

Seleksi Bakteri dengan Aktivitas Fibrinolitik yang Diisolasi dari Tanah Rumah Potong Ayam

Selection of Bacteria With Fibrinolytic Activity Isolated from Chicken Slaughter House Soil

Nur Khikmah^{1*}, Nuri Rizky Astrika², dan Barinta Widaryanti¹

¹Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis,
Akademi Analis Kesehatan Manggala, Yogyakarta, Indonesia

²UPT Puskesmas Sialang, Bangun Purba, Deli Serdang, Sumatera Utara, Indonesia

Abstrak

Bakteri fibrinolitik mampu melisis fibrin suatu bekuan darah yang terbentuk dari fibrinogen melalui proses penghancuran protein oleh trombin. Akumulasi fibrin yang berlebihan tanpa keseimbangan hemostatis dapat menyebabkan trombosis sehingga mengakibatkan kelainan pada serebrovaskular dan kardiovaskular. Enzim fibrinolitik dari bakteri mempunyai potensi sebagai agen obat trombosis. Tujuan penelitian ini mendapatkan bakteri yang unggul dalam menghasilkan enzim fibrinolitik. Isolat bakteri diseleksi berdasarkan Indeks Aktivitas Enzim (IAE) proteolitik pada *skim milk agar* dan IAE fibrinolitik pada *fibrin plate agar*. IAE diperoleh dengan membagi diameter zona jernih di sekeliling koloni bakteri dengan diameter koloni bakteri. Dua puluh delapan isolat bakteri mempunyai aktivitas proteolitik, empat belas isolat diantaranya mempunyai aktivitas fibrinolitik. Lima isolat bakteri mempunyai IAE fibrinolitik $\geq 4,0$. Isolat tersebut teridentifikasi sebagai anggota *Bacillus*.

Kata kunci : bakteri fibrinolitik, proteolitik, fibrin, trombosis, protease

Abstract

*Fibrinolytic bacteria are able to lyse fibrin a blood clot formed from fibrinogen through the process of destroying proteins by thrombin. Excessive accumulation of fibrin without hemostatic balance can cause thrombosis resulting in cerebrovascular and cardiovascular disorders. Fibrinolytic enzymes from bacteria have the potential as thrombosis drug agents. The research aim was to obtain fibrinolytic bacteria that can produce high fibrinolytic enzymes. Bacterial isolates were selected based on Enzyme Activity Index (IAE) of proteolytic on skim milk agar and fibrinolytic IAE on fibrin plate agar. IAE is obtained by comparing clear zone around the bacterial colony with bacterial colony diameter. Twenty eight bacterial isolates had proteolytic activity, fourteen among 28 isolates had fibrinolytic activity. Five bacterial isolates had fibrinolytic IAE ≥ 4.0 . The isolate was identified as *Bacillus*.*

Keywords: *fibrinolytic bacteria, proteolytic, fibrin, thrombosis, protease*

*** Corresponding author:**

Nur Khikmah

Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis, Akademi Analis Kesehatan Manggala Yogyakarta.

Jl. Bratajaya 25 Sokowaten, Banguntapan, Bantul, Indonesia

Email: khikmahnr@gmail.com

Pendahuluan

Bakteri dengan aktivitas fibrinolitik mempunyai kemampuan untuk melisis fibrin, suatu bekuan darah yang terbentuk dari fibrinogen melalui proses penghancuran protein oleh trombin. Fibrin akan dihancurkan oleh enzim fibrinolitik yang dihasilkan bakteri (Raju & Divakar, 2013). Akumulasi fibrin yang berlebihan di dalam pembuluh darah tanpa adanya keseimbangan homeostatis dari faktor pembekuan darah dan plasmin akan menyebabkan trombosis (Setiabudy, 2012).

Trombosis mengarah pada kelainan serebrovaskular dan kardiovaskular, seperti infark miokard, stroke dan gagal jantung yang dapat menyebabkan kematian (Kim & Choi, 2000). Hasil Rikesda tahun 2018 berdasarkan diagnosis gejalanya, prevalensi stroke di Indonesia mengalami peningkatan sebanyak 56% dari 7 per 1000 penduduk pada tahun 2013, menjadi 10,9 per 1000 penduduk pada tahun 2018 (Kemenkes, 2019).

Kelainan yang disebabkan oleh trombosis dapat ditangani dengan terapi obat trombosis (trombolitik). Terapi obat trombolitik utama yang telah dilakukan saat ini adalah pemberian tissue plasminogen activator (tPA), streptokinase (SK) dan urokinase (UK). Penggunaan obat tersebut mempunyai beberapa kekurangan diantaranya harga relatif mahal, waktu paruh pendek, reaksi di dalam tubuh relatif lama, hanya cocok diberikan melalui injeksi dan menimbulkan pendarahan pada usus apabila diberikan secara oral (Peng *et al.*, 2005). Adanya kekurangan tersebut, maka dikembangkan agen trombolitik yang bersumber dari mikroba, khususnya bakteri.

Bakteri mempunyai peranan penting dalam produksi enzim fibrinolitik (Kotb, 2013). Keragaman metabolik bakteri dapat menghasilkan protease fibrinolitik yang lebih baik dan meningkatkan spesifisitas target dari protease fibrinolitik. Bakteri juga mudah ditumbuhkan dan dapat diperoleh dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan sumber agen trombolitik lainnya (Bajaj *et al.*, 2013).

Keberadaan bakteri fibrinolitik dapat diperoleh pada substrat yang mengandung protein. Beberapa penelitian telah dilaporkan

mendapatkan bakteri fibrinolitik dari tanah yang mengandung protein, diantaranya *Bacillus* sp. diisolasi dari tanah pembuangan limbah tahu (Madaniyah, 2013), *Bacillus cereus* NS-2 dari tanah pembuangan sampah rumah tangga di India (Bajaj *et al.*, 2013). *Staphylococcus* sp. pada tanah pemerahan susu sapi di kawasan Vellore India (Srinivasan *et al.*, 2013), *Bacillus cereus*, *B. circulans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* dan *Escherichia coli* diisolasi dari tanah rumah potong sapi dan ayam di Bangalore India (Raju & Divakar, 2013). *Serratia* sp. KG-2-1 dari tanah tempat pembuangan sampah (Taneja *et al.*, 2017).

Tanah Rumah Potong Ayam (RPA) Condongcatur merupakan tanah yang berada di sekitar RPA. RPA Condongcatur rata-rata memotong 75 ekor ayam/hari. Aktivitas dari RPA tersebut menghasilkan limbah padat dan cair. Limbah padat berupa darah yang dibuang akan mengendap pada tanah, sehingga dapat menjadi nutrisi untuk bakteri fibrinolitik.

Bakteri fibrinolitik dari tanah dapat diperoleh dengan cara menumbuhkannya dalam medium yang mengandung fibrin. Kemampuan bakteri dalam melisis fibrin dapat dideteksi dengan adanya zona jernih di sekitar koloni bakteri. Strategi seleksi membantu mendapatkan bakteri yang unggul dalam menghasilkan enzim fibrinolitik. Indeks aktivitas enzim fibrinolitik secara kualitatif merupakan parameter yang digunakan dalam seleksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang unggul dalam menghasilkan enzim fibrinolitik. Hasil yang diperoleh digunakan sebagai dasar pemilihan isolat yang akan digunakan sebagai obat trombosis.

Materi Dan Metode

Sumber Isolat

Sumber isolat fibrinolitik berasal dari tanah pembuangan limbah Rumah Potong Ayam (RPA) di Condongcatur, Sleman. Isolat fibrinolitik diperoleh dengan melakukan isolasi dan seleksi bakteri proteolitik, selanjutnya seleksi bakteri fibrinolitik, dan identifikasi genus bakteri fibrinolitik.

Isolasi Bakteri Proteolitik

Isolasi bakteri proteolitik dari tanah RPA dilakukan pada media *Skim Milk Agar* (SMA) 1%, yang dibuat dengan komposisi: 10 g susu skim dan 20 g agar dalam 1000 mL medium minimal. Komposisi medium minimal menurut Jholapara *et al.* (2013) dengan modifikasi: KH_2PO_4 0.3 g, K_2HPO_4 0.7 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.001 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001 g dalam 1000 mL akuades.

Serbuk agar sebanyak 20 g ditambahkan dalam 800 mL medium minimal, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada 15 psi, suhu 121°C selama 15 menit. Serbuk susu skim sebanyak 10 g dilarutkan dalam 200 mL akuades, kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada 15 psi, suhu 110°C selama 10 menit. Larutan susu skim yang telah steril dibiarkan sampai suhunya menjadi 50°C , kemudian dimasukkan ke dalam medium minimal dan dituang pada cawan petri.

Sampel tanah sebanyak 10 gram dilarutkan dalam 90 mL NaCl 0,85% steril dan dilakukan pengenceran berseri sampai 10^{-7} . Pada pengenceran 10^{-6} dan 10^{-7} dilakukan *spread plating duplo* pada SMA 1%, kemudian diinkubasi 30°C selama 24 jam. Isolat bakteri yang menghasilkan zona jernih di sekitar koloni merupakan bakteri proteolitik.

Isolat proteolitik selanjutnya dihitung Indeks Aktivitas Enzim (IAE), dengan cara membandingkan diameter zona jernih di sekeliling koloni bakteri dengan diameter koloni bakteri (Setiawan *et al.*, 2016). Diameter zona jernih dan diameter koloni bakteri diukur sebanyak 3 kali pada tempat yang berbeda menggunakan mistar standard (millimeter), kemudian dihitung rata-rata diameternya. Isolat terpilih digunakan untuk tahap seleksi bakteri fibrinolitik.

Seleksi Bakteri Fibrinolitik

Seleksi bakteri fibrinolitik dilakukan pada media *fibrin plate agar*, yang dibuat dengan komposisi: 0,3 g fibrin dan 1,7 g agarosa dilarutkan dalam 100 mL buffer asam borat pH 7,8. Setelah agarosa larut dengan pemanasan, medium disterilisasi menggunakan autoklaf pada 121°C , selama 20

menit. Cat warna *methylen blue* 0,02% dengan volume 200 μL ditambahkan pada cawan petri steril, kemudian ditambahkan medium fibrin agar (Modifikasi dari Muisristanto *et al.*, 2015). Isolat bakteri yang menghasilkan zona jernih di sekitar koloni merupakan bakteri fibrinolitik.

Seleksi bakteri fibrinolitik berdasarkan IAE, yang dihitung dengan membandingkan diameter zona jernih di sekeliling koloni bakteri dengan diameter koloni bakteri (Setiawan *et al.*, 2016). Diameter zona jernih dan diameter koloni bakteri diukur sebanyak 3 kali pada tempat yang berbeda menggunakan mistar standard (millimeter), kemudian dihitung rata-rata diameternya. Isolat terpilih digunakan untuk tahap identifikasi bakteri fibrinolitik.

Identifikasi Bakteri Fibrinolitik

Genus isolat bakteri fibrinolitik terpilih diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi koloni, morfologi sel dan biokimia mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994).

Hasil

Isolat Bakteri Proteolitik

Isolat bakteri proteolitik yang diperoleh dari tanah RPA berjumlah 28. Aktivitas proteolitik isolat ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni pada media SMA 1% (Gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan isolat bakteri pada media SMA 1% dengan aktivitas proteolitik yang ditunjukkan oleh tanda panah (➤)

Dua puluh delapan isolat bakteri proteolitik mempunyai Indeks Aktivitas

Enzim (IAE) $\geq 1,3$ (Tabel 1). Isolat bakteri P15 memiliki IAE tertinggi yaitu 4,2.

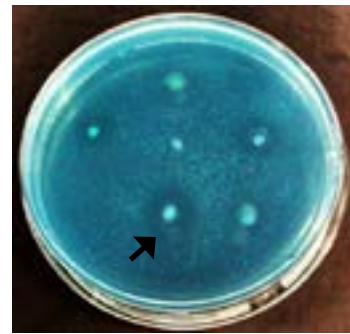
Tabel 1. Indeks Aktivitas Enzim (IAE) proteolitik bakteri dari tanah RPA Condongcatur, Sleman

No	Kode isolat	Diameter zona jernih (mm)	Diameter koloni bakteri (mm)	IAE proteolitik
1	P1	28	18	1,6
2	P2	16	5,0	3,2
3	P3	17	11	1,5
4	P4	8,0	6,0	1,3
5	P5	5,0	4,0	1,3
6	P6	8,0	3,0	2,7
7	P7	14	7,0	2,0
8	P8	19	13	1,5
9	P9	17	9,0	1,9
10	P10	7,0	4,0	1,8
11	P11	14	6,0	2,3
12	P12	8,0	3,0	2,7
13	P13	13	6,0	2,2
14	P14	9,0	6,0	1,5
15	P15	25	6,0	4,2
16	P16	15	5,0	3,0
17	P17	8,0	4,0	2,0
18	P18	15	7,0	2,1
19	P19	14	11	1,3
20	P20	13	5,0	2,6
21	P21	7,0	4,0	1,8
22	P22	19	10	1,9
23	P23	22	11	2,0
24	P24	6,0	3,0	2,0
25	P25	12	8,0	1,5
26	P26	6,0	4,0	1,5
27	P27	11	8,0	1,4
28	P28	15	7,0	2,1

Seleksi Bakteri Fibrinolitik

Dua puluh delapan isolat bakteri proteolitik kemudian diseleksi aktivitas fibrinolitik secara kualitatif dan hasilnya diperoleh 14 isolat dengan aktivitas fibrinolitik. Hasil tersebut menunjukkan bahwa tidak semua isolat bakteri proteolitik mempunyai aktivitas fibrinolitik. Aktivitas fibrinolitik ditandai dengan adanya zona jernih di sekeliling koloni yang tumbuh pada media *fibrin agar* (Gambar 2).

Hasil perhitungan IAE fibrinolitik terhadap 14 isolat bakteri proteolitik mendapatkan 4 isolat mempunyai IAE $< 3,0$ dan 10 isolat mempunyai IAE $\geq 3,0$ (Tabel 2). Tabel 2. Indeks Aktivitas Enzim (IAE) fibrinolitik bakteri dari tanah RPA Condongcatur, Sleman



Gambar 2. Pertumbuhan isolat bakteri pada media *fibrin agar* dengan aktivitas fibrinolitik yang ditunjukkan oleh tanda panah (➤)

No	Kode isolat	Diameter zona jernih (mm)	Diameter koloni bakteri (mm)	IAE fibrinolitik
1	P3	11	4,0	2,8
2	P6	10	2,0	5,0
3	P7	10	3,0	3,3
4	P8	13	3,0	4,3
5	P9	14	3,0	4,7
6	P10	6,0	3,0	2,0
7	P11	10	3,0	3,0
8	P13	9,0	3,0	3,0
9	P15	13	4,0	3,3
10	P16	12	3,0	4,0
11	P17	15	3,0	5,0
12	P18	9,0	3,0	3,0
13	P19	15	11	1,4
14	P20	8,0	3,0	2,7

Hasil perhitungan juga menunjukkan isolat bakteri dengan IAE proteolitik tinggi tidak selalu mempunyai IAE fibrinolitik tinggi. Hasil tersebut ditunjukkan oleh isolat P15. IAE fibrinolitik tertinggi yaitu 5,0 didapatkan pada isolat P6 dan P17. Lima isolat bakteri dengan IAE fibrinolitik $\geq 4,0$ (isolat P6, P8, P9, P16, dan P17) dipilih untuk dilakukan identifikasi genus.

Identifikasi Bakteri Fibrinolitik

Lima isolat bakteri terpilih (isolat P6, P8, P9, P16, dan P17) dengan IAE fibrinolitik $\geq 4,0$ diidentifikasi berdasarkan karakter morfologi makroskopis (koloni), morfologi mikroskopis (sel) dan biokimia. Hasil karakterisasi makroskopis bakteri fibrinolitik pada media SMA 1% disajikan pada Tabel 3.

Pengamatan morfologi sel dilakukan melalui pewarnaan Gram dan spora, menunjukkan lima isolat bakteri mempunyai

Tabel 3. Hasil karakterisasi makroskopis koloni bakteri fibrinolitik dari tanah RPA di Condongcatu, Sleman

No	Karakter makroskopis koloni	Isolat bakteri				
		P6	P8	P9	P16	P17
1	Bentuk	<i>Circular</i>	<i>Irregulair</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Irregulair</i>
2	Elevasi	Cembung	Datar	Cembung	Cembung	Cembung
3	Tepi	Rata	Bergerigi	Rata	Rata	Bergerigi
4	Warna	Putih	Putih	Putih	Putih	Putih
5	Konsistensi	<i>Mucoid</i>	Kering	<i>Mucoid</i>	<i>Mucoid</i>	<i>Mucoid</i>

bentuk sel *bacil*, bersifat Gram Positif, mempunyai spora *oval* yang letaknya *central*. Isolat bakteri selanjutnya diuji untuk beberapa karakter biokimia dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji biokimia isolat bakteri fibrinolitik dari tanah RPA di Condongcatu, Sleman

No	Karakter uji biokimia	Isolat bakteri				
		P6	P8	P9	P16	P17
1	Fermentasi karbohidrat:					
	Glukosa	+	+	+	+	+
	Laktosa	-	-	-	-	-
	Manitol	-	-	-	+	-
	Maltosa	+	+	+	+	+
	Sukrosa	+	+	+	+	+
2	Gas	-	-	-	-	-
3	Sulfit	-	-	-	-	-
4	Indol	-	-	-	-	-
5	Motilitas	+	+	+	+	+
6	Katalase	+	+	+	+	+

Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi koloni, morfologi sel, dan uji biokimia bakteri yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994), kelima isolat bakteri fibrinolitik dari tanah RPA di Condongcatu, Depok, Sleman teridentifikasi sebagai anggota genus *Bacillus*.

Pembahasan

Isolat Bakteri Proteolitik

Aktivitas proteolitik 28 isolat bakteri dari tanah rumah potong ayam terlihat dari terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni bakteri pada media SMA 1%. Bakteri mampu menghasilkan enzim protease yang melisis kasein sebagai sumber protein dalam media SMA. Enzim tersebut dilepaskan ekstraseluler, sehingga kemampuan melisis kasein ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih.

Muisristanto *et al.* (2015), menyatakan kasein merupakan salah satu jenis protein. Hidrolisis kasein menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik protease yang memutuskan ikatan peptida CO-NH. Poernomo *et al.* (2014), juga menyatakan bahwa kasein merupakan protein yang terdiri dari fosfoprotein yang berikatan dengan kalsium membentuk garam kaseinat yang tidak larut dalam air. Molekul tersebut membentuk koloidal berwarna putih yang dapat diamati secara langsung saat dicampur dengan media agar. Enzim proteolitik yang dihasilkan bakteri menyebabkan kasein terhidrolisis menjadi peptida dan asam amino, ditandai dengan terbentuknya zona jernih pada media SMA 1%.

Penelitian Panicker *et al.* (2022), juga menggunakan kasein sebagai sumber protein dalam media *casein agar plate*. Media tersebut digunakan untuk skrining awal bakteri fibrinolitik yang diisolasi dari tanah rumah potong hewan dan tempat pembuangan sampah makanan. Hasil skrining memperoleh enam isolat yang mempunyai aktivitas kaseinolitik.

Chandramohan *et al.* (2019), mendapatkan 23 isolat bakteri yang mempunyai aktivitas protease dari tanah rumah potong unggas menggunakan media *skim milk agar*. Penelitian Sompalli & Malaviya. (2024), juga mendapatkan 61 isolat bakteri penghasil protease dari sedimen tanah mangrove berdasarkan skrining kualitatif menggunakan media *skim milk agar*. Skrining dilakukan secara kuantitatif berdasarkan aktivitas protease (U/mL) menggunakan *crude enzim* dan didapatkan 12 isolat bakteri.

Indeks aktivitas enzim (IAE) proteolitik dari 28 isolat bakteri berbeda-beda (Tabel 1). IAE proteolitik menggambarkan

kemampuan secara kualitatif isolat bakteri dalam melisiskan skim sebagai sumber protein pada media. Perbedaan IAE dari 28 isolat dapat dikarenakan jumlah enzim yang dihasilkan berbeda, sehingga aktivitas dalam perombakan substrat juga berbeda. Isolat bakteri P15 memiliki indeks aktivitas enzim proteolitik tertinggi, yaitu 4,2. Indeks tersebut lebih rendah dari hasil penelitian Setiawan *et al.*, (2016), yaitu 4,3 untuk isolat bakteri dari air laut, akan tetapi lebih tinggi dari penelitian Baehaki *et al.* (2011), yaitu 2,0 untuk isolat dari tanah rawa di Indralaya.

Seleksi Bakteri Fibrinolitik

Seleksi bakteri fibrinolitik dilakukan pada 28 isolat bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik untuk memastikan bahwa bakteri proteolitik juga mempunyai aktivitas fibrinolitik. Hal tersebut didasarkan bahwa enzim fibrinolitik merupakan kelompok enzim protease, yaitu salah satu sub-class dari proteinase yang dapat mendegradasi fibrin.

Beberapa isolat bakteri proteolitik yang memiliki aktivitas fibrinolitik diantaranya *Bacillus* (Ulfa *et al.*, 2017), *Mycrobacterium testaceum* (Pananjung *et al.*, 2016) dan beberapa kelompok Bakteri Asam Laktat *Vagococcus*, *Pediococcus*, dan *Enterococcus* (Singh *et al.*, 2014). Panicker *et al.* (2022), mendapatkan 3 isolat bakteri fibrinolitik protease dari 6 isolat kaseinolitik. Isolat C4 mempunyai kemampuan melisiskan bekuan fibrin dan bekuan darah utuh dengan maksimal, sehingga berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut dalam produksi enzim fibrinolitik protease.

Chandramohan *et al.* (2019), melakukan seleksi awal kemampuan fibrinolitik 23 isolat bakteri proteolitik pada media *fibrin plate agar*, dilanjutkan seleksi aktivitas fibrinolitik protease berdasarkan uji degradasi fibrin. Didapatkan 11 isolat bakteri yang mampu menghasilkan enzim fibrinolitik protease, dengan aktivitas enzim 5,33-79,83 FU/mL. Isolat PW 7 mempunyai aktivitas fibrinolitik protease tertinggi, yaitu 79,83 FU/mL. Sompalli & Malaviya. (2024), juga menyeleksi kemampuan fibrinolitik dari 12 isolat bakteri penghasil protease.

Hasil seleksi mendapatkan 4 isolat positif fibrinolitik, ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar koloni pada media *fibrin agar plate*. Isolat CO2-10 merupakan isolat potensial fibrinolitik, ditunjukkan dari diameter zona jernih tertinggi (0,48±0,03 cm).

Dua puluh delapan isolat bakteri proteolitik yang diseleksi berdasarkan aktivitas fibrinolitik, diperoleh 14 isolat fibrinolitik. Aktivitas fibrinolitik ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni bakteri pada media *fibrin agar*. Fibrin akan dipecah menjadi protein yang lebih sederhana. Menurut Setiawan *et al.* (2016), jumlah enzim yang dihasilkan oleh bakteri fibrinolitik hanya sedikit, tetapi akan meningkat apabila digunakan substrat fibrin sebagai satu-satunya sumber karbon bagi bakteri.

Berdasarkan nilai IAE fibrinolitik (Tabel 2) dapat diketahui bahwa kemampuan 14 isolat bakteri dalam melisiskan fibrin berbeda-beda, yaitu 4 isolat mempunyai IAE <3,0 dan 10 isolat mempunyai IAE ≥3,0. IAE fibrinolitik tertinggi 5,0 didapatkan dari isolat bakteri P6 dan P17. Indeks tersebut lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Madaniyah (2013), yaitu 5,2 dari sampel tanah pada pembuangan limbah tahu. Hasil IAE isolat bakteri P6 dan P17 lebih tinggi dari hasil penelitian Poernomo *et al.* (2014), yaitu 3,4 dari kontrol natokinase dan penelitian Rajendran *et al.* (2016), yaitu 2,4 dari sampel makanan fermentasi kacang kedelai.

Perbandingan indeks aktivitas proteolitik (Tabel 1) dan fibrinolitik (Tabel 2) menunjukkan bahwa isolat P6 memiliki indeks proteolitik tinggi juga memiliki indeks fibrinolitik tinggi. Indeks fibrinolitik dari isolat tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan indeks proteolitik pada media SMA 1%. Berbeda dengan isolat bakteri P2, memiliki indeks proteolitik tinggi tetapi tidak memiliki aktivitas fibrinolitik. Hasil ini menunjukkan bahwa enzim protease isolat P6 bersifat spesifik terhadap substrat fibrin, sedangkan isolat P2 tidak spesifik terhadap fibrin. Setiawan *et al.* (2016), juga mendapatkan hasil yang sama, yaitu terdapat perbedaan aktivitas proteolitik dan fibrinolitik isolat bakteri perairan Pantai Papuma Jember. Tiga

isolat bakteri mempunyai indeks proteolitik dan fibrinolitik tinggi. Isolat WU 021004 mempunyai indeks proteolitik tinggi (4,2), tetapi tidak mempunyai aktivitas fibrinolitik.

Identifikasi Bakteri Fibrinolitik

Lima isolat bakteri fibrinolitik terpilih dengan IAE fibrinolitik $\geq 4,0$ berdasarkan karakter morfologi koloni, morfologi sel, dan uji biokimia teridentifikasi sebagai anggota *Bacillus*. Identifikasi yang dilakukan dalam penelitian ini ini masih dilakukan secara konvensional, yaitu membandingkan karakter isolat terpilih dengan karakter bakteri yang sudah teridentifikasi sebelumnya. Identifikasi secara konvensional juga dilakukan oleh peneliti sebelumnya. Holt *et al.* (1994), genus *Bacillus* dapat ditemukan pada berbagai habitat. Sel berbentuk *bacil* tersusun berpasangan, Gram positif, mempunyai endospora oval, motil, mampu memfermentasi glukosa menghasilkan asam, katalase positif, dan tidak menghasilkan sulfid.

Bacillus menunjukkan bentuk koloni yang berbeda-beda pada medium agar, memiliki tepi yang bermacam-macam tetapi umumnya tidak rata, permukaan kasar dan berlendir. Pananjung *et al.* (2016), karakter koloni isolat bakteri fibrinolitik WU 021055 adalah bulat, bergerigi, dan putih. Rajendran *et al.* (2016), tiga isolat bakteri fibrinolitik mempunyai karakter koloni besar, halus, *opaque*, *irregular*, *flat* dan *undulate*. Raju & Divakar (2013), lima isolat bakteri fibrinolitik protease mempunyai karakter koloni berwarna putih dan krem, *opaque* dan *translucent*, *irregular* dan *circular*, serta *raised* dan *flat*.

Karakter mikroskopis sel *Bacillus* pada penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya, yaitu *bacil*, Gram positif, dan mempunyai endospora. Hasil uji biokimia *Bacillus* untuk fermentasi karbohidrat menunjukkan hasil yang berbeda dengan penelitian sebelumnya. Hasil uji biokimia untuk sulfid negatif, indol negatif, motilitas positif, sitrat positif, dan katalase positif menunjukkan hasil yang sama (Pananjung *et al.*, 2016; Rajendran *et al.*, 2016; Raju & Divakar., 2013; Gad *et al.*, 2014)

Pada penelitian sebelumnya, identifikasi secara konvensional isolat *Bacillus* yang mempunyai aktivitas fibrinolitik dilanjutkan dengan identifikasi molekuler menggunakan sekuens DNA sehingga teridentifikasi spesies bakteri. Pananjung *et al.* (2016), isolat bakteri WU 021055 dari perairan Pantai Papuma Jember teridentifikasi *B. aerius*. Rajendran *et al.* (2016), isolat bakteri dari tanah teridentifikasi *B. cereus*, *B. subtilis*, dan *B. pulminus*. Raju & Divakar (2013), isolat bakteri dari tanah rumah potong hewan teridentifikasi *B. cereus* dan *B. circulans*. Gad *et al.* (2014), isolat bakteri dari susu busuk dan tepung kedelai teridentifikasi *B. amyloliquefaciens* dan *B. licheniformis*.

Penelitian Chandramohan *et al.* (2019), mendapatkan satu isolat bakteri dengan aktivitas fibrinolitik tertinggi teridentifikasi *Bacillus pseudomycoides* MA02, dengan berat molekul enzim 35 kDA. Sompalli & Malaviya. (2024), strain bakteri penghasil enzim fibrinolitik (AIBL_AMSB2) tertinggi teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* subsp. *Inaquosorum* berdasarkan analisis 16S rRNA. Bakteri tersebut diisolasi dari sedimen tanah mangrove.

Lima isolat *Bacillus* hasil penelitian ini memiliki IAE fibrinolitik lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, sehingga dapat digunakan sebagai dasar pemilihan isolat yang akan digunakan sebagai agen trombolitik. Menurut Weng *et al.* (2017), agen trombolitik yang saat ini digunakan adalah nattokinase yang dari *Bacillus subtilis*. Nattokinase dapat secara langsung menghidrolisis fibrin, mengubah prourokinase menjadi urokinase, mendegradasi plasminogen activator inhibitor-1 dan meningkatkan tissue plasminogen activator sehingga pemecahan bekuan darah terjadi lebih cepat. Nattokinase juga memiliki aktivitas fibrinolitik yang kuat setelah terserap di saluran pencernaan

Kesimpulan

Seleksi dari tanah RPA Condongcatur, Sleman memperoleh empat belas isolat bakteri yang mempunyai aktivitas fibrinolitik. Lima isolat bakteri dengan IAE fibrinolitik $\geq 4,0$ teridentifikasi sebagai anggota *Bacillus*.

Daftar Pustaka

- Baehaki, A., Rinto, & Budiman, A. (2011). Isolasi dan Karakterisasi Protease Dari bakteri Tanah Rawa Indralaya, Sumatera Selatan. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, XXII(1), 37–42.
- Bajaj, B. K., Sharma, N., & Singh, S. (2013). Enhanced Production of Fibrinolytic Protease from *Bacillus cereus* NS-2 using Cotton Seed Cake as Nitrogen Source. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2, 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.04.003>
- Chandramohan, M., Yee, C. Y., Kei Beatrice, P. H., Ponnaiah, P., Narendrakumar, & Samrot, A. V. (2019). Production, Characterization and Optimization of Fibrinolytic Protease from *Bacillus pseudomycoloides* Strain MA02 isolated from Poultry Slaughter House Soils. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101371. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101371>.
- Gad, R. G., Nirmala, S., & Sivvaswamy, S. N. (2014). Studies on a Fibrinolytic Enzyme from *Bacillus species*. *Indian Journal of Science and Technology*, 7(10), 1632–1642. <https://doi.org/10.17485/ijst/2014/v7i10.12>
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Ninth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Jholapara, R. J., Mehta, R. S., Bhagwat, A. M., & Sawant, C. S. (2013). Exploring and Optimizing the Potential of Chitinase Production by Isolated *Bacillus spp.* *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4), 412–418.
- Kemenkes, R. (2019). Laporan Nasional RISKESDA 2018.
- Kim, S.-H., & Choi, N.-S. (2000). Purification and Characterization of Subtilisin DJ-4 Secreted by *Bacillus sp.* Strain DJ-4 Screened from Doen-Jang. In *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 64(8), 1722–1725. <https://doi.org/10.1271/bbb.64.1722>
- Kotb, E. (2013). Activity assessment of microbial fibrinolytic enzymes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(15), 6647–6665. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5052-1>
- Madaniyah. (2013). *Skrining Bakteri Fibrinolitik Asal Tanah pada Pembuangan Limbah Tahu*. [skripsi]. Universitas Jember, Jember, Indonesia.
- Muisristanto, D., Poernomo, A. T., & Sugijanto. (2015). Isolasi Dan Penapisan Fibrinolitik Jamur Tanah Hutan Mangrove Wonorejo Surabaya. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 4(2), 11–17.
- Pananjung, A. M. S., Ulfa, E. U., Senjarini, K., & Arimurti, S. (2016). Karakterisasi Isolat Bakteri Fibrinolitik Wu 021055* Asal Perairan Pantai Papuma, Jember. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia*, 2(1), 1–8. <https://doi.org/10.29122/jbbi.v2i1.528>
- Panicker, S. G., Lendave, A., & Sabale, A. (2022). Soil Bacterial Isolates Showing Promising Fibrinolytic Activity. *Journal of Advanced Scientific Research*, 13(10), 36–40. <https://doi.org/10.55218/jasr.2022131006>
- Peng, Y., Yang, X., & Zhang, Y. (2005). Microbial Fibrinolytic Enzymes : an Overview of Source , Production , Properties , and Thrombolytic Activity In Vivo. *Appl Microbiol Biotechnol*, 69, 126–132. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0159-7>
- Poernomo, A. T., Isnaeni, & Purwanto. (2014). Aktivitas Invitro Enzim Fibrinolitik Ekstrak Tempe Hasil Fermentasi *Rhizopus oligosporus* ATCC 6010 Pada Substrat Kedelai Hitam. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 4(2), 18–24. <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-bikf2b8862565bfull.pdf>
- Rajendran, P, S., Liji, L., Jayachandran, K., & Anie, Y. (2016). Bacteria from South Indian Fermented Foods and Food-Waste Dump Sites as Sources of Fibrinolytic Enzymes. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research*, 2(7), 528–536.
- Raju, E. V. N., & Divakar, G. (2013). Screening and Isolation of Fibrinolytic Protease Producing Mesophilic Bacteria From Slaughter Houses in Bangalore.

- International Journal Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(9), 3625–3629. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(9\).3625-29](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(9).3625-29)
- Setiabudy, R. D. (2012). Hemostasis dan Trombosis. In R. D. Setiabudy (Ed.), *Hemostatis Dan Trombosis*. Edisi Kelima. Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Indonesia, pp. 34–47.
- Setiawan, A., Arimurti, S., Senjarini, K., & Sutoyo. (2016). Aktivitas Proteolitik Dan Fibrinolitik Isolat Bakteri Dari Perairan Pantai Papuma Kabupaten Jember. *Berkala Sainstek*, 4(1), 1–4.
- Singh, T. A., Devi, K. R., Ahmed, G., & Jeyaram, K. (2014). Microbial and Endogenous Origin of Fibrinolytic Activity in Traditional Fermented Foods of Northeast India. *Food Research International*, 55, 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.028>
- Sompalli, B., & Malaviya, A. (2024). A Novel Fibrinolytic Enzyme Producer from Mangrove Soil Sediments: Screening, Isolation, Strain Sediments: Screening, Isolation, Strain Improvement, and Fermentation. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, X(XX), 1-9. <https://doi.org/10.7324/JABB.2024.161429>.
- Srinivasan, V. M., Devi, C. S., Saha, A., Mondal, M., Dhar, S., Suganthi, V., & Selvarajan, E. (2013). Screening for Staphylokinase Producing *Staphylococcus spp.* from Bovine Milk Sample. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 601–604.
- Taneja, K., Bajaj, B. K., Kumar, S., & Dilbaghi, N. (2017). Production, Purification and Characterization of Fibrinolytic Enzyme from *Serratia sp.* KG-2-1 using Optimized Media. In 3 *Biotech* (Vol. 7, Issue 184, pp. 1–15). <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0808-4>
- Ulfa, E. U., Utarti, E., Afkarina, I., Arimurti, S., & Senjarini, K. (2017). Deteksi Aktivitas Fibrinolitik Isolat Bakteri WU 021055* Asal Perairan Pantai Papuma Jember Menggunakan Zimografi. *Global Medical and Health Communication*, 5(2), 97–102. <https://doi.org/10.29313/gmhcv5i2.1914>
- Weng, Y., Yao, J., Sparks, S., & Wang, K. Y. (2017). Nattokinase: An Oral Antithrombotic Agent for the Prevention of Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms18030523>