

Optimasi Produksi Fibrinolitik oleh *Bacillus megaterium* BM 9.1 menggunakan media Limbah Pertanian sebagai sumber karbon

Kiki Lestari,¹ Achmad Toto Poernomo* Prawita A¹

¹ Departemen Kimia Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo.

* Email : achmad-t-p@ff.unair.ac.id.

Article History

Received: 11 March 2020; Received in Revision: 30 March 2020; Accepted: 5 April 2020

ABSTRAK

Kajian pengaruh sumber karbon limbah pertanian terhadap produksi enzim fibrinolitik oleh *Bacillus megaterium* BM 9.1 dilakukan dengan menggunakan metode plat fibrin. *Bacillus megaterium* BM 9.1 ditumbuhkan pada media residu agro dengan fermentasi solid state. Aktivitas enzim fibrinolitik dinyatakan dengan indeks fibrinolitik. Indeks Fibrinolitik adalah perbandingan antara zona bening dan diameter dinding. Dari berbagai sumber karbon yang diuji, *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditanam pada kulit pisang, kulit nanas, kulit jagung, dedak padi dan tongkol jagung dapat menghasilkan enzim fibrinolitik. Aktivitas fibrinolitik yang optimal terdapat pada a. Perbandingan indeks fibrinolitik antara *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media kombinasi nutrisi agar, kulit pisang dan nutrisi agar adalah 117,%. Optimasi konsentrasi kulit pisang dilakukan pada konsentrasi 0,5 %, 1 %, 2% dan 4% dan didapatkan indeks fibrinolitik masing-masing sebesar $4,26 \pm 0,11$; $4,32 \pm 0,03$; $4,61 \pm 0,03$; dan $4,35 \pm 0,05$. Aktivitas fibrinolitik optimum terdapat pada kulit pisang pada konsentrasi 2%.

Kata kunci : medium, residu agro, enzim fibrinolitik, *Bacillus megaterium* BM

ABSTRACT

The study of effect agro residues carbon sources on fibrinolytic enzyme production by *Bacillus megaterium* BM 9.1 was done by using fibrin plate method. *Bacillus megaterium* BM 9.1 grown on agro residues medium with solid state fermentation. The fibrinolytic enzymes activity is declared by fibrinolytic index. Fibrinolytic index is the comparison between clear zones and wall diameters. From various carbon sources tested, *Bacillus megaterium* BM 9.1 which is grown in banana peel, pineapple skin, corn husk, rice bran and corn cob could produce fibrinolytic enzymes. Optimum fibrinolytic activities found in a nutrient agar and banana peel medium at fibrinolytic index $4,95 \pm 0,08$ ($p < 0,05$). The comparison fibrinolytic index between *Bacillus megaterium* BM 9.1 which grown in combination nutrient agar, banana peel and nutrient agar standart is 117,%. Banana peel concentration optimization was done at concentration of 0,5 %, 1 %, 2 % and 4 % and the fibrinolytic index was found respectively according to $4,26 \pm 0,11$; $4,32 \pm 0,03$; $4,61 \pm 0,03$; and $4,35 \pm 0,05$. The optimum fibrinolytic activity was found in banana peel on concentration 2 %.

Keyword : medium, agro residues, fibrinolytic enzymes, *Bacillus megaterium* BM 9.1

Pendahuluan

Trombosis adalah salah satu penyakit kardiovaskular yang banyak terjadi dalam kehidupan modern saat ini. Penyakit kardiovaskular seperti infark miokard, penyakit

jantung iskemik dan tekanan darah tinggi adalah penyebab kematian utama di dunia. Penyakit trombosis dapat disebabkan oleh akumulasi fibrin pada pembuluh darah. Berbagai enzim fibrinolitik seperti *tissue plasminogen activator* (t-PA),

Cite this as: Kiki Lestari., Poernomo A.T Prawita A. (2020). Inhibitory Activity of Fermented Milk Multi Strain Lactic Acid Bacteria Against *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 7(1), 17-22.

This is an open access article under the CC BY-SA license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Urokinase dan Streptokinase telah banyak digunakan sebagai agen trombolitik untuk melisis trombus. Namun agen tersebut dapat menyebabkan pendarahan dan kekambuhan pada tempat yang masih meninggalkan trombus. Selain itu, agen tersebut memiliki waktu paruh pendek dan harga relatif mahal (Kotb, 2015).

Enzim fibrinolitik dapat diperoleh dari hewan (Lumbrokinase dan Fibrinase), tumbuhan (Bromelain dan Papain) dan mikroorganisme (Nattokinase). Tumbuhan dan hewan memiliki beberapa kelemahan untuk digunakan sebagai sumber enzim fibrinolitik, sebab dibutuhkan perawatan intensif dan waktu yang relatif lama untuk memperoleh enzim fibrinolitik. Penggunaan mikroorganisme sebagai sumber enzim fibrinolitik mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan tanaman maupun hewan, diantaranya adalah kemudahan sel mikroba untuk ditumbuhkan, kecepatan pertumbuhan dan skala produksi sel lebih mudah ditingkatkan dengan pengaturan kondisi dan rekayasa genetika, kondisi produksi tidak tergantung musim serta waktu yang diperlukan relatif tidak lama (Glaser & Nikaido, 2007)

Penelitian tentang enzim fibrinolitik berasal dari mikroorganisme telah banyak dilakukan. *Bacillus* merupakan salah satu mikroorganisme penghasil enzim fibrinolitik. Penelitian tentang enzim fibrinolitik yang telah dilakukan sebelumnya adalah Nattokinase dari *Bacillus natto*, subtilisin DJ-4 dan CK dari *Bacillus sp*, subtilisin DFE dari *Bacillus amyloliquefaciens* (Peng *et al.*, 2003), *Bacillus megaterium* KSK-07 (Kotb, 2015), *Bacillus megaterium* BM 9.1 isolasi dari tanah hutan Mangrove Surabaya (Fakhri, 2015) dan lain sebagainya.

Untuk dapat menghasilkan enzim fibrinolitik, mikroorganisme memerlukan media dan kondisi pertumbuhan tertentu. Media pertumbuhan umumnya mengandung substansi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroorganisme berupa sumber karbon, nitrogen, sulfur, besi, fosfat, magnesium dan faktor-faktor pertumbuhan lain (Atlas, 2010). Khususnya pada bakteri, 48 % komponen tubuhnya tersusun atas karbon dan .. % nitrogen. Sumber karbon diperlukan untuk produksi energi, pembentukan biomassa dan produksi metabolit. Sumber karbon dapat berasal dari karbondioksida dalam bentuk bikarbonat, karbohidrat seperti glukosa, komponen anorganik seperti asetat, lemak, protein, hidrokarbon dan komponen organik lainnya (Atlas, 2010.). Selain itu, sumber karbon juga dapat ditemukan pada berbagai *agro residues* seperti tongkol jagung (Singh Nee Nigam & Pandey, 2009), kelobot jagung (Singh Nee Nigam & Pandey, 2009), dedak padi (Bhargav *et al.*, 2008; Vijayaraghavan *et al.*, 2016; Vijayaraghavan & Prakash Vincent, 2015),

kulit pisang (Vijayaraghavan *et al.*, 2016; Vijayaraghavan & Prakash Vincent, 2015) dan kulit nanas (Singh Nee Nigam & Pandey, 2009). Selama ini bahan-bahan tersebut dianggap sebagai *agro residues* dan hanya digunakan sebagai makanan ternak. *Agro residue* kurang dimanfaatkan sehingga dapat mencemari lingkungan. Padahal *agro residues* tersebut mengandung nutrient-nutrien seperti hemiselulose, pektin, protein, serat sehingga memiliki prospek untuk digunakan sebagai sumber karbon pada media pertumbuhan bakteri.

Maka pada penelitian ini akan dilakukan kajian pengaruh media dengan sumber karbon *agro residues* terhadap aktivitas enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1. Pemilihan *agro residue* didasarkan atas kemudahan didapatkan, harga yang relatif murah, kandungan polisakarida dan serat yang dapat digunakan sebagai nutrisi dalam pertumbuhan dan pembentukan metabolit suatu mikroorganisme.

The LAB strains are potentially promising because they generate bactericidal bioactive peptides (bacteriocins) and enzymes that are able to control biofilm formation and the growth of the pathogens. The bacteriocins are also present in species of genus *Lactobacillus*. The *L. acidophilus* produce lactacin B or F, whereas *L. casei* B80 produce casein 80. Certain LAB strains have been reported to be highly antagonistic to biofilm-forming *S. aureus* (Wysocki, 2010).

The *Lactobacillus* able to inhibit various types of bacteria pathogens like *Salmonella*, *Vibrio*, *Listeria*, *Shigella* and *Staphylococcus*. The LAB can produce antimicrobial component called bacteriocin, for example, acidolin, acidophilic nor is lactosidine thought to have broad-spectrum good against Gram positive or negative bacteria (Ahmed, 2010). This study aims to evaluate the inhibitory activity of probiotic *L. acidophilus* and *L. casei* fermented milk against *S. aureus* ATCC 8739 and *E. coli* ATCC 6538.

Bahan Dan Metode Penelitian

Alat : peralatan gelas, *autoclave electric* HL-340 Series *Vertical Type Steam Sterilizer*, *incubator* Memmert, timbangan *Sartorius Type BP 221S*, *Laminar Air Flow Cabinet*, lemari pendingin, *vortex* Thermolyne Maxi Mix, pH meter *Fisher Versamix*, mikropipet, jangka sorong ketelitian 0,05 mm, sengkelit (Öse).

Bahan : *Bacillus megaterium* BM 9.1 koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga hasil isolasi tanah hutan Mangrove Wonorejo (Fakhri, 2015), *agro residues* tongkol jagung manis (*Zea mays saccharata* L) ± jagung umur 3 bulan, kulit jagung manis (*Zea mays saccharata* L)

± jagung umur 3 bulan, dedak padi IR54 (*Oryza sativa* L. var. IR54) ± padi umur 3 bulan, kulit nanas madu (*Ananas comosus* L. Merr) 5 hari menguning dan kulit pisang kepok kuning (*Musa paradisiaca* L.) 5 hari menguning diambil dari petani Magetan, nutrisi agar (Oxoid), agar, dapar natrium fosfat (Sigma), metylene blue, NaCl, NaOH, Fibrin Bovine Blood Simagchem.

Preparasi sampel

Agro residues tongkol jagung, kulit jagung, dedak padi, kulit pisang dan kulit nanas dipotong secara manual dengan ketebalan ± 3 mm kemudian dikeringkan dalam suhu ruang selama 3 hari kemudian dioven pada suhu 45°C selama 24 jam. Sampel yang telah kering diserbuk dengan blender dan diayak dengan ayakan mesh 500. Serbuk disimpan dalam wadah bersih tertutup rapat (P Vijayaraghavan & Vincent, 2015).

Peremajaan Bakteri

Media yang digunakan untuk peremajaan *Bacillus megaterium* BM 9.1 adalah Nutrient agar. Media Nutrient agar dibuat dengan melarutkan 1,8 % agar dan 1,3 % Nutrient Broth lalu ditambahkan aquades 100 ml dan dipanaskan. Memasukkan ke tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, ujungnya ditutup dengan kapas berlemak dan disterilisasi dengan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit, kemudian dimiringkan dan dibiarkan hingga memadat. Mengambil bakteri dari tabung reaksi induk sebanyak 1 goresan ose. Gesekkan ose yang berisi biakan bakteri murni secara aseptis ke dalam media Nutrient Agar miring dan dilakukan dalam Laminar Air Flow Cabinet. Panaskan ujung ose kembali. Diinkubasi pada suhu kamar 37±1°C selama 24 jam

Skrining Media yang Optimal Untuk Produksi Enzim Fibrinolitik

Media produksi enzim menggunakan 3 media yaitu media Nutrien agar, Nutrien Agar + sumber karbon agro residue, dan agar + sumber karbon agro residue. Media Nutrien Agar digunakan sebagai standar, dibuat dengan melarutkan 2 % nutrisi agar dalam 100 mL aquadest, media kombinasi Nutrien Agar dan sumber karbon agro residue dibuat dengan melarutkan 2 % nutrisi agar dan 1 % b/v sumber karbon agro residue dalam 100 mL aquadest, media kombinasi agar dan sumber karbon agro residue dibuat dengan melarutkan 2 % agar dan 1 % b/v sumber karbon agro residue dalam 100 mL aquadest. Masing-masing diatur pada pH 7±0,5. dan dibagi menjadi 8 mL untuk base layer dan 12 mL untuk seed layer dan semua media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (modifikasi metode Arulanatham *et al.*, 2012).

Masing-masing media base layer 8 mL dituang ke dalam cawan petri steril. Diratakan dan ditunggu hingga padat. Sebanyak 10 µL kultur suspensi

Bacillus megaterium BM 9.1 dalam 10 mL NaCl 0,9 % transmittan 25 % pada panjang gelombang 580 nm diinokulasikan pada masing-masing media seed layer steril 12 mL secara aseptis. Kemudian dicampur dengan vortex selama 5 menit untuk menghomogenkan lalu dituang di atas base layer. Kemudian media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (modifikasi metode Vijayaraghavan *et al.*, 2016).

Uji Aktivitas Enzim Fibrinolitik

Pembuatan media fibrin plate dengan mencampurkan 2 % b/v fibrin Simagchem Bovine Serum dalam 100 mL dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 dan agar sebanyak 2 % b/v. Kemudian ditambahkan metilen blue sebanyak 400 µL dengan tujuan agar zona jernih fibrinolitik terlihat dengan jelas kemudian dipanaskan. Sebanyak 20 mL media fibrin dituang ke dalam cawan petri steril. Plate diamkan selama 30 menit pada suhu ruang (30±2°C) hingga memadat (modifikasi metode Vijayaraghavan *et al.*, 2016).

Setelah media fibrin plate memadat, dibuat empat sumur dengan logam pelubang steril diameter 4 mm pada masing-masing fibrin plate. Masing-masing media pertumbuhan dilubangi dengan logam pelubang steril diameter 4 mm namun pellet hasil lubang dipindahkan pada lubang fibrin plate secara aseptis dan bentuk dipertahankan bulat. Dilakukan replikasi sebanyak tiga kali. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Jika bakteri menghasilkan enzim fibrinolitik akan terbentuk zona jernih disekitar sumur. Kemudian diukur diameter zona jernih disekitar sumur. Zona jernih diindikasikan sebagai hasil degradasi fibrin dan diameternya sebanding dengan potensi aktivitas fibrinolitik (modifikasi metode Vijayaraghavan *et al.*, 2016)

Aktivitas enzim dinyatakan sebagai Indeks fibrinolitik (IR) = R / r

R : diameter zona jernih (mm)

r : diameter koloni bakteri (mm)

Optimasi Konsentrasi Kadar Sumber Karbon Agro residue

Setelah dilakukan uji aktivitas fibrinolitik, ditentukan jenis sumber karbon agro residue yang menghasilkan enzim fibrinolitik paling maksimum, ditandai dengan diameter zona jernih paling besar. Kemudian dilakukan optimasi konsentrasi sumber karbon agro residue yang memberikan aktivitas fibrinolitik paling optimum. Media dibuat pada berbagai konsentrasi agro residue yaitu 0,5 %, 1 %, 2 %, 4 % b/v. Uji aktivitas enzim fibrinolitik dilakukan seperti langkah di atas.

Hasil Dan Pembahasan

Pertumbuhan *Bacillus megaterium* BM 9.1 pada berbagai media nutrisi agar, kombinasi nutrisi agar dan sumber karbon agro residues serta

kombinasi agar dan sumber karbon agro residues diamati secara visual. Diketahui bahwa *Bacillus megaterium* BM 9.1 mampu tumbuh pada berbagai media agar dan nutrien agar yang ditambah sumber karbon *agro residues*. Pertumbuhan koloni *Bacillus megaterium* BM 9.1 dalam berbagai media nampak terlihat berwarna putih, tersebar merata pada permukaan, *base maupun seed layer*. Pertumbuhan pada media Nutrien agar 2 % dan kombinasi nutrien agar 2 % + sumber karbon *agro residue* 1 % nampak lebih jelas secara visual dibandingkan pada media agar 2 % + sumber karbon *agro residue* 1 %. Hal ini disebabkan media nutrien agar mengandung ekstrak daging, ekstrak yeast yang merupakan diperlukan untuk pertumbuhan bakteri dan merupakan media standar untuk pertumbuhan bakteri. Contoh pertumbuhan *Bacillus megaterium* BM 9.1 pada media Nutrien agar 2 % + Kulit pisang 1 % dapat dilihat pada gambar 3.2.

Hasil Uji Fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 dari berbagai media

Metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas enzim fibrinolitik pada *Bacillus*

megaterium BM 9.1 adalah dengan uji *fibrin plate*. Hal ini dikarenakan enzim fibrinolitik memecah substrat spesifik yaitu fibrin. Aktivitas enzim fibrinolitik ditentukan dari kecepatan enzim memecah protein fibrin menjadi peptida dan asam amino. Pemecahan protein fibrin oleh enzim fibrinolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih disekitar sumur. Aktivitas fibrinolitik dinyatakan dalam indeks fibrinolitik yaitu perbandingan antara diameter zona jernih hasil degradasi fibrin dengan diameter sumur dan diplotkan dalam diagram batang. Media fibrin dibuat dengan melarutkan fibrin 2 %, agar 2 %, *metilen blue* 400 µL dalam 100 mL dapar fosfat 0,1 M. Penambahan *metilen blue* bertujuan untuk memperjelas zona jernih yang terbentuk. Diameter zona diukur dengan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 mm. Contoh hasil uji aktivitas enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media nutrien agar 2 % + kulit pisang 1 % dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel III.1.

Tabel I Hasil Uji Aktivitas Fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada berbagai media

Media pertumbuhan	Rerata indeks fibrinolitik ± SD	Perbandingan dengan media NA (%)
NA kontrol	4,21 ± 0,02	100
Agar 2 % + kulit jagung 1 %	4,07 ± 0,15	95,49
Agar 2 % + kulit pisang 1 %	4,42 ± 0,08	104,99
Agar 2 % + kulit nanas 1 %	4,42 ± 0,07	104,99
Agar 2 % + tongkol jagung 1 %	3,53 ± 0,05	83,84
Agar 2 % + dedak padi 1 %	4,11 ± 0,04	97,62
NA 2 % + kulit jagung 1 %	4,41 ± 0,05	104,48
NA 2 % + kulit pisang 1 %	4,95 ± 0,08	117,58
NA 2 % + kulit nanas 1 %	4,72 ± 0,15	112,11
NA 2 % + tongkol jagung 1 %	3,98 ± 0,03	94,54
NA 2 % + dedak padi 1 %	4,11 ± 0,04	97,62
Kontrol negatif	-	

Keterangan :

NA: nutrien agar

(-) tidak menghasilkan enzim fibrinolitik

Dari hasil uji aktivitas fibrinolitik Tabel III.1 diketahui bahwa *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada berbagai media *agro residues* meliputi kulit pisang, kulit nanas, kulit jagung, dedak padi dan tongkol jagung mampu menghasilkan enzim fibrinolitik. Hal ini

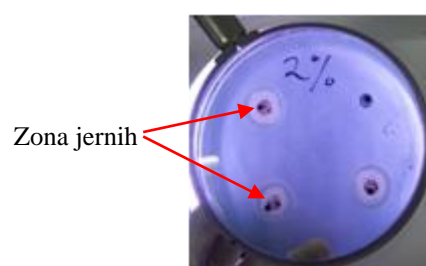
ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih hasil degradasi fibrin oleh enzim fibrinolitik disekitar sumuran. Kontrol negatif yang digunakan ialah dapar fosfat 0,1 M pH 7,4 dan tidak menghasilkan zona jernih disekitar lubang.

Dari grafik di atas, terlihat bahwa rerata indeks fibrinolitik tertinggi terdapat pada enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media kombinasi nutrisi agar 2 % dan kulit pisang 1 % yaitu sebesar $4,95 \pm 0,08$. Dan menurut uji statistik ANOVA satu arah, terdapat perbedaan secara bermakna rerata indeks fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada kombinasi nutrisi agar 2 % dan kulit pisang 1 % ($p < 0,05$). Jika dibandingkan dengan media standar nutrisi agar yaitu sebesar 117,58 %. Perbedaan aktivitas enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 dari berbagai media agro residues kemungkinan disebabkan karena komponen utama dinding sel adalah selulose dan pektin dan merupakan penentu struktur dinding sel (Al-Abdalall & Al-Khaldi, 2016). Kandungan karbohidrat 59,0 %, lemak 1,7 % dan serat 31,7 % pada kulit pisang dapat digunakan sebagai sumber selulosa dan pektin untuk pembuatan dinding sel, pertumbuhan, sumber energi dan produksi metabolit yaitu salah satunya enzim fibrinolitik dengan aktivitas yang lebih tinggi pada *Bacillus megaterium* BM 9.1. Pada media pertumbuhan yang berasal dari bahan alam dapat terjadi variasi komponen penyusun dan impurities sehingga pembentukan biomassa dan metabolit dari mikroorganisme dalam media yang berasal dari alam tidak dapat diprediksi (Stanbury, Whitaker, & Hall, 2013). Hal ini terjadi dalam penelitian ini, pada media kulit nanas, kulit jagung, tongkol jagung dan dedak padi mengandung komponen yang dapat menunjang pembentukan enzim fibrinolitik namun dengan kadar yang lebih rendah dibandingkan kulit pisang. Sehingga dapat disimpulkan bahwa media kulit pisang yang dapat menghasilkan aktivitas enzim fibrinolitik paling maksimum.

Hasil uji fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada kulit pisang berbagai konsentrasi

Oleh karena setiap mikroorganisme memiliki karakteristik yang beragam dan kebutuhan nutrisi yang berbeda maka perlu dilakukan optimasi kebutuhan nutrisi dalam media pertumbuhan yang merupakan salah satu parameter yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan metabolit akhir yang dihasilkan. Dari hasil analisis statistik, jenis media pertumbuhan yang diketahui memberikan aktivitas fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 maksimum adalah kombinasi nutrisi agar dan kulit pisang. Kemudian dilakukan optimasi konsentrasi kulit pisang untuk mengetahui konsentrasi kulit pisang yang memberikan aktivitas fibrinolitik paling optimum. Optimasi konsentrasi kulit pisang dilakukan pada konsentrasi 0,5 %; 1 %; 2 % dan 4 %. Aktivitas fibrinolitik ditunjukkan dengan terbentuknya zona

jernih disekitar sumur yang diinokulasikan media yang mengandung enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 dan dinyatakan dalam indeks fibrinolitik yaitu perbandingan zona jernih hasil degradasi fibrin disekitar sumur dengan diameter sumur. Diameter zona jernih diukur dengan jangka sorong ketelitian 0,05 mm. Hasil rerata indeks fibrinolitik enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada berbagai konsentrasi kulit pisang diplotkan dalam diagram batang dengan sumbu X konsentrasi dan sumbu Y rerata indeks fibrinolitik. Contoh hasil uji aktivitas fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada kulit pisang konsentrasi 2 % tersaji dalam gambar 3.5.



Gambar 3 uji fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada nutrisi agar 2 % dan kulit pisang 2 % dan kontrol negatif dapar fosfat pH 7,4. Masing-masing media dilakukan 3 kali replikasi

Tabel 2. Uji Aktivitas Fibrinolitik *Bacillus Megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media dengan berbagai konsentrasi Kulit Pisang

Konsentrasi kulit pisang (%)	Indeks fibrinolitik	Rerata Indeks fibrinolitik \pm SD
0,5	4,14	$4,26 \pm 0,11$
	4,28	
	4,35	
1	4,30	$4,32 \pm 0,03$
	4,30	
	4,35	
2 %	4,64	$4,61 \pm 0,03$
	4,59	
	4,60	
4	4,39	$4,35 \pm 0,05$
	4,30	
	4,36	
Kontrol negatif	-	-

Dari hasil uji aktivitas fibrinolitik Tabel 2 dan gambar 3 diketahui bahwa *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media nutrisi agar 2 % dan kulit pisang dalam berbagai

konsentrasi meliputi 0,5 %; 1 %; 2 %; 4 % mampu menghasilkan enzim fibrinolitik. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih hasil degradasi fibrin oleh enzim fibrinolitik disekitar sumur. Dari tabel III.2 menunjukkan bahwa aktivitas fibrinolitik meningkat secara progresif pada konsentrasi kulit pisang 0,5 % sampai 2 %. Namun, peningkatan konsentrasi kulit pisang lebih lanjut 4 %, menurunkan aktivitas enzim fibrinolitik. Menurut Nelson and Cox, 2008, aktivitas enzim akan meningkat sebanding dengan peningkatan konsentrasi substrat. Namun peningkatan substrat pada titik tertentu tidak menyebabkan peningkatan aktivitas enzim bahkan sampai menyebabkan penurunan aktivitas enzim. Hal ini disebut fenomena *feedback inhibition* dan hal ini sesuai dengan penelitian ini. Pada konsentrasi kulit pisang 0,5 %; 1 % dan 2 % aktivitas enzim fibrinolitik meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat namun pada konsentrasi 4 % aktivitas enzim menurun berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi substrat. Penurunan aktivitas enzim yang berbanding terbalik dengan peningkatan konsentrasi ini kemungkinan disebabkan oleh sisi aktif enzim ditempati oleh substrat yang terlalu banyak sehingga enzim jenuh terhadap substrat dan nutrisi dalam substrat hanya digunakan bakteri untuk pertumbuhan dan tidak menghasilkan metabolit enzim fibrinolitik (Nelson & Cox, 2008) Sehingga dapat diketahui bahwa aktivitas enzim fibrinolitik optimum terdapat pada media kulit pisang 2 %.

Kesimpulan

Media dengan sumber karbon *agro residues* mampu menumbuhkan dan menghasilkan enzim fibrinolitik oleh *Bacillus megaterium* BM 9.1. Terdapat perbedaan aktivitas enzim fibrinolitik *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media dengan berbagai sumber karbon *agro residues* dibandingkan dengan media nutrisi agar standar. Aktivitas enzim fibrinolitik maksimum dibandingkan dengan media standar nutrisi agar terdapat pada *Bacillus megaterium* BM 9.1 yang ditumbuhkan pada media nutrisi agar dan kulit pisang yaitu sebesar 117,58 %. Konsentrasi kulit pisang optimum untuk menghasilkan enzim fibrinolitik dengan aktivitas maksimum adalah sebesar 2 % dengan indeks fibrinolitik sebesar $4,61 \pm 0,03$.

Daftar pustaka

Al-Abdalall, A. H., & Al-Khaldi, E. M. (2016). Production of alkaline proteases by alkalophilic *Bacillus subtilis* during recycling animal and plant wastes. *African Journal of Biotechnology*, 15(47),

- 2698–2702.
- Atlas, R. M. (n.d.). *Handbook of MICROBIOLOGICAL MEDIA Fourth Edition*.
- Bhargav, S.; Panda, B. P.; Ali, M.; Javed, S. (2008). Solid-state fermentation systems-an overview. *Critical reviews in biotechnology*, 25(1–2), 1–30.
- Fakhri, C. H. (2015). *Skrining bakteri penghasil enzim fibrinolitik asal perairan pantai ekowisata mangrove wonorejo kota surabaya*. universitas airangga.
- Glaser, A. N., & Nikaido, H. (2007). *Microbial biotechnology. Fundamentals of Applied Microbiology, Second Edition*. (S. Edition, Ed.) *Journal Of Bacteriology* (Second.). New York: Published in the United States of America by Cambridge University Press, New York.
- Kotb, E. (2015). Purification and Partial Characterization of Serine Fibrinolytic Enzyme from *Bacillus megaterium* KSK 07 Isolated from Kishk, a Traditional Egyptian Fermented Food 1, 51(1), 34–43.
- elson, D. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger PRINCIPLE OF BIOCHEMISTRY* (5th editio.).
- Peng, Y., Huang, Q., Zhang, R. H., & Zhang, Y. Z. (2003). Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from douchi, a traditional Chinese soybean food. *Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & molecular biology*, 134(1), 45–52.
- Prod, J. N., Resour, P., Arulanantham, R., Pathmanathan, S., & Ravimannan, N. (2012). Alternative culture media for bacterial growth using different formulation of protein sources, 2(6), 697–700.
- Singh Nee Nigam, P., & Pandey, A. (2009). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: Utilisation of agro-residues. Biotechnology for Agro-Industrial Residues Utilisation: Utilisation of Agro-Residues*.
- Stanbury, P. F., Whitaker, A., & Hall, S. J. (2013). *Principles of fermentation technology* (Second Ed., Vol. 53). Butterworth-Heinemann An imprint of Elsevier Science 200 Wheeler Road, Burlington MA 01803.
- Vijayaraghavan, P., & Vincent, S. G. P. (2015). A low cost fermentation medium for potential fibrinolytic enzyme production by a newly isolated marine bacterium, *Shewanella* sp. *Biotechnology Reports*, 7, 135–142. Elsevier B.V.
- Vijayaraghavan, Ponnuswamy, Vincent, S. G. P., Arasu, M. V., & Al-Dhabi, N. A. (2016). Bioconversion of agro-industrial wastes for the production of fibrinolytic enzyme from *Bacillus Halodurans* IND18: Purification and biochemical characterization. *Electronic Journal of Biotechnology*, 20, 1–8. Elsevier B.V.