

PURIFIKASI DAN PENCIRIAN ENZIM PROTEASE FIBRINOLITIK DARI EKSTRAK JAMUR MERANG

Dondin Sajuthi^{1,2*}, Irma Suparto^{2,3}, Yanti⁴, dan Willy Praira²

1. Departemen Klinik Reproduksi dan Patologi, FKH, IPB, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

2. Pusat Studi Satwa Primata, LPPM, IPB, Bogor 16151, Indonesia

3. Departemen Kimia, FMIPA, IPB, Darmaga, Bogor 16680, Indonesia

4. Fakultas Teknobiologi, Unika Atma Jaya, Jakarta 12930, Indonesia

*E-mail: sajuthi@indo.net.id

Abstrak

Jamur merang (*Volvariella volvaceae*) merupakan jamur pangan yang secara empiris diduga dapat melancarkan peredaran darah sehubungan dengan kandungan enzim fibrinolitik yang dimilikinya. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan enzim protease murni yang bersifat fibrinolitik dan penciriannya dari ekstrak jamur merang. Pemurnian dilakukan secara bertahap, yaitu presipitasi amonium sulfat 75%, dialisis dengan menggunakan membran dialisis (*cut-off* 10 kDa), dan kromatografi pertukaran ion dengan matriks DEAE Sepharose. Fraksi eluat DEAE-Sepharose aktif mempunyai dua subunit protein dengan bobot molekul 12,9 dan 15,8 kDa. Eluat memiliki aktivitas spesifik 0,383 U/mg dengan tingkat kemurniannya mencapai 2,7 kali lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Analisis pencirian enzim dilakukan terhadap ekstrak kasar dan eluat murni. Aktivitas ekstrak kasar dan eluat mencapai optimum pada suhu 50 °C dan pH 7 dengan waktu inkubasi 10 menit. Pada kondisi optimum, aktivitas protease eluat lebih besar daripada ekstrak kasarnya. Enzim dihambat kuat oleh inhibitor fenilmetilsulfonyl fluorida dan N-p-tosil-L-lisinklorometil keton yang menunjukkan golongan protease serin. Profil zimografi fibrin memperlihatkan bahwa enzim mampu mendegradasi substrat fibrin. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak dan eluat protease murni dari jamur merang (*V. volvaceae*) mempunyai aktivitas fibrinolitik yang potensial dan dapat dimanfaatkan sebagai alternatif terapi trombolitik.

Abstract

Purification and Characterization of Fibrinolytic Proteases from Mushroom *Volvariella volvaceae* Extract. Edible straw mushroom (*V. volvaceae*) has been known used for improvement of blood circulation due to its fibrinolytic content. The objective of the study is to purify and characterize fibrinolytic protease from straw mushroom extract. Purification were performed through several steps, i.e. precipitation using ammonium sulphate 75%, dialyzed membran (*cut-off* 10 kDa), and ion-exchange chromatography using DEAE Sepharose. The active fraction of DEAE-Sepharose contains two purified protein bands with molecular weight of 12.9 and 15.8 kDa. The active fraction has specific activity of 0.383 U/mg with 2.7 fold higher purification compared to its crude extract. Both crude and purified enzymes had optimum activity at temperature of 50 °C and pH 7 in 10 minutes of incubation. Fibrin zymographic profile demonstrated that the enzyme hydrolyzed fibrin, as well as casein, indicating their potent fibrinolytic activity. The enzyme was strongly inhibited by phenilmethylsulphonyl fluoride and N-p-tosil-L-lysinechloromethyl keton. This suggested that it was a serine protease. In summary, these results showed that crude and purified protease of straw mushroom (*V. volvaceae*) has fibrinolytic activities that can be applied for alternative thrombolytic therapy.

Keywords: fibrinolytic enzyme, purification, Volvariella volvaceae, zymography

1. Pendahuluan

Enzim fibrinolitik merupakan kelompok protease serin yang mampu menghancurkan bekuan darah (fibrin) dalam berbagai penyakit trombosis. Dalam keadaan

normal, secara seimbang tubuh mengalami pembentukan bekuan darah dan fibrinolisis dengan menghasilkan plasmin untuk menghidrolisis fibrin. Selain dihasilkan langsung oleh tubuh manusia (urokinase, tissue-plasminogen aktivator), enzim fibrinolitik juga telah

berhasil diperoleh dari berbagai sumber, yaitu dari hewan (lumbrokinase), pangan fermentasi (natokinase dan katsuwo kinase), dan mikroorganisme (streptokinase) [1-5]. Enzim-enzim ini telah diproduksi secara komersial untuk pengobatan yang dapat menghancurkan bekuan darah pada trombosis pembuluh darah serta infark miokardium maupun embolisme paru. Pengobatan oleh enzim ini biasanya melalui intravena yang diberikan segera setelah serangan jantung untuk menghancurkan bekuan darah dalam arteri. Fibrinolitik yang bersumber dari bahan pangan diharapkan dapat digunakan sebagai fortifikasi makanan dan nutrasetikal yang mencegah terjadinya pengentalan maupun pembekuan darah sehingga mencegah terjadinya penyakit kardiovaskuler.

Bahan pangan yang secara empirik diduga mempunyai khasiat fibrinolitik di antaranya adalah jamur pangan. Sejumlah peneliti melaporkan bahwa kandungan senyawa aktif dalam berbagai jamur pangan (*Schizophyllum commune*, *Cordyceps militaris*, dan *Pleurotus ostreatus*) diduga dapat mempengaruhi sirkulasi darah adalah enzim protease yang mempunyai aktivitas fibrinolitik [6-8].

Jamur merang (*Volvariella volvaceae*) merupakan bahan pangan yang mengandung protein tinggi, kitin, zat besi, seng, serat, asam amino esensial, dan beberapa vitamin. Selain sebagai bahan pangan, dalam pengobatan Cina, jamur merang telah lama digunakan untuk meningkatkan daya tahan tubuh (imunomodulator) [9]. Sejauh ini, khasiat jamur merang yang menghasilkan enzim fibrinolitik belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, diharapkan jamur ini berpotensi sebagai nutrasetikal yang dapat bermanfaat untuk mencegah atau mengobati terjadinya trombosis. Enzim yang berasal dari bahan pangan akan menguntungkan karena dapat diproduksi dalam jumlah yang banyak dengan lebih mudah dan murah, sehingga dapat meningkatkan nilai ekonominya.

Penelitian ini bertujuan untuk memurnikan dan mencirikan protease dari ekstrak jamur merang (*V. volvaceae*) yang mempunyai aktivitas fibrinolitik. Pencirian enzim protease asal jamur merang dilakukan terhadap suhu dan pH optimum, inhibitor, pengaruh ion-ion logam, serta bobot molekul enzim protease.

2. Metode Penelitian

Materi yang digunakan adalah jamur merang segar dari pasar swalayan di Jakarta. Larutan kasein *Hammerstein*, pereaksi Bradford, standar L-tirosin, dan *Bovine Serum Albumin* (BSA, Merck). Bahan lainnya adalah amonium sulfat, bufer universal pH 3-12, larutan natrium karbonat, asam trikloroasetat (TCA), pereaksi Folin Ciocalteu, natrium klorida buffer tris-HCl pH 7, gliserol 50% (v/v), polietilen glikol (PEG), akrilamida 40%, bisakrilamida 2%, amonium persulfat 10%, sodium dodesil sulfat (SDS), N,N,N',N'-tetraetilmetilenadamina

(TEMED), bromfenol biru, merkaptoetanol, etanol absolut, asam asetat pekat, glisin, *Coomassie Brilliant Blue R-250*, Triton X-100 2,5% (v/v), penanda protein *high molecular weight* (HMW), fibrinogen, thrombin, gelatin, kasein, albumin, dan kantung dialisis nitroselulosa asetat (*cut-off* 10 kD) (25 mm x 16 mm) (Sigma-Aldrich). Inhibitor enzim protease yang digunakan, antara lain: *phenylmethylsulphonyl fluoride* (PMSF), *Na-p-tosyl-L-lysine-chloromethylketone* (TLCK), *soybean trypsin inhibitor* (STI), dan *etilenediaminetetraacetic acid* (EDTA). Ion logam aktivator maupun inhibitor yang diuji adalah K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , dan Fe^{3+} .

Preparasi ekstrak kasar. Seluruh bagian jamur merang dipotong-potong sampai kurang lebih 1 cm² dan dalam bufer universal pH 7 diaduk sampai homogen selama 5 menit. Ekstrak kasar adalah supernatan yang diperoleh setelah disentrifus dengan kecepatan 4245 g pada suhu 4 °C selama 10 menit.

Analisis aktivitas protease. Pengukuran aktivitas protease secara kuantitatif dengan modifikasi metode Bergmeyer [10]. Substrat yang digunakan kasein *Hammersten* 2% (b/v). Larutan enzim sebanyak 50 µL ditambahkan dengan 250 µL buffer universal 50 mM pH7 dan 250 µL kasein. Inkubasi pada suhu 50 °C selama 10 menit. 500 µL trikloroasetat 0.1M ditambahkan untuk penghentian reaksi hidrolisis. Pada sampel ditambahkan 50 µL akuades, dan pada blanko serta standar ditambahkan 50 µL enzim kemudian diinkubasi kembali pada 37 °C selama 10 menit. Selanjutnya, disentrifugasi dengan kecepatan 28448 g selama 10 menit untuk memisahkan asam-asam amino yang tidak mengendap. Supernatan yang diperoleh sebanyak 375 µL ditambahkan dengan 1250 µL natrium karbonat 0,4M dan 250 µL pereaksi Folin Ciocalteu untuk diinkubasi lagi pada 37 °C selama 20 menit agar diperoleh optimasi pewarnaan. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 578 nm.

Pemurnian enzim. Ekstrak enzim diendapkan dengan garam amonium sulfat dan ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam ekstrak kasar enzim hingga mencapai konsentrasi 75% (b/v). Campuran ini dipisahkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 4245 g suhu 4 °C selama 10 menit. Endapan protein yang terkumpul dilarutkan kembali dalam bufer universal 50 mM pH 7. Larutan garam dan enzim yang terdapat dalam bufer dipisahkan menggunakan kantung dialisis (*cut-off* 10 kDa) dan direndam dalam akuades. Garam amonium sulfat yang keluar dari kantung, diuji keberadaannya. Dialisis dihentikan bila semua amonium sulfat telah terpisah dari enzim.

Larutan enzim hasil dialisis dipekatkan menggunakan teknik pengeringbekuan dengan PEG. Pemurnian secara teknik kromatografi kolom menggunakan penjerap

HiTrap IEX DEAE Sepharose (anion) dengan panjang kolom 20 cm. Bufer elusi natrium klorida 1M sebanyak 5 mL dialirkan dan diseimbangkan dengan menambahkan 10 mL bufer tris-HCl pH 7 ke dalam kolom. Larutan enzim yang telah dipekatkan diinjeksikan dan bufer tris-HCl pH 7 sebanyak 5 mL dialirkan ke dalam kolom. Pada bagian atas kolom, dialirkan sebanyak 5 mL 0,5 M dan 1 M NaCl serta 10 mL bufer tris-HCl pH 7. Keluaran fraksi eluat DEAE-Sepharose diatur dengan kecepatan 3 mL/menit dan ditampung setiap menitnya. Kadar protein tiap fraksi eluat diukur dengan metode Bradford [11] dan aktivitas proteasenya diuji dengan metode Bergmeyer [10].

Selanjutnya, ekstrak kasar dan eluat DEAE-Sepharose diukur bobot molekulnya dan diuji karakterisasinya terhadap spesifisitas substrat protein, pengaruh suhu, pH, waktu inkubasi, ion logam, dan inhibitor enzim.

Penentuan bobot molekul (BM) enzim dan analisis spesifisitas substrat. Bobot molekul ekstrak dan eluat enzim dianalisis dengan menggunakan teknik SDS-PAGE. Pita protein yang terbentuk pada gel hasil elektroforesis menunjukkan jumlah rantai polipeptida yang terdapat pada enzim. Bobot molekul masing-masing rantai polipeptida tersebut dibandingkan dengan penanda standar. Spesifisitas substrat ekstrak enzim dilakukan terhadap empat jenis substrat protein, yaitu kasein, fibrin, gelatin, dan albumin. Spesifisitas terhadap substrat diidentifikasi dengan teknik zimogram [12]. Teknik zimogram hampir sama dengan SDS-PAGE, pada masing-masing gel poliakrilamidnya ditambahkan substrat-substrat protein yang akan dianalisis. Spesifisitas ekstrak enzim terlihat dengan perubahan pita protein pada gel dari warna biru menjadi putih akibat didegradasi oleh enzim.

Pengaruh suhu. Masing-masing ekstrak enzim diperlakukan seperti pada analisis aktivitas enzim menggunakan metode Bergmeyer. Namun, inkubasi pertama dilakukan pada variasi suhu yang berbeda, yakni mulai dari suhu 27 °C sampai dengan 65 °C. Suhu inkubasi yang memberikan aktivitas enzim maksimum merupakan suhu optimum enzim.

Pengaruh pH. Kondisi pH optimum enzim diperoleh dengan cara memberi perlakuan yang berbeda pada bufernya. Masing-masing ekstrak enzim dilihat aktivitasnya dengan metode Bergmeyer, namun bufer universal yang digunakan bervariasi mulai dari pH 4 sampai dengan pH 12. Kondisi pH yang menunjukkan aktivitas enzim maksimum dirujuk sebagai pH optimum enzim tersebut.

Pengaruh inhibitor dan ion logam. Ion logam (Na^+ , K^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , dan Fe^{3+} dengan konsentrasi total 1 mM) dan inhibitor protease (PMSF, TLCK, STI, dan EDTA dengan konsentrasi total 1 mM) diinkubasi

selama 1 jam pada suhu ruang. Masing-masing campuran enzim dengan inhibitor/logam diuji aktivitas residu proteasenya dengan metode Bergmeyer.

3. Hasil dan Pembahasan

Pemurnian enzim. Ekstrak enzim dari jamur merang dimurnikan secara bertahap. Aktivitas protease dijadikan sebagai indeks pemurnian enzim. Aktivitas ekstrak kasar yang diperoleh 0,189 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,143 U/mg yang diekstrak dengan larutan dapar universal 50 mM pH 7. Pemurnian lebih lanjut dengan pengendapan oleh amonium sulfat 75% diperoleh 0,279 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,184 U/mg. Hasil dialisis memperlihatkan terjadi peningkatan dengan aktivitas menjadi 0,308 U/mL dengan aktivitas spesifik 0,202 U/mg atau 1,41 kali lebih murni dibandingkan ekstrak kasar. Pemurnian akhir dengan kromatografi penukar anion DEAE-Sepharose yang berperan mengikat protein bermuatan negatif berdasarkan densitas muatannya. Fraksi paling aktif adalah fraksi 5 yang mempunyai nilai aktivitas 0,225 U/mL atau 0,383 U/mg dengan peningkatan kemurnian sebesar 2,68 kali dibandingkan ekstrak kasarnya. Hal ini menunjukkan bahwa eluat mengandung protease yang lebih murni daripada ekstrak kasarnya. Eluat merupakan hasil pemurnian lebih lanjut dari ekstrak kasar yang dipekatkan oleh amonium sulfat dan didialisis, dilanjutkan dengan kromatografi kolom untuk memisahkan pengotor atau protein yang tidak diinginkan.

Penentuan bobot molekul. Hasil SDS-PAGE menunjukkan bahwa ekstrak protease dari jamur merang memiliki empat pita (subunit) protein pada ekstrak kasarnya dan dua pita pada eluat DEAE-Sepharose. Bobot molekul protease dari ekstrak kasarnya adalah 8,3, 12,6, 15,3, dan 23,7 kDa; sedangkan eluatnya berbobot molekul 12,9 dan 15,8 kDa. Berdasarkan hasil penentuan bobot molekul, terdapat kedekatan pita protein pada 12,9 dan 15,8 dari hasil pemurnian dengan 12,6 serta 15,3 kDa dari ekstrak kasar. Dapat disimpulkan bahwa kedua protein hasil pemurnian dengan DEAE merupakan protein yang terdapat dalam ekstrak kasar. Untuk determinasi lebih lanjut diperlukan pemurnian kristal protein dan gambaran difraksi sinar x. Jamur *Tricholoma saponaceum* juga memiliki dua fraksi protease murni, yaitu 17,9 dan 18,1 kDa [13]. Sejumlah publikasi telah melaporkan variasi bobot molekul enzim protease murni dari berbagai jamur pangan, seperti *Armillaria mellea* (21 kDa), *P. ostreatus* (32 kDa), *Flammulina velutipes* (37 kDa), dan *Grifola frondosa* (20 kDa) [6,8,14,15].

Jumlah pita-pita protein hasil elektroforesis SDS-PAGE menunjukkan jumlah subunit protein yang terdapat dalam protein tersebut. Pita protein yang berada pada posisi paling atas merupakan subunit terbesar, dan pita protein yang berada di posisi lebih bawah menunjukkan

ukuran subunit yang lebih kecil. Besar atau kecil ukuran suatu subunit protein ditentukan oleh jumlah atau jenis asam-asam amino penyusunnya. Secara umum, subunit yang berukuran lebih besar memiliki jumlah asam amino penyusun yang lebih banyak [16].

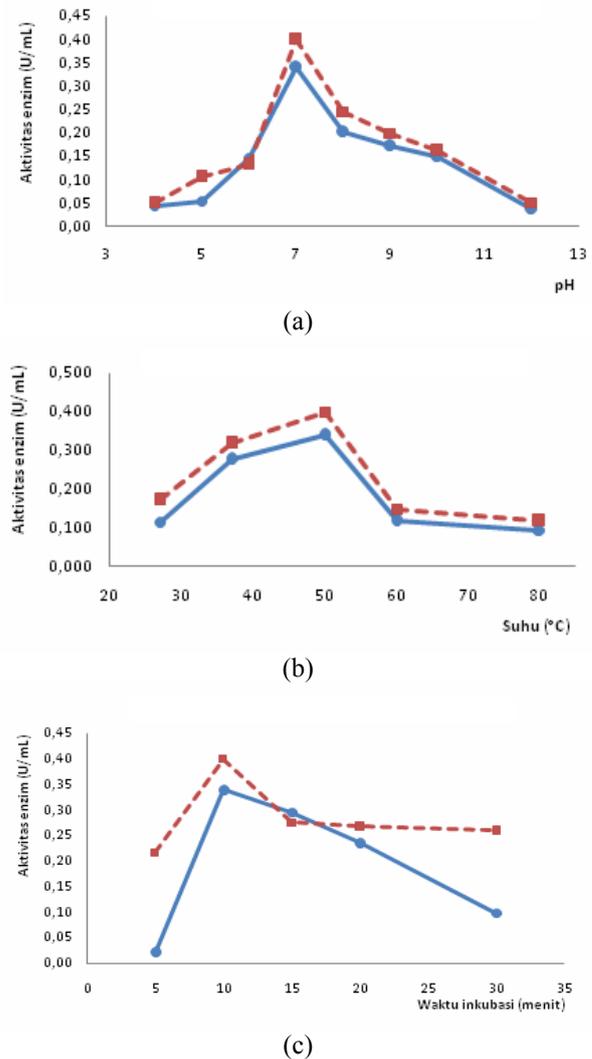
Pengaruh spesifitas substrat. Uji spesifisitas beberapa substrat protein (kasein, fibrinogen, gelatin, dan albumin) dilakukan dengan teknik zimografi. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak dan eluat protease dari jamur merang mampu mendegradasi kasein dan fibrin, mengindikasikan bahwa enzim memiliki aktivitas fibrinolitik. Warna pita putih yang terlihat pada hasil zimografi merupakan indikasi adanya kemampuan enzim mendegradasi substratnya.

Kespesifikan suatu enzim terhadap substrat terlihat dari substrat yang mampu didegradasi oleh enzim tersebut. Semakin sedikit jenis substrat yang dapat didegradasi semakin spesifik pula enzim tersebut. Kespesifikan enzim sangat penting untuk diketahui berkaitan dengan aplikasi lanjutan enzim nantinya. Enzim fibrinolitik dapat diaplikasikan pada penderita trombosis, karena enzim ini dapat menghancurkan fibrin (gumpalan darah) menjadi produk degradasinya yang lebih larut dalam darah. Protease fibrinolitik lainnya yang dimurnikan dari berbagai jamur pangan, seperti, *A. mellea*, *C. militaris*, *P. ostreatus*, *T. saponaceum*, *F. velutipes*, *G. frondosa*, dan *G. lucidum* juga telah dilaporkan [6-8,13-15,17].

Pengaruh pH dan suhu. Uji pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas enzim dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum enzim dalam mendegradasi substrat, selain itu juga untuk melihat kestabilan enzim dalam kondisi suhu dan pH yang berbeda. Pengaruh pH diuji mulai pH 4 sampai dengan pH 12. Ekstrak dan eluat jamur merang menunjukkan aktivitas aktif pada kisaran pH 7-10, dengan aktivitas optimum pada pH 7 (Gambar 1a). Hal ini mengindikasikan bahwa enzim mampu bekerja aktif pada kisaran pH netral dan basa.

Pengukuran pH optimum enzim perlu dilakukan untuk menyesuaikan penggunaan enzim selanjutnya. Enzim yang bekerja pada pH fisiologis umumnya dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang, misalnya sebagai terapi suatu penyakit. Enzim-enzim protease yang telah berhasil diisolasi dan dianalisis menunjukkan pH optimum yang berbeda-beda. Pada kondisi netral (pH 7), ekstrak kasar dan eluat protease jamur merang mempunyai aktivitas protease pada kisaran suhu 37-50 °C, dengan suhu optimum pada 50 °C (Gambar 1b). Aktivitas enzim protease menurun drastis saat diinkubasi pada suhu yang lebih tinggi (60 °C dan 80 °C).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa protease fibrinolitik dari berbagai sumber jamur pangan memiliki

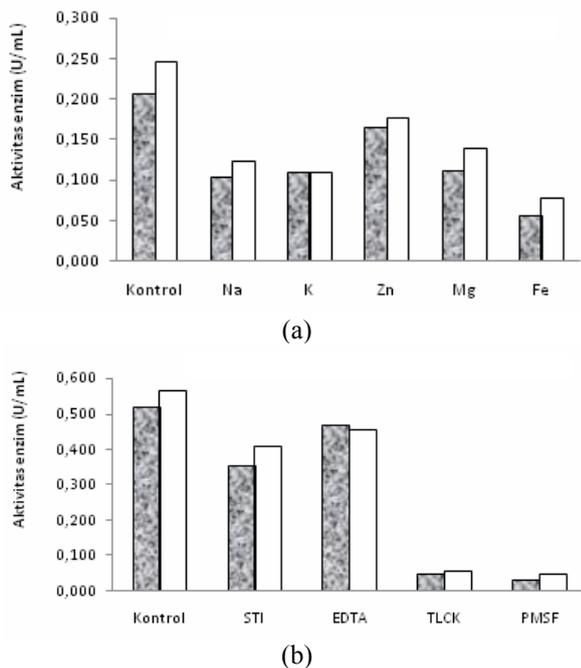


Gambar 1. Pengaruh pH (a), Suhu (b), dan Waktu Inkubasi (c) terhadap Aktivitas Enzim dari Ekstrak Kasar (●) dan Eluat Jamur Merang (■)

suhu dan pH optimum yang bervariasi. Aktivitas optimum fibrinolitik dari fraksi murni jamur *A. mellea* dicapai pada suhu 55 °C dan pH 7 [6]. Protease murni dari jamur tiram (*P. ostreatus*) bekerja optimum pada pH 6,5 dan suhu 35 °C [8].

Fraksi murni jamur *T. saponaceum* mempunyai suhu optimum 55 °C dengan pH 7,5 [13]. Demikian halnya dengan fraksi protease dari jamur *F. velutipes* memiliki aktivitas optimum pada 20-30 °C dan pH 6 [14].

Gambar 1c memperlihatkan bahwa ekstrak dan eluat jamur merang bekerja optimal pada suhu 50 °C dan pH 7 saat diinkubasi selama 10 menit. Aktivitas optimum eluat dicapai pada menit ke-10, lalu sedikit menurun dan cenderung konstan pada menit ke-15 dan 30. Pola kerja eluat jamur merang ini cukup berbeda dengan ekstrak kasarnya yang aktivitasnya secara signifikan



Gambar 2. Pengaruh Ion Logam (a) dan Inhibitor (b) terhadap Aktivitas Protease dari Ekstrak Kasar dan Eluat Jamur Merang, Ekstrak Kasar (■), Ekstrak Dialisat (□)

menurun terus hingga menit ke-30. Hal ini menunjukkan bahwa eluat memiliki waktu inkubasi yang lebih stabil dan lama dibandingkan dengan ekstrak kasarnya. Merujuk pada tingkat kemurniannya, eluat memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan ekstrak kasarnya pada kondisi suhu, pH, dan waktu inkubasi optimum (Gambar 1).

Pengaruh ion logam dan inhibitor. Pengaruh ion logam diuji dengan mengukur aktivitas residu protease setelah diinkubasi dengan berbagai ion logam selama satu jam pada suhu ruang, lalu dibandingkan dengan aktivitas awalnya (tanpa perlakuan ion logam). Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kasar dan eluat jamur merang dihambat secara signifikan oleh ion logam Na^+ , K^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , dan Fe^{3+} .

Di antara kelima ion logam tersebut, logam Fe^{3+} menghambat aktivitas protease hingga 75% dari aktivitas kontrol (Gambar 2a).

Ion logam umumnya berperan sebagai aktivator atau inhibitor enzim yang mempengaruhi kerja enzim pada sisi aktif katalitiknya. Ion logam yang berperan sebagai aktivator disebut sebagai kofaktor. Biasanya enzim hanya akan aktif jika ada kofaktor. Sementara, inhibitor menghambat enzim dengan cara menempel pada bagian enzim sehingga sisi aktif enzim berubah atau dengan cara berikatan langsung pada sisi aktif enzim. Penelitian sebelumnya memperlihatkan bahwa aktivitas protease

fibrinolitik dari jamur pangan *A. mellea*, *P. ostreatus*, *T. saponaceaum*, dan *F. velutipes* juga dihambat secara signifikan oleh berbagai ion logam Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , dan Fe^{3+} [6,8,13-14].

Selain ion logam, diujikan beberapa inhibitor protease umum, seperti STI, PMSF, TLCK, dan EDTA untuk menentukan golongan protease. Ekstrak kasar dan eluat protease jamur merang dihambat kuat (>80 %) oleh TLCK dan PMSF, dan hanya dihambat sedikit oleh EDTA dan STI (Gambar 2b). PMSF dan TLCK merupakan senyawa inhibitor protease serin yang spesifik. Dengan demikian, hasil ini mengindikasikan bahwa ekstrak dan eluat protease jamur merang dikelompokkan dalam protease serin. Protease serin merupakan kelompok enzim proteolitik yang mempunyai sisi gugus aktif (OH) dari asam amino serin. PMSF (gugus sulfonil) akan menghambat secara kompetitif *irreversible* terhadap enzim ini dengan bereaksi pada gugus OH serin pada sisi aktifnya [18].

4. Simpulan

Hasil penelitian ini memperlihatkan bahwa ekstrak kasar dan eluat dari jamur merang (*V. volvaceae*) merupakan protease serin yang memiliki aktivitas fibrinolitik. Enzim ini berpotensi digunakan dalam terapi alternatif trombolitik dalam bentuk nutraseutikal. Konsumsi jamur merang sebagai bahan pangan fungsional dapat dianjurkan sebagai bagian dari pola hidup sehat sehubungan dengan manajemen penyakit trombosis dan kardiovaskular.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih kepada Solihati, S.Si. yang telah membantu menganalisis serta mengumpulkan data penelitian ini.

Daftar Acuan

- [1] C. Wang, M. Du, D. Zhang, F. Kong, G. Zu, Y. Feng, *J. Agric. Food Chem.* 57 (2009) 9722.
- [2] R. Pan, Z.J. Zhang, R.Q. He, *Appl. Environ. Soil Sci.* 2010 (2010) 1.
- [3] R. Dubey, J. Kumar, D. Agrawala, T. Char, P. Pusp. *Afr. J. Biotech.* 10 (2011) 1408.
- [4] U.F. Ali, Z.M. Ibrahim, *J. Appl. Sci. Res.* 4 (2008) 892.
- [5] I.H. Cho, E.S. Choi, H.G. Lim, H.H. Lee, *J. Biochem. Mol. Biol.* 37 (2004) 199.
- [6] C.L. Lu, S. Chen, S.N. Chen, *J. Food Drug Anal.* 18 (2010) 69.
- [7] J.S. Kim, S. Kumar, S.E. Park, B.S. Choi, S. Kim, T.H. Nguyen, C.S. Kim, H.S. Choi, M.K. Kim, H.S. Chun, Y. Park, S.J. Kim, *J. Microbiol.* 44 (2006) 622.

- [8] M.H. Shen, J.S. Kim, K. Sapkota, S.E. Park, B.S. Choi, S. Kim, H.H. Lee, C.S. Kim, H.S. Chun, C.I. Ryoo, S.J. Kim, *J. Microbiol. Biotech.* 17 (2007) 1271.
- [9] C. Lull, H.J. Wichers, H.F.J. Savelkoul, *Int. Immunopharmacol.* 8 (2008) 1124.
- [10] M.M. Bradford, *Anal. Biochem.* 72 (1976) 248.
- [11] H.U. Bergmeyer, *Clin. Chem.* 18 (1972) 1305.
- [12] N.S. Choi, K.S. Yoon, J.Y. Lee, K.Y. Han, S.H. Kim, *J. Biochem. Mol. Biol.* 34 (2001) 531.
- [13] J.H. Kim, Y.S. Kim, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 65 (2001) 356.
- [14] S.E. Park, M.H. Li, J.S. Kim, K. Sapkota, J.E. Kim, B.S. Choi, Y.H. Yoon, J.C. Lee, H.H. Lee, C.S. Kim, S.J. Kim, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71 (2007) 2214.
- [15] S.Y. Lee, J.S. Kim, J.E. Kim, K. Sapkota, M.H. Shen, S. Kim, H.S. Chun, J.C. You, H.S. Choi, M.K. Kim, *Protein Expres. Purif.* 43 (2005) 10.
- [16] D.E. Garfin, In: J. Davey, M. Lord (Eds.), *Essential Cell Biology: Cell Structure, A Practical Approach*, Oxford University Press, UK, 2003, p.197.
- [17] H.S. Choi, Y.S. Sa, *Mycologia* 92 (2000) 545.
- [18] L. Hedstrom, *Chem. Rev.* 102 (2002) 4501.