

# RINGKASAN

## PROFIL AKTIVITAS ENZIM FIBRINOLITIK TEMPE KACANG MERAH *Vigna angularis* HASIL PURIFIKASI PARSIAL – DIALISIS

Firda Nur Hanifah

Enzim merupakan salah satu biokatalisator yang memiliki peran yang sangat penting baik dibidang industri maupun kesehatan, salah satunya adalah enzim fibrinolitik. Dalam bidang kesehatan, enzim tersebut memiliki manfaat yang sangat besar dalam mengatasi berbagai jenis penyakit *cardiovascular*, karena dapat melisis bekuan fibrin dalam darah (Price *et al*, 2006). Tidak sedikit bahan makanan yang mampu menghasilkan aktivitas fibrinolitik, sebagai contoh adalah tempe kacang kedelai *natto* dari kacang merah (Chang Tien, 2012). Sehingga ditelitilah kemampuan fibrinolitik dari tempe kacang merah karena kandungan protein dan asam aminonya hampir sama bahkan lebih besar dibanding dengan kacang kedelai (Reyes-Moreno *et al.*, 1993).

Untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas fibrinolitik pada tempe kacang merah, maka dilakukan uji kualitatif proteolitik dengan media *Skim Milk Agar* dan fibrinolitik dengan menggunakan fibrin plate. Adanya aktivitas keduanya ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar sampel ekstrak *crude enzyme* tempe kacang merah. Semakin besar diameter zona jernihnya semakin besar pula aktivitas fibrinolitik yang dihasilkan. Indeks proteolitik yang didapatkan sebesar  $(2,86 \pm 0,23)$  mm yang berarti lebih besar 1,07 kali dibanding kontrol positif (*natto*). Tempe kacang merah ternyata memiliki indeks proteolitik 2,15 dan 2,46 kali lebih besar dibanding dengan kacang merah dan jamur *Rhizopus oligosporus* sendiri.

Aktivitas fibrinolitik sampel diperoleh sebesar  $(3,03 \pm 0,08)$  mm yang berarti lebih kecil 0,9 kali dibanding *natto*. Indeks fibrinolitik lebih rendah dibandingkan dengan proteolitiknya. Hal ini karena *crude enzyme* dari tempe kacang merah tersebut kecenderungan mampu memanfaatkan protein selain fibrin.

Prosedur awal yang digunakan untuk memurnikan enzim adalah menggunakan metode pengendapan bertingkat dengan amonium sulfat. Fraksi pengendapan dimulai dari 0-30% dilanjutkan 30-55% dan kemudian 55-80%. Hasil aktivitas fibrinolitik yang diperoleh secara berturut-turut adalah 0,130 U/mL, 0,108 U/mL dan 0,597 U/mL. Pada fraksi II yaitu 30-55% mengalami penurunan aktivitas disebabkan oleh sedikitnya endapan protein dan enzim yang didapatkan, ditandai oleh kecilnya perolehan konsentrasi protein yang hanya 0,02792 mg/mL dibandingkan dengan konsentrasi protein fraksi lain. Selain itu, dimungkinkan masih terdapat banyak protein di supernatan, sedangkan pada penelitian kali ini tidak dilakukannya uji aktivitas pada supernatan. Namun, pada fraksi berikutnya (55-80%) terjadi peningkatan aktivitas enzim dan aktivitas enzimnya paling tinggi daripada fraksi lainnya, sehingga fraksi 55-80 % dilanjutkan dengan dialisis.

Dialisis dilakukan dengan menggunakan kantong selofan semipermeabel dengan *cutoff* 12 kDa, yang artinya molekul kecil berukuran <12 kDa akan lolos keluar membran, sedangkan molekul berukuran >12 kDa akan tertahan di membran. Hasil dialisis yang diperoleh dari fraksi III (55-80%) adalah 0.153 U/mL dan mengalami penurunan aktivitas 0,25 kali dibanding dengan sebelum dialisis, dikarenakan protein yang diduga bersifat fibrinolitik dengan berat molekul lebih kecil dari 12 kDa ikut berdifusi ke dalam larutan dapar yang ada di luar kantong selofan.

Tujuan dari penentuan konsentrasi protein adalah untuk mengetahui tingkat kemurnian dari enzim tersebut. Uji tersebut menggunakan metode dari Bradford dengan menggunakan pereaksi Coomassie Brilliant Blue G-20 dengan waktu pendiaman optimal 15 menit. Bradford menyatakan bahwa kurva pembentukan warna yang stabil antara kompleks protein-zat warna terjadi antara 5 sampai 20 menit setelah reagen ditambahkan (Bradford, 1976).

Aktivitas sampel setelah mengalami dialisis adalah 4,57 U/mg yang berarti mengalami kenaikan sebesar 1,91 kali dibanding sampel sebelum dialisis. Hal tersebut menunjukkan bahwa fraksi 55-80% yang mengalami pemurnian parsial dengan amonium sulfat dilanjutkan dialisis memiliki tingkat kemurnian yang lebih tinggi dari pada hanya mengalami pemurnian parsial dengan amonium sulfat saja.