

UJI AKTIVITAS KERATINASE JAMUR *Trichophyton mentagrophytes* DENGAN PENAMBAHAN KERATIN SUBSTRAT BULU DOMBA GARUT (*Ovis aries*)

Fauziah, Nida Hayatul¹; Kurniawan, Entuy¹; Mulia, Yuliansyah Sundara¹;
Onggowaluyo, Jangkung Samidjo¹

¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medik Poltekkes Kemenkes Bandung
Email: nidahf1997@gmail.com Tlp: +6282126037752

ABSTRAK

Trichophyton mentagrophytes menghasilkan enzim keratinase yang dapat diukur aktivitasnya secara Spektrofotometri. Telah dilakukan penggunaan bulu domba garut sebagai substrat. Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimen. Jumlah spora jamur yang digunakan dihitung terlebih dahulu menggunakan alat Hemositometer. Konsentrasi bulu domba yang digunakan 0,5%, 1%, dan 2%. Asam amino yang terukur dihitung dengan kurva standar tirosin/ml yang sudah diketahui konsentrasinya dan dihitung sebagai 1 unit enzim. Hasil analisis kurva kalibrasi standar yang diolah dengan *Microsoft excel* menunjukkan penambahan spora dengan jumlah 1075×10^3 spora/ml pada media kontrol menghasilkan aktivitas keratinase 3,803 U/ml. Penambahan spora dengan jumlah 1253×10^3 spora/ml dengan konsentrasi bulu domba garut 0,5% menghasilkan aktivitas keratinase 6,138 U/ml. Penambahan spora dengan jumlah 1293×10^3 spora/ml dengan konsentrasi bulu domba garut 1% menghasilkan aktivitas keratinase 6,878 U/ml dan penambahan spora dengan jumlah 1297×10^3 spora/ml dengan konsentrasi bulu domba garut 2% menghasilkan aktivitas keratinase 7,105 U/ml. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa semakin banyak jumlah spora dan konsentrasi bulu domba yang ditambahkan maka semakin tinggi aktivitasnya.

Kata kunci: Aktivitas Keratinase, *Trichophyton mentagrophytes*, Bulu Domba Garut.

ABSTRACT

Trichophyton mentagrophytes produces a keratinase enzyme that can be measured in spectrophotometry activity. It has been done using the Garut sheep fleece as substrate. The research design used is experimentation. The amount of fungal spores used is calculated first using a Haemocytometer. The concentration of fleece used is 0,5%, 1%, and 2%. The measured amino acids are calculated by the standard curves of tyrosine/ml that have been known to be concentrated and counted as 1 enzyme unit. The result of standard calibration curve analysis processed with *Microsoft Excel* shows the addition of the number of spores 1075×10^3 spores/ml in the control media resulting in keratinase activity 3.803 U/ml. Increase in the number of spores 1253×10^3 spores/ml with fleece concentration 0.5% produce keratinase activity 6.138 U/ml. Increase the number of spores 1293×10^3 spores/ml with fleece concentration 1% produce keratinase activity 6.878 U/ml and the addition of spores number 1297×10^3 spores/ml with a concentration of fleece 2% resulting in keratinase activity 7.105 U/ml. From these results it can be concluded that the more spores and the concentration of fleece sheep added, the higher the activity.

Keywords: Keratinase Activity, *Trichophyton mentagrophytes*, Garut sheep fleece.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan daerah beriklim tropis. Kondisi geografis dengan suhu dan kelembaban yang tinggi akan memudahkan tumbuhnya jamur, sehingga infeksi yang disebabkan oleh jamur banyak ditemukan.¹ Berdasarkan evaluasi gambaran penyakit dermatofitosis di Divisi Mikologi Unit Rawat Jalan (URJ) Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode tahun 2014 sampai 2016 diperoleh data 63 kasus dermatofitosis dengan persentase 51,2% yang disebabkan jamur *Trichophyton mentagrophytes*.²

T.mentagrophytes merupakan jamur yang bersifat keratinofilik atau memerlukan keratin untuk pertumbuhannya. Jamur ini biasanya menyerang lapisan superfisial tubuh seperti kulit, kuku, rambut, dan tanduk. *T.mentagrophytes* terbagi kedalam tiga kelompok ekologi yaitu menyerang manusia (antropofilik), menyerang hewan (zoofilik) dan hidup di tanah (geofilik).³ Jamur ini mengeluarkan enzim keratinase, sehingga mampu mencerna keratin. Ketika sekresi enzim keratinase pada jamur meningkat maka kemungkinan infeksi menjadi lebih tinggi, oleh sebab itu diperlukan pemeriksaan aktivitas keratinase.⁴

Aktivitas keratinase adalah kemampuan enzim keratinase untuk memecah keratin sehingga menghasilkan asam amino bebas yang dapat diukur secara Spektrofotometri.^{5,6}

Diagnosis laboratorium untuk *T.mentagrophytes* dilakukan dengan pemeriksaan mikroskopik menggunakan KOH 10% serta biakan pada media Sabouraud dextrose agar yang dibubuhi antibiotik untuk menghindari kontaminasi dari mikroorganisme lain, selain itu dapat pula digunakan media Sabouraud dextrose broth yang merupakan modifikasi dari media SDA dengan kandungan dekstrosa yang tinggi dan pH asam mendukung pertumbuhan jamur dan menghambat pertumbuhan

bakteri. Kemudian kultur tersebut diinkubasi pada suhu kamar (25-28°C) selama 7 hari.^{7,8}

Pada penelitian Raheem Ademola dkk pada tahun 2013 penambahan beberapa substrat keratin mamalia memberikan hasil yang meningkat secara signifikan pada aktivitas keratinolitik *T.mentagrophytes*.⁹ Selain itu, pada penelitian Nawaal Saalimah Nuur Hidayah pada tahun 2015, media SDA dengan penambahan 10 mg bulu domba garut dapat mempercepat waktu pertumbuhan dan memperbesar diameter koloni *T.mentagrophytes* dikarenakan bulu domba tersebut mengandung 95% keratin.¹⁰

Pada penelitian sebelumnya penambahan 10 mg keratin bulu domba dilakukan dengan cara menambahkan bulu pada media SDA yang akan digunakan untuk isolasi, kemudian hasil penelitian diamati berdasarkan diameter koloni yang terbentuk, dan hasilnya terjadi percepatan waktu pertumbuhan serta penambahan diameter koloni pada hari ke – 2.¹⁰

Pada penelitian ini substansi keratin yang sama yaitu bulu domba garut ditambahkan pada media Sabouraud dextrose broth kemudian diukur aktivitas keratinasenya menggunakan alat Spektrofotometer UV- Vis.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim keratinase jamur *Trichophyton mentagrophytes* dengan penambahan keratin substrat bulu domba garut.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen, dimana unit penelitian dibagi atas dua kelompok. Kelompok pertama merupakan unit percobaan, dan kelompok kedua merupakan suatu kontrol. Kelompok unit percobaan yaitu kultur jamur *T.mentagrophytes* pada media Sabouraud dextrose broth dengan penambahan keratin bulu domba garut 0,5%, 1%, dan 2% kemudian kelompok

kedua yaitu kelompok kontrol kultur jamur *T.mentagrophytes* pada media Sabouraud dextrose broth tanpa penambahan keratin. Kedua unit percobaan ini diukur aktivitas keratinasenya menggunakan Spektrofotometer UV – Vis dengan panjang gelombang 660 nm.

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah bulu domba yang diperoleh dari 1 ekor spesies domba. Domba yang digunakan yaitu domba garut (*Ovis aries*) yang berasal dari Kampung Cileungsing RW 06 Desa Desakolot, Kecamatan Cilawu, Kabupaten Garut.

Adapun sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bulu domba garut dengan jumlah \pm 5 gram yang diambil dari populasi. Bahan uji yang digunakan adalah strain jamur *Trichophyton mentagrophytes* yang ada di Laboratorium Parasitologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Bandung.

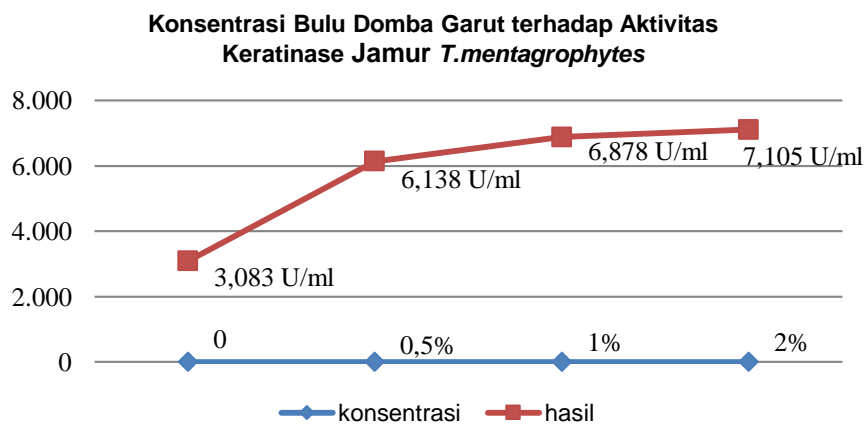
Data yang diperoleh dalam penelitian ini adalah data primer.

Analisis data dilakukan dengan persamaan regresi linier kurva kalibrasi standar yang diolah menggunakan *Microsoft excel*.

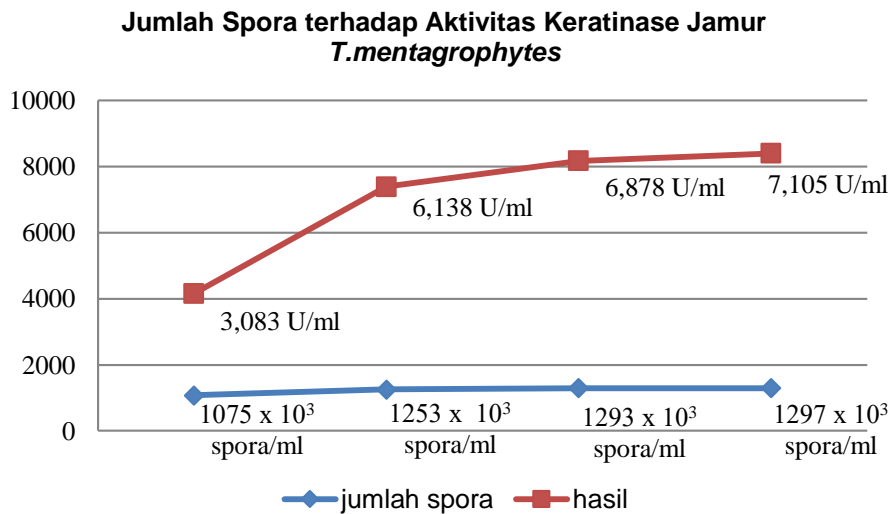
HASIL

Penelitian yang dilakukan meliputi penyediaan inokulum *Trichophyton mentagrophytes*, pembuatan kurva standar tirosin, pengukuran aktivitas keratinase menggunakan alat Spektrofotometer.

Pengukuran aktivitas keratinase dilakukan dengan mengukur filtrat hasil inokulasi jamur *T.mentagrophytes* pada media sabouraud dextrose broth yang ditambahkan keratin substrat bulu domba garut. Filtrat tersebut ditambahkan reagen pereaksi untuk mengukur aktivitas keratinasenya, kemudian diukur pada panjang gelombang 660 nm.⁹



Grafik 1. Konsentrasi Bulu Domba Garut terhadap Aktivitas Keratinase Jamur *Trichophyton mentagrophytes*.



Garfik 2. Jumlah Spora terhadap Aktivitas Keratinase Jamur *Trichophyton mentagrophytes*

Dari Grafik 1 dan Grafik 2 rata-rata aktivitas keratinase yang didapat pada kontrol dengan penambahan 1075x 10³ spora/mL menghasilkan 3,083 U/mL, pada konsentrasi 0,5% dengan penambahan 1253x 10³ spora/mL didapatkan hasil 6,138 U/mL, pada konsentrasi 1% dengan penambahan 1293x 10³ spora/mL didapatkan hasil 6,878 U/mL, dan pada konsentrasi 2% dengan penambahan 1297 x 10³ spora/mL didapatkan hasil 7,105 U/mL.

PEMBAHASAN

Hubungan host - parasit yang semakin berkembang untuk manifestasi klinik tergantung pada beberapa hal salahsatunya adalah produksi enzim. Enzim adalah substansi yang dihasilkan oleh sel hidup dan berperan sebagai katalisator pada reaksi kimia organisme. Katalisator adalah substansi yang mempercepat reaksi tetapi pada hasil reaksi, substansi tersebut tidak berubah. Aktivitas enzim sangat spesifik karena pada umumnya enzim tertentu hanya akan mengkatalisis satu reaksi saja. Produksi enzim sangat dipengaruhi oleh jenis mikroorganisme penghasil enzim, substrat dan faktor lingkungan seperti suhu, pH,

komposisi media pertumbuhan, serta waktu inkubasi^{6,11,12}

Eksoenzim yang diproduksi oleh dermatofita yaitu keratinase, lipase, fosfolipase, elastase, kolagenase, dan protease. Pada penelitian ini mikroorganisme yang diuji adalah jamur *Trichophyton mentagrophytes* yang bersifat keratinofilik sebagai mikroorganisme penghasil enzim keratinase. Keratinase termasuk kelompok enzim protease yang dapat menghidrolisis keratin dengan memecah ikatan sistin disulfida pada keratin, sehingga memainkan peranan penting dalam perombakan keratin menjadi protein sederhana^{11, 13}

Pengukuran aktivitas enzim keratinase ini didasarkan pada reaksi hidrolisis asam amino yang direaksikan dengan reagen Folin. Aktivitas enzim dinyatakan oleh unit L-tirosina yang dibebaskan selama reaksi.¹⁴ Inokulum jamur yang digunakan yaitu jamur yang sudah dikultur selama 6 hari pada suhu 28°C. Suhu aktivitas keratinase yang digunakan pada penelitian ini adalah 35°C.dengan pH netral – basa.⁹ Media yang digunakan untuk menumbuhkan inokulum adalah media Sabouraud dextrose broth yang mengandung pepton sebagai sumber nitrogen dan dekstrose sebagai sumber glukosa.¹⁵

Pada penelitian ini aktivitas keratinase pada media broth tanpa penambahan bulu domba (kontrol) menghasilkan aktivitas enzim dikarenakan pepton juga merupakan senyawa turunan protein sehingga asam aminonya dapat terhidrolisis dan terukur.

Konsentrasi bulu domba sebagai substrat yang ditambahkan sangat berpengaruh terhadap aktivitas keratinase. Sebelum membentuk produk, enzim akan berikatan dengan substrat pada sisi aktifnya. Selama substrat masih ada, maka keratinase akan terus bereaksi mengikat substrat. Sehingga semakin besar konsentrasi bulu domba yang ditambahkan maka semakin tinggi aktivitas keratinasinya.

Spora jamur apabila mengenai rambut, kuku, bulu atau jenis substrat keratin lainnya akan berkecambah, bereproduksi dan membentuk filamen.³ Pada saat pembuatan suspensi inokulum jamur ada beberapa fragmen hifa yang mengganggu, sehingga suspensi sangat sulit homogen, untuk menghomogenkannya digunakan vortex dan pecahan kaca steril. Pada saat penghitungan spora menggunakan alat Hemositometer juga terdapat beberapa fragmen hifa yang mengganggu lapang pandang oleh sebab itu untuk pembuatan suspensi jamur diperlukan penyaringan terlebih dahulu menggunakan kertas Whatman no.40 agar suspensi yang didapat benar – benar suspensi yang mengandung spora seluruhnya¹¹

Setelah suspensi jamur diinokulasikan pada media Sabouraud dextrose broth, kemudian diambil filtratnya lalu direaksikan dengan larutan pereaksi yang telah disiapkan sebelumnya. Pertama pada saat penambahan larutan PBS pH 7,4 tujuannya agar membuat suasana basa kemudian ditambahkan casein 1%, karena casein sangat sukar larut maka diperlukan homogenisasi yang kuat. Kemudian di inkubasi selama 1 jam pada suhu 35°C sesuai dengan suhu aktivitas keratinase. Setelah di inkubasi, diambil filtratnya yang

kemudian ditambahkan larutan TCA 20% untuk menghentikan laju reaksi. Kemudian sampel di filtrat kembali dan ditambahkan sodium carbonate 20% untuk membuat suasana larutan kembali basa. Selanjutnya penambahan reagen Folin - Ciocalteu sebagai reagen kolorimetrik yang menghasilkan warna biru. Semakin pekat warna biru yang terbentuk maka semakin pekat pula konsentrasi yang dihasilkan.⁹

SIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

Penambahan spora dengan jumlah 1075×10^3 spora/mL pada media kontrol menghasilkan aktivitas keratinase 3,803 U/mL. Penambahan spora dengan jumlah 1253×10^3 spora/mL dengan konsentrasi bulu domba garut 0,5% menghasilkan aktivitas keratinase 6,138 U/mL. Penambahan spora dengan jumlah 1293×10^3 spora/mL dengan konsentrasi bulu domba garut 1% menghasilkan aktivitas keratinase 6,878 U/mL dan penambahan spora dengan jumlah 1297×10^3 spora/mL dengan konsentrasi bulu domba garut 2% menghasilkan aktivitas keratinase 7,105 U/mL. Sehingga semakin tinggi konsentrasi substrat bulu domba garut yang digunakan maka semakin tinggi aktivitas keratinase jamur *Trichophyton mentagrophytes*

Perlu dilakukan penelitian aktivitas keratinase jamur *Trichophyton mentagrophytes* dengan optimasi beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim seperti suhu, pH, dan waktu inkubasi. Kemudian perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan aktivitas keratinase metode Spektrofotometri dengan metode isolasi pada media mineral khusus untuk aktivitas keratinase.

DAFTAR RUJUKAN

1. Kurniati dan SP Cita Rosita., 2008. *Etiopatogenesis Dermatofitosis.*

- Dept. SMF Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin FK UNAIR RSU Dr. Soetomo, Surabaya. Vol. 20.
2. Devy Dyatiara dan Ervianti Evy., 2018. *Studi Retrospektif: Karakteristik Dermatofitosis*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Soetomo, Surabaya. Vol. 30.
 3. Oyeka, C.A., 2000. *Trichophyton mentagrophytes A Keratinophilic Fungus*. Departemen Mikrobiologi Universitas Awka, Bilbao, Spanyol.
 4. Venkatesan, G dkk., 2010. *Is The Difference In Keratinase Activity Of Dermatophytes To Different Keratinaceous Substrates An Attribute Of Adaptation To Parasitism?* Egyptian Dermatology Online Journal, Malaysia, Vol. 6.
 5. Setyabudi, Rizki Bagus., 2015. *Aktivitas Keratinofilik Aspergillus Niger Pada Tepung Bulu Ayam Menggunakan Solid State Fermentation (SSF)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
 6. Desi, Mitra., 2002. *Aktivitas Keratinase Bacillus Licheniformis Dalam Memecah Keratin Bulu Ayam*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB. Bogor.
 7. Sutanto, Inge, dkk., 2008. *Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat*. Jakarta, Badan Penerbit FKUI, 978-979-496-573-3.
 8. Khusnul, Kurniawati Indri dan Hidana Rudy., 2018. *Isolasi dan Identifikasi Jamur Dermatofita Pada Sela - Sela Jari Kaki Petugas Kebersihan di Tasikmalaya*. Stikes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Vol. 18.
 9. Ademola, Raheem, dkk. 2013. *Comparative Study Of Keratinolytic Activities Of Dermatophytes In Various Keratin Substrat*. 117, Nigeria : OMICS Publishing Group, Vol. 2. DOI:10.4172/2161-0517.1000117.
 10. Lee, Hanna, dkk., 2014. *Human Hair Keratin And Its-Based Biomaterials For Biomedical Applications*. 4, Seoul: Tissue Engineering And Regenerative Medicine, Vol. 11. 10.1007/S13770-014-0029-4.
 11. Kadhim K Sara, Al – Janabi Jawad K, Al – Hamdani H Adnan., 2015. *In vitro, determination of optimal conditions of growth and proteolytic activity of clinical isolates of Trichophyton rubrum*. Babylon, Iraq. J Contemp Med Sci. Vol. 1, No. 3,ISSN 2413-0516
 12. Robinson, Peter K., 2015. *Enzymes: principles and biotechnological applications*. 1 - 41, U.K : Portland Press Limited, Vol. 59. doi: 10.1042/BSE0590001.
 13. Suh, Hyung Joo and Lee, Hyo Ku., 2001. *Characterization of a Keratinolytic Serine Protease from Bacillus subtilis KS-1*. 2, Korea : Plenum Publishing Corporation, Vol. 20. 0277-8033/01/0200-016519.50/0.
 14. El-Said, A. H. M., 2018. *Studies on Fungi Isolated from Dermatormycoses Patients in Egypt*. 3, Egypt: The Korean Society of Mycology, Vol. 30. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2002.30.3.154>.
 15. Sabouraud Dextrose Broth (Sabouraud Liquid Medium) : Himedia Laboratories, 2018.