

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
PRAKATA	xi
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Pangan Fungsional.....	6
B. Enzim Fibrinolitik	7
1. Sistem Fibrinolitik.....	7
2. Sumber Pangan	9
3. Sumber Non-Pangan	9
C. Tempe.....	9
1. Jenis Tempe.....	11
2. Ragi tempe	12
D. Purifikasi Enzim.....	13
1. Presipitasi	13
2. Dialisis	14
3. <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	15
E. Enzim Tripsin	16
F. High-Resolution Mass Spectrometry	16

BAB III LANDASAN TEORI DAN HIPOTESIS	20
A. Landasan Teori.....	20
B. Hipotesis	21
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	23
A. Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	23
B. Alat Penelitian.....	23
C. Bahan Penelitian.....	23
D. Rancangan Penelitian	24
E. Metode	25
1. Pembuatan Homogenate	25
2. Purifikasi Parsial Enzim (Modifikasi Hu <i>et al.</i> , 2019)	25
3. <i>In Vitro Model Clot Lysis</i> (Modifikasi Prasad <i>et al.</i> , 2006)	26
4. Elektrophoresis SDS-PAGE 12% (Kim, 2000; Laemmli, 1997; Choi <i>et al.</i> , 2002)	26
5. <i>SDS-fibrin zymography in gradient Polyacrylamide</i> (SDS-FZGP) 5-20% (Choi <i>et al.</i> , 2001)	27
6. <i>In Gel Digestion</i>	29
7. Analisa Peptida Mikroorganisme Penghasil Enzim Fibrinolitik	30
8. Aktivitas Fibrinolitik Protease (Deepak <i>et al.</i> , 2008)	32
9. Aktivitas Fibrinolitik Enzim Terhadap Suhu dan pH (Modifikasi Afifah ^b <i>et al.</i> , 2014; Choi <i>et al.</i> , 2011; Modifikasi Sajuthi <i>et al.</i> , 2010)	33
10. Aktivitas Fibrinolitik Enzim Terhadap Inhibitor dan Ion Logam (Modifikasi Hu <i>et al.</i> , 2019)	34
F. Analisa Data	35
G. Jadwal Penelitian	36
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A. Aktivitas Enzim Homogenate Tempe Kedelai dengan Variasi Waktu Fermentasi	37
B. Purifikasi Parsial Enzim Fibrinolitik Protease.....	40
C. Karakterisasi Enzim Fibrinolitik Protease	43
1. Pengaruh Suhu terhadap Aktivitas Enzim Fibrinolitik Protease	44
2. Kestabilan Enzim Fibrinolitik Protease pada Variasi Suhu	46
3. Pengaruh pH terhadap Aktivitas Enzim Fibrinolitik Protease	48
4. Kestabilan Enzim Fibrinolitik Protease pada Variasi pH.....	51
5. Pengaruh Ion Logam dan Inhibitor terhadap Aktivitas Enzim Fibrinolitik Protease dari Tempe Kedelai	53

D. <i>In Vitro</i> Blood Clot Lysis Model	62
E. Elektroforesis SDS PAGE dan SDS-FZGP 5-20% (fibrin zimography).....	65
F. In Gel Digestion dan LC-HRMS (<i>Peptide Sequence</i>)	68
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	74
A. Kesimpulan	74
B. Saran.....	75
RINGKASAN	76
SUMMARY	79
DAFTAR PUSTAKA	83
LAMPIRAN.....	90

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Diagram dari Sistem Fibrinolitik.....	8
Gambar 2. Tempe.....	10
Gambar 3. <i>Rhizopus</i> (a) <i>R. oryzae</i> (b) <i>R. stolonifer</i>	12
Gambar 4. Proses Dialisis	14
Gambar 5. Pemotongan Ikatan Peptida oleh Tripsin.....	16
Gambar 6. Skema Penelitian	24
Gambar 7. <i>Loading Pump</i>	31
Gambar 8. Aktivitas Spesifik Enzim Pada Homogenate Tempe dengan Variasi Waktu Fermentasi	37
Gambar 9. Suhu Optimum Enzim Fibrinolitik Tempe Kedelai	43
Gambar 10. Grafik Kinerja Enzim Terhadap Suhu.....	45
Gambar 11. Kestabilan Enzim Fibrinolitik Tempe Kedelai.....	46
Gambar 12. Skema Penelitian	48
Gambar 13. pH Optimum Enzim Fibrinolitik dari Tempe Kedelai	50
Gambar 14. Kestabilan pH Enzim Fibrinolitik dari Tempe Kedelai	51
Gambar 15. (A) Grafik Persentase Degradasi Enzim Fibrinolitik dari Tempe Kedelai (B) Lisis Fibrin Clot Tikus	53
Gambar 16. Coagulation and Fibrinolytic Cascade	65
Gambar 17. Hasil SDS-Page 12% dan SDS-FZGP 5-20 %.....	67
Gambar 18. Spektrum dari peptida CVLISVVRLRIGGPLLALAVVWLMR.....	72

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Kandungan Gizi Kedelai dan Tempe Kedelai.....	11
Tabel 2. Berbagai Jenis Tempe di Indonesia	11
Tabel 3. Komponen Penyusun Fibrin ZImografi	28
Tabel 4. Tabel Purifikasi Parsial Enzim Fibrinolitik Protease dari Tempe Kedelai	41
Tabel 5. Aktivitas Enzim Fibrinolitik Terhadap Paparan Ion Logam & Inhibitor.....	54
Tabel 6. Hasil Analisa Sequence Peptida (UHPLC-HRMS)	68
Tabel 7. Masa Peptida DVLISVVLRLIGGPLLALAVVWLMR	71
Tabel 8. Masa Peptida SALFIIIFR	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Aktivitas Enzim (FU/ml), Total Aktivitas, Aktivitas Spesifik (FU/Mg), <i>Yield</i> (%) dan <i>Purification Fold</i>	84
Lampiran 2. <i>Bradford Assay</i>	85
Lampiran 3. Perhitungan Aktivitas Enzim Pada Homogenate Tempe Kedelai	86
Lampiran 4. Tabel Purifikasi.....	87
Lampiran 5. <i>In Vitro Blood Clot Lysis</i>	88
Lampiran 6. Perhitungan Suhu Optimum	89
Lampiran 7. Perhitungan pH Optimum	90
Lampiran 8. Perhitungan Kestabilan Suhu.....	91
Lampiran 9. Perhitungan Kestabilan pH	92
Lampiran 10. Perhitungan Aktivitas Enzim Terhadap Paparan Ion Logam Dan Inhibitor.....	93
Lampiran 11. Tabel Pemekatan Ammonium Perhitungan SDS PAGE dan SDS-FZGP 5-20%	95
Lampiran 12. Analisa Masa Molekul Protein Dengan SDS-PAGE (Modifikasi Metode Laemmli, 1997; Yin <i>Et Al.</i> , 2010)	96
Lampiran 13. Komposisi Bahan.....	98
Lampiran 14. Surat Keterangan Kelaikan Etik (<i>Ethical Clearance</i>)	100
Lampiran 15. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (Kestabilan pH)	103
Lampiran 16. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (pH Optimum)	104
Lampiran 17. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (Kestabilan Suhu).....	105
Lampiran 18. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (Suhu Optimum).....	106
Lampiran 19. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (Ion Logam dan Inhibitor).....	107
Lampiran 20. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (<i>In Vitro Blood Clot Lysis Model</i>)	108
Lampiran 21. Hasil Pengolahan data IBM SPSS 25 (<i>Purification State</i>).....	109
Lampiran 22. Optimasi Konsentrasi Ammonium Sulfat.....	112
Lampiran 23. Lambang asam amino.....	113