651-659.
- Saha, A., P. Mandal, S. Dasgupta and D. Saha. 2008. Influence of Culture Media and Environmental Factors on Mycelial Growth and Sporulation of *Lasioidiplodia theobromae* (Pat) Griffon and Maub. *Journal of Environmental Biology.* 29 (3): 407-410.
- Samson, R.A., E. S., Hoekstra, and J.C., Frisvad. 2004. *Introduction to Food and Air Borne Fungi.* Seventh Edition. Centraalbureau Voor Schimmelcultures, The Netherlands.
- Setiawan, A., Arimurti, S., Senjarini, K., and Sutoyo. (2016). Aktivitas Proteolitik dan Fibrinolitik Isolat Bakteri dari Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember. *Berkala Sainstek,* 4(1): 1-4.