

Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Tempe Food in Producing Fibrinolytic Enzymes

Nifsa Riski Amanda^{1*}, Aerma Hastuty², Dwi Hilda Putri¹, Sulistiani²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia;

²Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN KST. Soekarno, Cibinong, Kabupaten Bogor, Jawa Barat, Indonesia;

Article History

Received : June 19th, 2025

Revised : June 26th, 2025

Accepted : July 02th, 2025

*Corresponding Author: **Nifsa riski amanda**, Departemen Biologi, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat, Indonesia.
Email:

nifsaariskiamanda@gmail.com

Abstract: Cardiovascular disease is the leading cause of death worldwide, mainly due to blockage of blood vessels caused by thrombus. Several fibrinolytic enzymes such as streptokinase, urokinase, and tissue plasminogen activator have disadvantages such as low specificity to fibrin, cause allergies, and have side effects. This study aims to determine the potential of lactic acid bacteria from tempeh in producing fibrinolytic enzymes and the characteristics of the enzymes produced. This study used the fibrin plate method to screen fibrinolytic enzymes, enzyme activity measurements were carried out method, while protein concentration was described using the Bradford method. The results showed that thirteen LAB isolates showed fibrinolytic activity, with isolate PG01-2B selected for production. The highest enzyme production optimization occurred on the second day, reaching 83.41 U/mL. Characterization showed activity with acetic acid buffer pH 6 (102.18 U/mL) and at an incubation time of 75 minutes (99 U/mL). This shows that BAL from tempeh has strong potential as an alternative source of fibrinolytic enzymes for thrombus-related cardiovascular diseases.

Keywords: Bacteria, enzyme, fibrinolytic, fermentation, tempeh.

Pendahuluan

Penyakit kardiovaskular telah menjadi penyebab utama kematian di dunia. Berdasarkan data dari organisasi kesehatan dunia (WHO), sebanyak 45 % dari 9,4 juta kematian di dunia setiap tahun disebabkan oleh penyakit kardiovaskular. Angka ini diperkirakan akan mengalami peningkatan hingga mencapai 23,3 juta pada tahun 2030 (Rahmad, 2022). Salah satu kontributor utama penyakit kardiovaskular adalah *infark miokard* atau serangan jantung, yang disebabkan oleh penyumbatan pembuluh darah akibat trombus yang terbentuk dari plak aterosklerotik yang pecah di arteri koroner (Santosa & Baharuddin, 2020). Trombus ini dapat menghambat aliran darah dan menyebabkan kerusakan pada jaringan jantung. Dalam penanganannya, enzim fibrinolitik dapat menghancurkan trombus sehingga aliran darah dapat kembali normal dan mencegah kerusakan

lebih lanjut pada jaringan jantung.

Enzim fibrinolitik merupakan enzim yang berperan dalam menghancurkan bekuan darah atau trombus yang dapat menjaga aliran di pembuluh darah berada dalam kondisi homeostatis. Pada kondisi normal, hemostasis berada dalam keseimbangan antara proses koagulasi dan fibrinolisis. Proses fibrinolisis secara alami terjadi setelah pembekuan darah. (Kumar, S.S., & Sabu, 2019). Enzim fibrinolitik bekerja dengan mengubah plasminogen menjadi plasmin yang kemudian memecah fibrin sebagai komponen utama dari bekuan darah (Katz & Tadi, 2022).

Beberapa enzim fibrinolitik seperti streptokinase, urokinase, dan aktivator plasminogen jaringan merupakan jenis enzim fibrinolitik yang umumnya digunakan dalam penanganan trombosis. Namun, penggunaan enzim tersebut memiliki kekurangan seperti spesifitasnya yang rendah terhadap fibrin,

menyebabkan alergi, dan memiliki efek samping (Mican *et al.*, 2019). Sebagai alternatif penelitian mengenai enzim fibrinolitik terus dikembangkan baik dari hewan, tumbuhan, maupun mikroorganisme. Salah satu enzim fibrinolitik pertama kali yang dihasilkan oleh mikroba yaitu nattokinase, makanan fermentasi kedelai dari Jepang yang difermentasi oleh bakteri *Bacillus* (Sada *et al.*, 2021). Penemuan ini mendorong eksplorasi lebih lanjut terhadap enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh mikroba dari makanan fermentasi.

Enzim fibrinolitik dari mikroba yang diisolasi dari makanan fermentasi dapat menjadi agen fibrinolitik alternatif yang sangat menguntungkan. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba memiliki keuntungan yang lebih besar dibandingkan dengan sumber lain, diantaranya yaitu memiliki spesifisitas substrat yang tinggi, toksisitas yang minimum, dan dapat diproduksi skala besar dengan biaya yang lebih murah (Hazare *et al.*, 2024). Salah satu sumber mikroba tersebut yaitu bakteri asam laktat (BAL) yang ditemukan dalam tempe. Bakteri asam laktat (BAL) merupakan salah satu mikroba yang dapat dijadikan sumber enzim fibrinolitik.

BAL pada tempe berperan meningkatkan keamanan pangan sehingga dapat menghambat pertumbuhan patogen serta berkontribusi pada rasa dan tekstur tempe (Aýun *et al.*, 2023). BAL merupakan bakteri dominan yang ditemukan pada fermentasi tempe dengan jumlah 10^7 - 10^8 CFU/g (Efriwati *et al.*, 2013). Bakteri asam laktat dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif dan enzim ekstraseluler yang berperan dalam degradasi substrat selama fermentasi. Dengan demikian bakteri asam laktat dari makanan fermentasi dapat menjadi solusi untuk pengembangan enzim fibrinolitik alternatif.

Penelitian tentang enzim fibrinolitik dari berbagai sumber mikroba dari makanan fermentasi masih terdapat keterbatasan penelitian terkait potensi bakteri asam laktat yang khusus berasal dari tempe. Sebagian besar studi sebelumnya lebih berfokus pada isolat bakteri dari sumber lain, seperti tanah atau limbah cair industri (Permatasari *et al.*, 2024). Penelitian mengenai bakteri asam laktat dari tempe sebagai agen fibrinolitik masih sangat terbatas. Oleh karena itu, eksplorasi lebih lanjut terhadap karakteristik dan aktivitas fibrinolitik bakteri asam laktat sangat diperlukan.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari 2024 sampai Januari 2025 di Laboratorium Botani Mikrobiologi, Kelompok Riset Enzim Untuk Kesehatan dan Kosmetik, Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Organisasi Riset Hayati Dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong, Jawa Barat.

Jenis penelitian

Jenis penelitian ini yaitu penelitian deskriptif. Aktivitas enzim fibrinolitik diukur secara kuantitatif dengan menggunakan metode spektrofotometri Varol *et al.*, (2023) dengan beberapa modifikasi.

Alat dan bahan

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri asam laktat hasil isolasi dari tempe dari berbagai pasar tradisional di Pamekasan, Jawa Timur yang merupakan koleksi dari kelompok riset enzim untuk kesehatan dan kosmetik, Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN-KST. Soekarno. Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis, *shaker incubator*, autoklaf, *cork borer*, *water bath*, LAF (*laminar air flow*), dan cawan petri.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu isolat bakteri asam laktat, hasil isolasi dari tempe yang diperoleh dari koleksi kelompok riset enzim untuk kesehatan dan kosmetik di Laboratorium Botani Mikrobiologi, BRIN-KST. Soekarno Cibinong, fibrinogen 0,5%, trombin (20 unit), PBS (*Phosphate Buffer Saline*), larutan CaCl_2 , agarosa 2%, tween 0,2 M, urokinase, akuades, *De Man Rogosa Sharpe* (MRS), glukosa (reag, ph eur), *yeast* (bacto), natrium acetat (himedia), *salt solution*, natrium klorida (emsure), dan Milli Q *water*, buffer citrate (pH 3, pH 4, dan pH 5), buffer asam acetat (pH 4, pH 5, pH 6), buffer phosphate (pH 6, pH 7, dan pH 8), buffer Tris-HCl (pH 7, pH 8, pH 9), dan buffer Glycine-NaOH (pH 8, pH 9, dan pH 10), TCA (*Trichloroacetic Acid*), *bovine serum albumin* (BSA), alkohol 70%, HCl 0,1 M, tirosin, dan larutan Bradford.

Skrining isolat bakteri asam laktat dengan media *fibrin plate*

Skrining bakteri asam laktat dalam

menghasilkan enzim fibrinolitik dilakukan dengan menggunakan metode *fibrin plate*. Isolat yang diskriming merupakan koleksi bakteri asam laktat hasil isolasi dari tempe dengan total sebanyak 33 isolat bakteri asam laktat. Media dibuat dengan melarutkan 0,2 g agarosa dalam 100 mL akuades, disterilkan pada 121°C, tekanan 15 psi selama 15 menit. Sebanyak 40 mL buffer PBS yang mengandung 0,4 µL Tween 80, dan CaCl₂ 0,8 µL dipindahkan ke dalam falcon masing-masing.

Falcon pertama ditambahkan larutan fibrinogen 0,5%, sedangkan tabung kedua ditambahkan dengan 20 unit trombin. Setelah itu, Campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Media agarosa yang telah sterilisasi kemudian dipindahkan ke dalam cawan petri, lalu dicampurkan dengan larutan fibrinogen dan trombin hingga homogen dan memadat. Sumuran dibuat menggunakan *cork borer* dan diinokulasikan suspensi isolat bakteri asam laktat sebanyak 50 µL. Urokinase digunakan sebagai kontrol positif. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil skrining yang menunjukkan aktivitas enzim fibrinolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar sumuran (Hanum, *et al.*, 2022).

Peremajaan kultur bakteri asam laktat(BAL)

Hasil skrining BAL yang menunjukkan zona bening yang jelas kemudian diremajakan menggunakan media pertumbuhan MRSA (*De Man Rogosa Sharpe Agar*). Media dibuat dengan ditimbang 11,3 g MRS dan agar powder 3,6 g, lalu dilarutkan dengan akuades 200 mL dan disterilisasi. Media MRSA kemudian, dipindahkan ke dalam cawan petri secara aseptik, kemudian tunggu hingga memadat. Biakan murni bakteri asam laktat sebanyak 50 µL ditetaskan di atas permukaan media MRSA kemudian digoreskan menggunakan ose secara aseptik di dalam LAF dan isolat diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 hari.

Optimasi produksi enzim fibrinolitik

Media pertumbuhan untuk optimasi yang digunakan adalah media ½ x GYP (*Glukosa Yeast Peptone*). Media ½ x GYP dibuat dengan ditimbang glukosa 1,1 g, *yeast extract* 0,55 g, *peptone* 0,55 g, natrium asetat 0,55 g, kemudian ditambahkan 110 mL akuades dan *salt solution* 0,275 mL. Setelah itu, media tersebut

dipindahkan ke dalam dua Erlenmeyer 100 mL dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL untuk media inokulum. Media tersebut disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit.

Bakteri asam laktat hasil peremajaan diinokulasikan sebanyak 3 ose ke dalam media inokulum ½ x GYP 5 mL lalu dihomogenkan menggunakan vortex. Inokulum diinkubasi dalam *shaker incubator* dengan suhu 37°C selama 48 jam. Pertumbuhan bakteri diamati dan dilihat adanya warna keruh yang menandakan bakteri telah tumbuh kemudian dilakukan pengukuran OD (*optical density*) menggunakan panjang gelombang 600 nm (Hasan *et al.*, 2016). Inokulum dengan OD mencapai 1,00 kemudian dimasukkan secara aseptik ke dalam media optimasi ½ x GYP 100 mL dengan konsentrasi 2% di dalam LAF.

Setelah itu, inokulum diinkubasi dalam *shaker incubator* pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Pengamatan optimasi dilakukan selama 5 hari. Setiap hari sampel diambil sebanyak 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung falcon, lalu 1 mL dari sampel tersebut dipindahkan ke tabung *sentrifuge*. Sampel dalam tabung *sentrifuge* disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C. Supernatan yang dihasilkan kemudian dianalisis untuk diukur aktivitas enzim dan kadar proteinnya.

Uji aktivitas enzim

Pengujian aktivitas enzim menggunakan metode Varol *et al.*, (2023) yang dimodifikasi. Setiap uji aktivitas aktivitas enzim dilakukan, diawali dengan direaksikan substrat fibrinogen solid 0,5% sebanyak 0,2 mL dengan 0,7 mL buffer Tris-HCl 50 mM pH 7,4. Sementara itu, untuk perlakuan kontrol, tabung reaksi lain dimasukkan 0,75 mL buffer Tris-HCl 50 mM pH 7,4 dan 0,2 mL substrat fibrinogen solid 0,5%. Semua perlakuan kemudian *divortex* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Setelah itu, ditambahkan 0,05 mL trombin 20 unit/mL, *divortex* kembali, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah itu, dilakukan penambahan enzim sebanyak 0,05 mL, kecuali untuk perlakuan kontrol yang tidak ditambahkan enzim dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan TCA 0,2 M sebanyak 0,5 mL dan

diinkubasi selama 5 menit pada suhu ruang, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4°C selama 10 menit. Selanjutnya, aktivitas enzim diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 275 nm. Nilai aktivitas enzim didapatkan dengan menggunakan persamaan dari kurva standar tirosin. Kurva standar tirosin dibuat dengan pengenceran stok L-tirosin 1 mg/mL dari konsentrasi 0,01 mg/mL hingga konsentrasi 0,1 mg/mL. Masing-masing L-tirosin yang sudah diencerkan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 275 nm. Aktivitas enzim diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Aktivitas Enzim (U/mL)

$$\frac{\text{Konsentrasi Tirosin(mg/mL)} \times \text{Vol.Total sampel(mL)}}{\text{Vol.Enzim(mL)} \times \text{Waktu(menit)} \times \text{Vol.Determinasi(mL)}}$$

Uji kadar protein

Pengukuran kadar protein ini menggunakan standar BSA sebagai larutan kurva standar protein. Persamaan yang diperoleh digunakan untuk menentukan kadar protein dari absorbansi pada pengukuran menggunakan spektrofotometer. Larutan stok BSA mg/mL diencerkan berseri dengan variasi konsentrasi 2 mg/mL hingga 20 mg/L. Uji kadar protein dilakukan dengan menggunakan metode (Bradford, 1976).

Setiap uji kadar protein dilakukan yaitu sebanyak 25 µL enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan reagent Bradford 1,25 mL dan dihomogenkan menggunakan vortex. Selanjutnya, dilakukan inkubasi pada suhu 30°C selama 30 menit. Lalu divortex kembali dan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis panjang gelombang 595 nm.

Produksi enzim

Produksi dilakukan dengan cara stok bakteri asam laktat hasil skrining terbaik diambil sebanyak 50 µL diinokulasikan ke dalam media 30 mL, kemudian diinkubasi selama 48 jam di

dalam *shaker incubator* pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Inokulum tersebut kemudian dimasukkan ke dalam media produksi sebanyak 1 liter. Setelah itu, media diinkubasi kembali selama 48 jam di dalam *shaker incubator* pada suhu 37°C dengan kecepatan 120 rpm. Enzim dipanen dengan dipisahkan pellet (bakteri) dengan supernatan (*crude* enzim) melalui sentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm dan suhu 4°C selama 15 menit.

Karakterisasi enzim

pH

Karakterisasi enzim pH digunakan berbagai jenis buffer yaitu buffer citrate pH 3, pH 4, dan pH 5. Buffer asam acetat pH 4, pH 5, pH 6. Buffer phosphate pH 6, pH 7, dan pH 8. Buffer Tris-HCl pH 7, pH 8, pH 9, dan buffer glycine-NaOH, pH 8, pH 9, dan pH 10. Prosedur uji aktivitas enzim fibrinolitik sama dengan prosedur sebelumnya. Namun, pada setiap pengujian buffer yang akan digunakan yaitu disesuaikan dengan jenis buffer yang akan diuji.

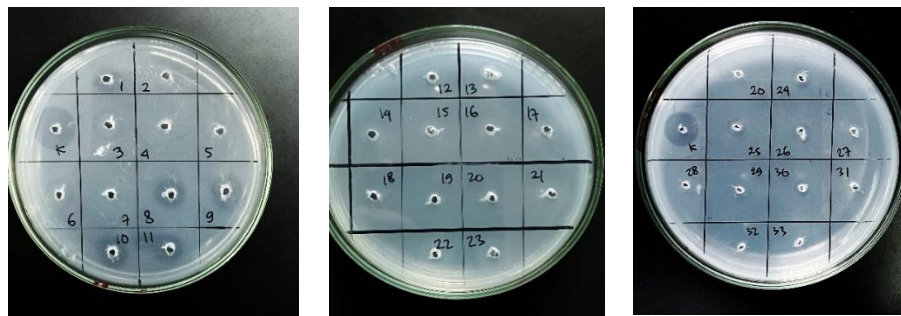
Waktu inkubasi

Karakterisasi enzim dengan waktu inkubasi yang digunakan yaitu variasi waktu inkubasi 15-90 menit dengan selang waktu 15 menit. Pada setiap pengujian waktu inkubasi yang akan digunakan disesuaikan dengan variasi waktu inkubasi yang akan diuji aktivitas enzim fibrinolitiknya. Untuk prosedur uji aktivitas enzim yang digunakan sama dengan pengukuran sebelumnya. Namun, buffer yang digunakan adalah jenis buffer dengan aktivitas enzim fibrinolitik yang tertinggi.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Skrining bakteri asam laktat

Skrining bertujuan untuk menguji potensi bakteri asam laktat dalam menghasilkan enzim fibrinolitik. Aktivitas enzim fibrinolitik pada skrining bakteri asam laktat ditandai dengan terbentuknya zona bening dekat sumuran koloni bakteri asam laktat yang dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil skrining bakteri asam laktat

Zona bening tersebut menunjukkan terjadinya degradasi pada fibrin yang terbentuk dari reaksi fibrinogen dengan trombin (Setyawati *et al.*, 2022). Dari 33 isolat bakteri asam laktat yang diskriming didapatkan 13 isolat bakteri asam laktat yang menunjukkan adanya aktivitas enzim fibrinolitik. Isolat yang memiliki zona bening kemudian diukur diameternya dengan menggunakan penggaris (cm).

Skrining BAL yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim fibrinolitik menggunakan metode *fibrin plate*. Metode *fibrin plate* merupakan teknik yang digunakan untuk mendeteksi enzim fibrinolitik dengan menggunakan media padat agarosa yang mengandung fibrin, sebagai protein utama dalam pembentukan bekuan darah. Metode ini dapat mengidentifikasi aktivitas fibrinolitik dengan cepat, sederhana, dan dapat memberikan hasil visual yang jelas. Matriks fibrin dalam agarosa dari campuran fibrinogen dan trombin memungkinkan enzim fibrinolitik dari isolat bakteri asam laktat memecah fibrin menjadi plasmin dan menghasilkan zona bening. Diameter zona bening yang terbentuk dapat dijadikan sebagai indikator aktivitas enzim (Vijayaraghavan *et al.*, 2017).

Urokinase digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif. Enzim ini telah dikenal mampu mengaktivasi plasminogen secara efektif sehingga menghasilkan zona bening yang jelas (Fasoli *et al.*, 2015). Penggunaan kontrol ini menjadi acuan dalam mengevaluasi hasil aktivitas enzim. Pengukuran terhadap hasil skrining diukur dengan menggunakan penggaris (cm). Pengukuran yang dilakukan yaitu pada diameter sumur dan diameter zona bening yang

terbentuk. Hasil pengukuran tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil pengukuran, dipilih satu isolat terbaik yang menunjukkan kemampuan dalam menghasilkan enzim fibrinolitik dan selanjutnya diproduksi dan dikarakterisasi. Beberapa isolat yang menghasilkan zona bening yaitu petakan nomor 1, 8, 9, 10, 11, 12. Isolat yang digunakan untuk proses selanjutnya adalah bakteri asam laktat PG01-2B. Selanjutnya, dilakukan optimasi waktu produksi, optimasi ini dilakukan untuk menentukan hari dengan produksi tertinggi berdasarkan aktivitas enzim dan kadar proteinnya.

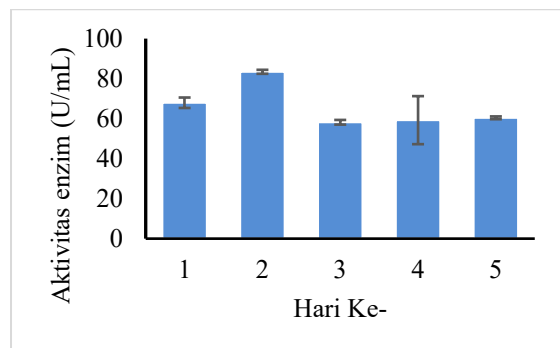
Tabel 1. Hasil pengukuran skrining bakteri asam laktat(BAL)

Petakan	Kode BAL	D.Sumur (cm)	D. zona (cm)
Kontrol	Urokinase	0,3	1,5
1	PG01-2B	0,3	0,8
2	P17A1-1	0,3	1
3	P17A1-3	0,3	1,1
6	P17A1-10	0,3	1
8	P17A3-1K	0,3	0,8
9	P17A3-2K	0,3	0,9
10	P17A3-2B	0,3	0,8
11	P17A3-3K	0,3	0,9
12	P17A3-3B	0,3	1,5
Kontrol	Urokinase	0,1	0,7
24	PGU3-4	0,1	0,6
25	PGU3-6	0,1	0,5
26	PGU3-10	0,1	0,5
30	PP02-4	0,1	0,4

Optimasi produksi enzim fibrinolitik

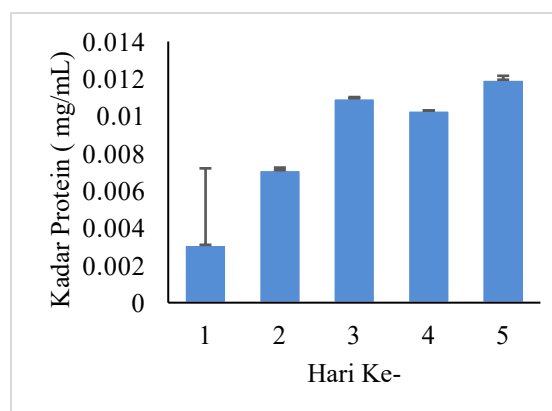
Optimasi ini dilakukan untuk menentukan hari pertumbuhan bakteri asam laktat dengan produksi enzim fibrinolitik yang

tinggi. Optimasi ini berdasarkan nilai aktivitas enzim dan kadar proteinnya. Grafik optimasi enzim fibrinolitik dapat dilihat pada Gambar 2. Yang menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi berlangsung pada hari kedua sebesar 83,4065 U/mL.



Gambar 2. Optimasi aktivitas enzim

Hal ini menunjukkan bahwa bakteri asam laktat memasuki fase eksponensial. Fase eksponensial adalah tahapan pembelahan sel bakteri berlangsung secara cepat dan konstan sehingga jumlah sel meningkat secara eksponensial dalam satu waktu (Ramadhan & Wikandari, 2021). Pada tahapan ini sel bakteri asam laktat berada dalam kondisi fisiologis dengan aktifitas metabolik yang tinggi sehingga dapat menghasilkan biomolekul seperti enzim. Penentuan waktu produksi sangat penting dalam pertumbuhan bakteri asam laktat karena dapat mempengaruhi kuantitas dan kualitas enzim yang dihasilkan.



Gambar 3. Optimasi kadar protein

Namun, terlihat perbedaan pada Gambar 3. yang menunjukkan nilai kadar protein tertinggi terjadi di hari ke-5. Hal ini disebabkan karena pengukuran aktivitas enzim mencakup

aktivitas enzim fibrinolitik sedangkan untuk pengukuran kadar protein itu mencakup semua jenis protein yang bersifat katalitik maupun yang tidak. Enzim merupakan molekul protein, namun tidak semua protein berfungsi sebagai enzim (Darmawati *et al.*, 2023).

Penentuan kadar protein bertujuan untuk mengetahui total protein yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat dan memberikan gambaran mengenai aktivitas metabolik bakteri asam laktat dalam mensintesis enzim. Metode Bradford mengukur konsentrasi protein dalam sampel dengan memanfaatkan pewarnaan Coomassie Brilliant Blue G-250, yang berubah warna menjadi biru ketika berikatan dengan protein (Bradford, 1976). Untuk kuantifikasi, dibuat kurva standar menggunakan berbagai konsentrasi BSA. Persamaannya digunakan untuk menentukan total kadar protein.

Produksi enzim

Produksi enzim dilakukan untuk menghasilkan ekstrak kasar enzim (*crude enzim*). Enzim diekstraksi dengan sentrifugasi, kemudian digunakan untuk karakterisasi lebih lanjut, termasuk pengukuran pH dan waktu inkubasi yang optimal. Penelitian sebelumnya oleh (Khikmah *et al.*, 2024) menunjukkan bahwa karakterisasi kondisi lingkungan, seperti pH dan waktu inkubasi, sangat penting dalam memaksimalkan aktivitas enzim fibrinolitik yang dihasilkan oleh bakteri. Setelah produksi enzim, selanjutnya aktivitas enzim di karakterisasi dengan variasi pH dan waktu inkubasi.

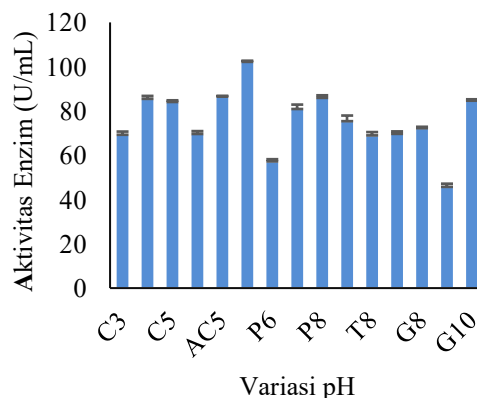
Karakterisasi enzim

Variasi pH

pH salah satu faktor lingkungan yang sangat memengaruhi aktivitas enzim. Enzim bekerja pada kisaran pH tertentu yang disebut sebagai pH optimum. Pada kondisi pH optimum ini, struktur enzim berada dalam keadaan paling stabil dan situs aktif enzim memiliki bentuk serta muatan yang sesuai untuk berikatan dengan substrat (Susanti & Fibriana, F., 2018). Oleh karena itu, perubahan kecil pada nilai pH lingkungan dapat menyebabkan perubahan besar pada efisiensi kerja enzim. Perbedaan nilai aktivitas enzim fibrinolitik dengan berbagai pH dapat dilihat pada Gambar 4.

Daya yang didapatkan aktivitas enzim fibrinolitik yang diproduksi oleh bakteri asam laktat PG01-2B optimum pada penggunaan buffer asam acetat pH 6 dengan nilai aktivitas 102,1755 U/mL. Aktivitas enzim fibrinolitik terhadap berbagai pH cenderung naik signifikan pada rentang pH netral hingga pH basa atau alkali. Hasil tersebut didukung oleh penelitian Wang *et al.*, (2011) yaitu enzim fibrinolitik umumnya kinerja enzimatis maksimal pada kondisi pH netral sampai sedikit basa dengan rentang pH 7 hingga pH 11.

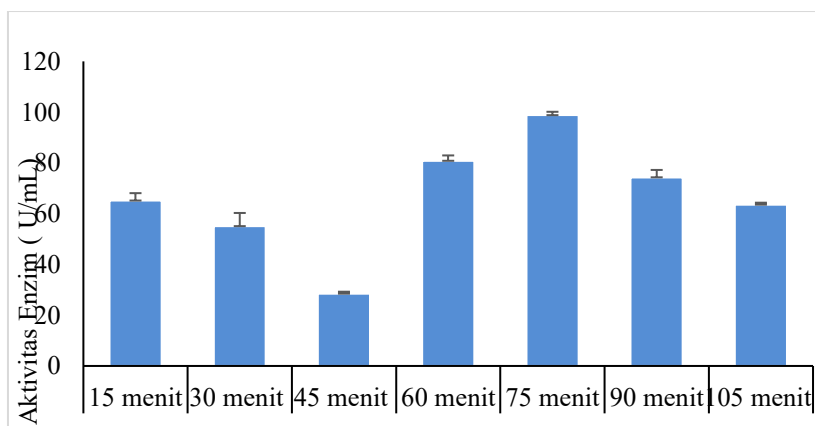
Kinerja enzim berlangsung pada rentang pH tertentu yang stabil. Perubahan pH yang terlalu rendah atau terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi enzim dan dapat mempengaruhi struktur ion dari enzim, substrat, atau struktur keduanya. Stabilitas pH yang spesifik. Variasi pH rendah atau tinggi dapat menyebabkan enzim mengalami denaturasi dan memberikan efek pada struktur ion dari enzim, substrat atau keduanya. Dampak ini dapat mempengaruhi situs aktif dari enzim dan dapat mengganggu aktivitas enzim (Murray *et al.*, 2006).



Gambar 4. Variasi pH

Waktu inkubasi

Durasi inkubasi juga menjadi salah satu aspek penting yang berpengaruh pada aktivitas enzim fibrinolitik. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan waktu inkubasi yang optimum untuk aktivitas enzim fibrinolitik yang dihasilkan bakteri asam laktat PG01-2B yaitu pada inkubasi 75 menit dengan nilai aktivitas 99 U/mL. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengaruh waktu inkubasi terhadap aktivitas enzim

Aktivitas enzim fibrinolitik biasanya akan meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi, hingga mencapai waktu optimal enzim bekerja paling efisien. Pada waktu tersebut jumlah substrat yang terkonversi menjadi produk akan lebih banyak. Namun, setelah enzim mencapai waktu inkubasi optimum, enzim dapat mengalami perubahan struktur tiga dimensinya dan dapat mengurangi kemampuannya untuk mengikat substrat, kondisi ini disebut juga

dengan denaturasi enzim. (Sajuthi *et al.*, 2011).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ditemukan 13 isolat bakteri asam laktat yang memiliki aktivitas enzim fibrinolitik. Bakteri asam laktat dengan kode PG01-2B sebagai kandidat utama untuk produksi dan karakterisasi lebih lanjut. Waktu produksi optimal untuk aktivitas enzim

fibrinolitik yaitu pada hari kedua, dengan aktivitas enzim sebesar 83,41 U/mL. Uji karakterisasi menunjukkan bahwa aktivitas enzim tertinggi diperoleh pada buffer asam asetat pH 6 yaitu sebesar 102,18 U/mL. Sementara itu, waktu inkubasi optimal tercapai pada menit ke-75 dengan nilai aktivitas enzim sebesar 99 U/mL.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan penghargaan kepada Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, BRIN KST. Soekarno atas penyediaan fasilitas laboratorium dan bahan penelitian yang telah mendukung penelitian ini. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada seluruh tim pembimbing dan rekan-rekan laboratorium atas diskusi, bimbingan, serta masukan berharga selama proses penelitian ini.

Referensi

- Aýun, Q., Muthiáh, S. N., & Sukmalara, D. (2023). Potensi bakteri asam laktat (BAL) dari jus tempe sebagai kandidat probiotik. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 8(2), 171. <https://doi.org/10.36722/sst.v8i2.1673>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254. [https://doi.org/10.1016/00032697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/00032697(76)90527-3)
- Darmawati, Fauziah, P. N., Firmansyah, Yuniastuti, A., Achmad, A. F., Mulyati, M., Laheng, S., Wiradanyani, N. K., Kurniawan, H. M., Sidik, E. A., Ismayanti, R., R. A. G. N. (2023). *Biokimia* (M. W. Yulianti Reina (ed.)). Tohar Media.
- Efriwati, Suwanto, A., Rahayu, G., & Nuraida, L. (2013). Population dynamics of yeasts and lactic acid bacteria (LAB) during tempeh production. *Hayati Journal of Biosciences*, 20(2), 57–64. <https://doi.org/10.4308/hjb.20.2.57>
- Fasoli, E., Righetti, P. G., Moltrasio, D., & D'Amato, A. (2015). Extensive heterogeneity of human urokinase, as detected by two-dimensional mapping. *Analytical Chemistry*, 87(3), 1509–1513. <https://doi.org/10.1021/ac5037796>
- Halima Hanum, S., Toto Poernomo, A., S., & Rosyidah, S. (2022). Effect of pH, temperature, and metal activator on the activity of fibrinolytic enzymes produced by *Pseudomonas aeruginosa* Ts 6.4. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 9(1), 9–12. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v9i1.40890>
- Hasan, A. E. Z., Artika, I. M., & Abidin, S. (2016). Produksi asam laktat dan pola pertumbuhan bakteri asam laktat dengan pemberian dosis rendah propolis *Trigona* spp asal Pandeglang Indonesia. *Current Biochemistry*, 1(3), 126–135. <https://doi.org/10.29244/cb.1.3.126-135>
- Hazare, C., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2024). Diverse origins of fibrinolytic enzymes: a comprehensive review. *Heliyon*, 10(5), e26668. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26668>
- Katz, J. M., & Tadi, P. (2022). *Physiology, Plasminogen Activation*. Statpearls Publishing
- Khikmah, N., Astrika, N. R., & Widaryanti, B. (2024). Seleksi bakteri dengan aktivitas fibrinolitik yang diisolasi dari tanah rumah potong ayam. *Sciscitatio*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.21460/sciscitatio.2024.51.159>
- Kumar, S. S., & Sabu, A. (2019). Fibrinolytic enzymes for thrombolytic therapy. In *Therapeutic enzymes: function and clinical implications* (pp. 345–381). https://doi.org/10.1007/978-981-13-7709-9_15
- Mican, J., Toul, M., Bednar, D., & Damborsky, J. (2019). Structural biology and protein engineering of thrombolytics. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 17, 917–938. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2019.06.023>
- Permatasari, E. A., Indrayati, A., & Kurniasari, F. (2024). Isolasi dan uji aktivitas fibrinolitik ekstrak enzim fibrinolitik bakteri yang berasal dari limbah cair rumah pemotongan ayam (rpa) di Karanganyar. *Prepotif: Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(1), 539–554. <https://doi.org/10.31004/prepotif.v8i1.24140>
- Ramadhan, B., & Wikandari, P. R. (2021). Review Artikel: Aktivitas Enzim Amilase Dari

- Bakteri Asam Laktat (Karakteristik Dan Aplikasi). *Unesa Journal of Chemistry*, 10(2), 109-120. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p109-120>
- Rahmad, N., Ellina, A. D., Nurdina, N., & Wardani, R. (2022). Pengaruh latihan aktifitas rehabilitasi jantung fase II terhadap tingkat kebugaran dan daya tahan pasien penyakit jantung koroner. *Jurnal Penelitian Kesehatan*. 13(4), 1057-1062. <https://doi.org/10.35790/msj.v7i2.6081>
- Sada, A., Sugianto, N. E., & Poernomo, A. T. (2021). Produksi Enzim Fibrinolitik Tempe oleh *Rhizopus oryzae* FNCC 6078. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v8i1.31202>
- Sajuthi, D., Suparto, I., . Y., & Praira, W. (2011). Purifikasi dan pencirian enzim protease fibrinolitik dari ekstrak jamur merang. *Makara of Science Series*, 14(2). <https://doi.org/10.7454/mss.v14i2.727>
- Santosa, W. N., & Baharuddin, B. (2020). Penyakit jantung koroner dan antioksidan. *Keluwih: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(2), 98-103. <https://doi.org/10.24123/kesdok.v1i2.2566>
- Setyawati, E., Poernomo, T., & Sudjarwo, S. (2022). Screening and identification of fibrinolytic bacteria from tauco. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 9(2), 45–50. <https://doi.org/10.20473/bikfar.v9i2.42707>
- Susanti, R., Fibriana, F. (2018). *Teknologi enzim*. Andi Publisher.
- Varol, A., Albayrak, S., Ozkan, H., Demir, Y., Taskin, M., & Adiguzel, A. (2023). Production, purification and characterization of novel fibrinolytic enzyme from *Bacillus atrophaeus* V4. *Biologia*, 78(2), 591-600. <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01281-7>
- Vijayaraghavan, P., Rajendran, P., Vincent, S. G. P., Arun, A., Al-Dhabi, N. A., Arasu, M. V., Kwon, O. Y., & Kim, Y. O. (2017). Novel sequential screening and enhanced production of fibrinolytic enzyme by *Bacillus sp.* IND12 using response surface methodology in solid-state fermentation. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3909657>
- Wang, S.-H., Deng, Z.-H., Li, Q., Ge, X., Bo, Q., Liu, J.-K., Cui, J., Jiang, X., Liu, J., Zhang, L., & Hong, M. (2011). A novel alkaline serine protease with fibrinolytic activity from the polychaete, *Neanthes japonica*. *Comparative Biochemistry and Physiology B*, 159(1), 18-25. <https://doi.org/10.1016/J.CBPB.2011.01.004>