Presenter: Nur Hidayati, S.Tr.AK. M.Kes
Proteolytic and Clot Lysis Activity Screening of Crude Proteases Extracted from Tissues and Bacterial Isolates of Holothuria Scabra

Nur Hidayati

MAGISTER SAINS LABORATORIUM MEDIS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG
BAB I. PENDAHULUAN
Latar Belakang

WHO, Global Atlas on Cardiovascular Diseases Prevention and Control

Bangladesh
CVD = 17%
Diabetes = 3%
Kanker = 10%
Cedera = 9%
Pernafasan Kronik = 11%
PTM lainnya = 18%

Myanmar
CVD = 25%
Diabetes = 3%
Kanker = 11%
Cedera = 11%
Pernafasan Kronik = 9%
PTM lainnya = 11%

Nepal
CVD = 22%
Diabetes = 3%
Kanker = 8%
Cedera = 10%
Pernafasan Kronik = 13%
PTM lainnya = 14%

Indonesia
CVD = 37%
Diabetes = 6%
Kanker = 13%
Cedera = 7%
Pernafasan Kronik = 9%
PTM lainnya = 10%

Sri Lanka
CVD = 40%
Diabetes = 7%
Kanker = 10%
Cedera = 14%
Pernafasan Kronik = 8%
PTM lainnya = 10%

Thailand
CVD = 29%
Diabetes = 4%
Kanker = 17%
Cedera = 11%
Pernafasan Kronik = 9%
PTM lainnya = 12%

Costantino et al., 2016
J Physiol 594.8 (2016) pp 2061–2073
CVD & Trombosis

Patofisiologi:
Pembentukan gumpalan darah (trombus) oleh fibrin yang melekat pada dinding pembuluh darah yang berlebihan

**Akumulasi Fibrin** → aliran darah terganggu → penyumbatan pembuluh darah → otot jantung dan otak kekurangan → berakhir dengan kematian

**Fibrin**
Komponen protein utama trombus → dibentuk dari fibrinogen oleh trombin

Trombosis & Covid 19

Pada kasus infeksi akut Covid-19 yang saat ini menjadi pandemi dunia akibat infeksi virus Sars-Cov-2 terjadi trombosis (Levi et al., 2020).

Coagulation abnormalities and thrombosis in patients with COVID-19

May 11, 2020
https://doi.org/10.1016/S2352-3026(20)30145-9
Terapi CVD

1. Operasi untuk menghilangkan sumbatan

2. Obat (t-PA, streptokinase, urokinase) yang bekerja melisiskan fibrin
MASALAH DALAM PENGOBATAN TROMBOSIS

Urokinase, Plasminogen jaringan (t-PA), streptokinase, natokinase

Kelemahan obat:
- mahal,
- termolabil,
- spesifitas rendah,
- perdarahan gastrointestinal,
- reaksi alegi

Akhtaret et al., 2017; Nailufar et al., 2016
KEUNGGULAN BAKTERI SEBAGAI SUMBER PROTEASE

- Bernilai ekonomis
- Pertumbuhan lebih cepat
- Kondisi produksi tidak bergantung pada musim
- Aktivitas tinggi

Holothuria scabra kaya protein (substrat enzim protease)

Kandungan proteasenya juga tinggi

| Spesies Tripang         | Kadar Protein (max. % b/b) | Sumber                  |
|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Holothuria scabra       | 76.64                     | Karnila et al., 2011    |
| Actinopygama mauritiana | 67.00                     | Haideret al., 2015      |
| A. mauritiana           | 63.73                     | Wen et al., 2010        |
| H. fuscogilva           | 58.21                     | Wen et al., 2010        |
| H. fuscopunctata        | 50.48                     | Wen et al., 2010        |
| S. Japonicus            | 48.10                     | Yu et al., 2015         |
| H. Nobilis              | 42.54                     | Oedjoe, 2017            |
| H. Atra                 | 42.32                     | Oedjoe, 2017            |
| H. Edulis               | 41.61                     | Oedjoe, 2017            |
| H. Impatiens            | 39.94                     | Oedjoe, 2017            |

Katz et al., 2019
Fungsi Bakteri dalam Organ pencernaan tripang

1. Berperan dalam pencernaan makanan.
2. Proses degradasi
3. Proses regenerasi pada holothurian yang melibatkan enzim *serine, cysteine* dan *metallo-protease*
4. Menjadi mikroflora didalam usus.

(Lamash dan Dolmatov, 2013; Hatmanti dan Purwanti, 2011).

Peluang memperoleh bakteri jenis baru yang berpeluang sebagai tromb
ENZIM PROTEASE FIBRINOLITIK

Melibatkan atom logam dalam proses katalisis

Memiliki residu serin pada sisi aktifnya

Metallo-protease

Protease serin

Mampu mendegradasi fibrin pada trombus
Manfaat Enzim Protease Fibrinolitik

Antitrombosis (Bordbar et al., 2011; Kumar et al., 2019)

MEKANISME
- Mendegradasi fibrin secara langsung
- Mampu mencegah penggumpalan darah, dengan melisiskan trombin dan meningkatkan aktivitas fibrinoplasma serta produksi t-PA22-24

Pentingnya penelitian ini --> Mencari sumber enzim protease fibrinolitik baru dari bakteri pada organ pencernaan Holothuria scabra

Peluang memperoleh enzim protease jenis baru/ bakteri jenis baru

Protease serin/Metalloprotease
| No. | Terapi Fibrinolitik pada CVD                                                                 | Sumber Enzim Fibrinolitik                        | Author’s                         | Country   |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------|-----------|
| 1   | Infarkmiokard                                                                               | Cordyceps militaris                              | Liu, et al. 2016                 | China     |
| 2   | Miokard akut infark, penyakit jantung iskemik, dan tekanan darah tinggi                      | Cheonggukjang                                  | Jeong, et al. 2015               | Korea     |
| 3   | Kardiovasuklar (trombosis) dan serebrovasuklar                                              | Doenjang                                       | Yao, et al. 2017                 | Korea     |
| 4   | Infark miokard akut, tekanan darah tinggi, jantung iskemik, dan stroke.                     | Jamur Pleurotus ostreatus                      | Liu, et al. 2014                 | Jepang    |
| 5   | Trombosis                                                                                   | Jamur food-grade, Neurospora sitophila          | Liu, et al. 2016                 | China     |
| 6   | Stroke dan penyakitarterikerokoroner                                                         | Kimchi                                         | Anh et al, 2014                  | Vietnam   |
| 7   | Infarkmiokardakut dan otakinfark                                                            | Cheonggukjang                                  | Heo et al, 2013                  | Korea     |
| 8   | Emboliparai, mio-infarkkardial, trombosis vena dalam                                        | Douchi                                         | Zhang et al, 2013                | China     |
| 9   | Miokard akut infark dial, penyakit jantung iskemik, vascular perifer penyakit, tekanan darah tinggi, dan stroke | Beras India                                    | Vijayaraghavan and Vincent, 2014 | India     |
| 10  | Serangan jantung, trombosis                                                                  | Kedelai                                       | Devaraj, 2018                     | India     |
| 11  | Trombus dan penyakit kardiovasukuler pembuluh darah                                         | Chickpeas                                     | Wei et al, 2011                   | China     |
| 12  | Thrombosis                                                                                  | Ikan Fermentasi                                | Prihanto et al, 2013             | Indonesia |
| 13  | Trombosis                                                                                  | natto-red bean                                 | Chang et al, 2012                 | Taiwan    |
| 14  | Penyakit jantung dan stroke                                                                  | Gembus                                         | Afifah et al, 2014                | Indonesia |
| 15  | Hipertensi, infarkmiokard, penyakit jantung koroner, atau stenokardia                        | Douchi                                         | Hu et al, 2019                    | China     |
| 16  | Thrombosis                                                                                  | Kotoransapi                                    | Vijayaraghavan et al, 2016       | USA       |
| No | Spesies                        | Penerapan            | Sampel | Negara      | Sumber, Tahun        |
|----|--------------------------------|----------------------|--------|-------------|----------------------|
| 1  | Stenotrophomonassp.            | Agen trombolisis     | Oncom  | Indonesia   | Stephani et al., 2017|
| 2  | Bacillus sp.                   | Agen trombolisis     | Beras  | Saudi Arabia| Almalki et al., 2017 |
|    |                                |                      | Fermentasi |            |                      |
| 3  | B. subtilis                    | Agen trombolisis     | Douchi | Cina        | Hu et al., 2019      |
| 4  | B. licheniformis               | Agen trombolisis     | Oncom  | Indonesia   | Nailufar et al., 2016|
|    | B. cereus                      |                      |        |             |                      |
|    | Stenotrophomonas sp.           |                      |        |             |                      |
| 5  | B. Amyloliquefaciens           | Agen trombolisis     | Kedelai| India       | Devaraj et al., 2018 |
| 6  | B. amyloliquefaciens           | Agen trombolisis     | Doenjang| Korea      | Yao et al., 2017     |
| 7  | B. subtilis                    | Agen fibrinolitik    | Jeotgal| Korea       | Yao et al., 2017     |
RUMUSAN MASALAH

- Adakah enzim protease fibrinolitik dari jaringan tubuh maupun bakteri organ pencernaan teripang pasir (Holothuris scabra)
- Bagaimana karakteristik crude extract enzyme protease fibrinolitik dari jaringan dan bakteri pencernaan H. scabra pada sampel darah

TUJUAN UMUM PENELITIAN

- Mengetahui adanya aktivitas enzim protease fibrinolitik secara in vitro dari jaringan tubuh dan bakteri pada organ pencernaan H. scabra yang memenuhi karakteristik sebagai agen anti trombosis

TUJUAN KHUSUS PENELITIAN

- 1. Mendapat crude extract enzim protease dari jaringan H. scabra
- 2. Mengisolasi dan memurnikan koloni bakteri penghasil protease fibrinolitik dari organ pencernaan H. scabra
- 3. Melakukan uji aktivitas ekstrak kasar (crude extract) enzim dari jaringan H. scabra dan dari bakteri protease fibrinolitik pada organ pencernaan H. scabra
- 4. Mendapatkan enzim protease berkarakteristik fibrinolitik in vitro dari jaringan dan bakteri organ pencernaan H. scabra.

MANFAAT PENELITIAN: Peluang mendapatkan sumber baru enzim protease fibrinolitik dan bakteri penghasil protease fibrinolitik baru bagian dari kekayaan alam Indonesia
Characterization of protease activity from the digestive tract and tentacles of *Isostichopus fuscus* sea cucumber

AC Hernández-Sámano¹, X Guzmán-García², R García-Barrientos³, F Ascencio-Valle⁴, A Sierra-Beltrán⁴, I Guerrero-Lagarreta¹

¹Biotechnology Department, Universidad Autónoma Metropolitana, 09340 Mexico City, Mexico

Bacterial Proteases as Thrombolytics and Fibrinolytics

Taqiyah Akhtar¹, Md. Mozammel Hoq² and Md. Abdul Mazid¹

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Dhaka, Dhaka-1000, Bangladesh

Diversity and function of aerobic culturable bacteria in the intestine of the sea cucumber *Holothuria leucospilota*

Xiaochi Zhang,¹ Tomomi Nakahara,¹ Masayuki Miyazaki,² Yuichi Nogi,² Shigeto Taniyama,³ Osamu Arakawa,³ Tetsushi Inoue,³ and Toshiaki Kudo³*

Samano et al., 2017

Akhtar et al., 2017

Zhang et al., 2012
BAB IV. METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Deskriptif analitik eksperimental dengan desain pre-test dan post-test yang didukung studi pustaka

Tempat dan Waktu Penelitian

1. Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Semarang
2. Laboratorium Bioteknologi Kementrian Kelautan dan Perikanan Jakarta

Waktu Penelitian: Bulan Juni – September 2020

Variabel Penelitian

Variabel bebas: Crude Ekstrak enzim protease jaringan dan bakteri organ pencernaan *H. scabra*.

Variabel terikat:
1. Aktivitas enzim protease fibrinolitik dari orgn dan bakteri organ pencernaan *H. scabra*
2. Nilai parameter uji trombolitik pada sampel darah hasil perlakuan dengan ekstrak enzim tersebut.
Metode Penelitian
Aktifitas iringan *H. scabra*

1. *H. Scabra* cuci bersih, Bedah pisahkan organ pencernaan, bagi 3 bagian, blender sampai halus
2. Buat *crude ekstrak enzim*
3. Lakukan Prosedur aktifitas *crude ekstrak enzim dengan 2 perlakuan*:
   - *Di fortexs dan tanpa fortexs*
4. Ukur aktifitas *crude ekstrak enzim dengan photometer*
### Table 1. Activity of crude protease extracted from *H. scabra* tissues with tyrosine as standard

| No. | Treatment   | Absorbance at 600 nm* (average) | Relative activity (U/mL) |
|-----|-------------|---------------------------------|--------------------------|
|     |             | Tentacle | Ventral | Posterior | Control (tyrosine) |               |
| 1   | Vortex      | 0.0791   | 0.0759  | 0.0850    | 0.0994             | -1505.1170    |
| 2   | No vortex   | 0.0754   | 0.0897  | 0.0881    | 0.0539             | 3103.3041     |

*Measurement was performed in 6 repetitions
Metode Penelitian

Isolasi dan skrening bakteri penghasil enzim protease fibrinolitik

Ditimbang seberat 7g + garam steril 0,210g + gula aren steril 0,210g dimasukkan botol steril tutup rapat. difermentasi selama 72 jam (3 hari) pada suhu 25 °C

Dikultur pada media Fibrin plate
Inkubasi 3-5 hari 37° C

Diwarnai lugol 5%

Amati dan ukur zona bening

Dikultur pada media Susu Skim Agar. Inkubasi 24 jam 37° C

Amati dan ukur zona bening

Pengecatan Gram

Amati morfologi koloni dengan karakteristik yang berbeda

Di tanam pada media *nutrien agar* dari tanpa pengenceran, 10⁻¹ sampai 10⁻⁵

Lakukan purifikasi di media NA inkubasi 24 jam 37° C sampai mendapat koloni murni (3x)

Inkubasi 24 jam 37° C
Pembuatan **crude ekstrak enzim**

Bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik

**Skim milk broth**

*Skim Milk Borth:* (pepton 5 g/L, beef extract 1,5 g/L, yeast extract 1,5 g/L, sodium chloride 35 g/L, dan kasein 10 g/L)

Centrifuge suhu 40 C 3000 rpm 10 menit

Gunakan untuk uji trombolisis

**crude ekstrak enzim**
Uji Aktifitas Trombolisis

Masukkan darah 600 µl dalam microtube biarkan selama 30 menit sampai benar-benar menggumpal.

Sentrifugasi sampel 3000 rpm selama 10 menit.

Serum diambil sampai benar-benar habis.

Tambahkan gumpalan darah dengan:
1. Blangko negatif + aquades 100 µl
2. Blangko positif + nattokinase 100 µl
3. Masing-masing sampel + crude ekstrak enzim 100 µl
4. Inkubasi 37° C selama 90 menit

Prosentase bekuan lisis = Selisih berat sebelum dan sesudah perlakuan

Berat sebelum perlakuan

X100%

Timbang berat gumpalan awal

Dhamodharan et al., 2019; Prasad et al., 2006; Qingqin et al., 2013; Inayah, 2015
HASIL PENELITIAN

Isolasi bakteri dari produk fermentasi organ pencernaan teripang pasir

Dihasilkan 12 isolat murni

1) HSFI-1  5) HSFI-5  9) HSFI-9
2) HSFI-2  6) HSFI-6  10) HSFI-10
3) HSFI-3  7) HSFI-7  11) HSFI-11
4) HSFI-4  8) HSFI-8  12) HSFI-12

Uji proteolitik pada media Skim Milk Agar

Hasil pengukuran index proteolitik (2 Isolat HFSI-1 dan HSFI-7 tidak membentuk zona bening)

1) HSFI-1 = 0.00  5) HSFI-5 = 1.13  9) HSFI-9 = 0.37
2) HSFI-2 = 0.38  6) HSFI-6 = 0.65  10) HSFI-10 = 0.55
3) HSFI-3 = 3.76  7) HSFT-7 = 0.00  11) HSFI-11 = 0.78
4) HSFI-4 = 0.78  8) HSFI-8 = 0.64  12) HSFI-12 = 0.71

Sebanyak 10 isolat bakteri

Dikultur media Skim Milk

Isolasi crude

Uji trombolisis

Prosentasi lisis bekuan darah (%)

1) HSFT-1 = 26.06  4) HSFT-4 = 62.03  7) HSFT-7 = 7.78  10) HSFT-10 = 12.47
2) HSFI-2 = 5.24  5) HSFI-5 = 84.71  8) HSFI-8 = 31.28
3) HSFT-3 = 19.30  6) HSFT-6 = 32.94  9) HSFT-9 = 46.70

Uji Fibrinolitik

Indeks Fibrinolitik
HSFI-3 = 11.6; HSFI-4 = 4.0
HSFT-5 = 7.0; HSFI-6 = 3.0
HASIL PENELITIAN

Isolasi bakteri dari produk fermentasi organ pencernaan *H. scabra*

1) HSFI-1
2) HSFI-2
3) HSFI-3
4) HSFI-4
5) HSFI-5
6) HSFI-6
7) HSFI-7
8) HSFI-8
9) HSFI-9
10) HSFI-10
11) HSFI-11
12) HSFI-12

12 Isolate Bakteri di Uji aktivitas proteolitik pada media *Skim Milk Agar*

Hasil pengukuran indeks proteolitik

1) HSFI-1 = 0.00
2) HSFI-2 = 0.38
3) HSFI-3 = 3.76
4) HSFI-4 = 0.78
5) HSFI-5 = 1.13
6) HSFI-6 = 0.65
7) HSFI-7 = 0.00
8) HSFI-8 = 0.64
9) HSFI-9 = 0.37
10) HSFI-10 = 0.55
11) HSFI-11 = 0.78
12) HSFI-12 = 0.71

aktivitas proteolitik terbaik:
1. HSFI-3 = 3.76
2. HSFI-5 = 1.13
3. HSFI-4 = 0.78
4. HSFI-11 = 0.78

Sebanyak 10 isolat bakteri proteolitik Dikultur media *Skim Milk Broth*

Isolasi crude enzim

Uji aktivitas trombolitik
**HASIL PENELITIAN**

### Prosentasi lisis bekuan darah (%)

|   |   |   |   |
|---|---|---|---|
| 1) | HSFI-2 | = | 26.06 |
| 2) | HSFI-3 | = | 5.24 |
| 3) | HSFI-4 | = | 19.30 |
| 4) | **HSFI-5** | = | **62.03** |
| 5) | HSFI-6 | = | 32.94 |
| 6) | HSFI-8 | = | 84.72 |
| 7) | HSFI-9 | = | 7.78 |
| 8) | HSFI-10 | = | 31.28 |
| 9) | HSFI-11 | = | 46.70 |
| 10) | HSFI-12 | = | 12.47 |

**Lima isolat denga aktifitas trombolitik tinggi dilakukan validasi dengan pengulangan 7x**

### Indeks Fibrinolitik

- HSFI-3 = 11.6
- HSFI-4 = 4.0
- HSFI-5 = 7.0
- HSFI-6 = 3.0

### Table

| Kode | Microtube | Tabung |
|------|-----------|--------|
| uang | Nattokinase | HSFI-5 | Nattokinase | HSFI-5 |
| 1 | 48.39 | 60.44 | 87.22 | 79.67 |
| 2 | 63.16 | 81.13 | 82.30 | 86.94 |
| 3 | 78.39 | 74.44 | 79.20 | 81.44 |
| 4 | 64.41 | 70.32 | 80.20 | 83.37 |
| 5 | 63.15 | 64.41 | 77.30 | 83.08 |
| 6 | 60.36 | 64.93 | 78.70 | 72.50 |
| 7 | 64.26 | 62.04 | 80.40 | 69.24 |

**Rerata**

- 63.16
- 68.24
- 80.76
- 79.46
| No. | Kode Isolat | Bentuk   | Tepi    | Ukuran (mm) | Warna | Elevasi   | Konsistensi | Karakteristik Koloni pada Pewarnaan Gram                      |
|-----|-------------|----------|---------|-------------|-------|------------|--------------|---------------------------------------------------------------|
| 1   | HSFI-1      | circular | entire  | 1           | cream | convex     | halus        | Coccus Gram-negatif bergerombol                               |
| 2   | HSFI-2      | circular | undulat | 8           | putih | umbonat   | halus        | Basil berspora Gram-positif berderet                         |
| 3   | HSFI-3      | circular | entire  | 3           | cream | Raised     | halus        | Basil Gram-positif berderet                                  |
| 4   | HSFI-4      | irregular| undulate| 5           | cream | convex     | halus        | Basil berspora Gram-positif berderet                         |
| 5   | HSFI-5      | filamentous | foliform | 8           | putih | crateriform | kasar        | Basil Gram-positif berderet                                  |
| 6   | HSFI-6      | irregular| undulate| 5           | cream | convex     | halus        | Basil berspora Gram-positif bergerombol                      |
| 7   | HSFI-7      | circular | entire  | 1           | putih | convex     | halus        | Coccus Gram-negatif bergerombol                               |
| 8   | HSFI-8      | circular | entire  | 4           | cream | convex     | halus        | Basil Gram-positif berderet                                  |
| 9   | HSFI-9      | circular | entire  | 8           | cream | umbonat   | halus        | Basil berspora Gram-positif bergerombol                      |
| 10  | HSFI-10     | circular | entire  | 2           | cream | convex     | halus        | Basil Gram-positif berderet                                  |
| 11  | HSFI-11     | circular | entire  | 4           | cream | convex     | halus        | Basil Gram-negatif bergerombol                               |
| 12  | HSFI-12     | circular | entire  | 4           | cream | convex     | halus        | Basil Gram-positif berderet                                  |

Ket : HSFI (Holothuria scabra fermentation intestine)
| KODE    | ISOLAT | Hari ke 1 | Hari ke 2 | Hari ke 3 | Hari ke 4 | Hari ke 5 | Hari ke 6 | Hari ke 7 | Rata-rata |
|---------|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| HFSI-1  | 0      | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         | 0         |
| HFSI -2 | 0.17   | 0.30      | 0.47      | 0.47      | 0.50      | 0.40      | 0.34      | 0.38      |
| HFSI -3 | 1.40   | 1.33      | 4.11      | 5.00      | 4.83      | 5.00      | 4.66      | 3.76      |
| HFSI -4 | 0.33   | 0.69      | 0.83      | 1.10      | 0.64      | 1.00      | 0.87      | 0.78      |
| HFSI -5 | 1.25   | 1.10      | 1.09      | 0.96      | 1.07      | 1.19      | 1.27      | 1.13      |
| HFSI -6 | 0.75   | 0.47      | 0.50      | 0.65      | 0.72      | 0.67      | 0.80      | 0.65      |
| HFSI-7  | 0      | 0         | 0.00      | 0         | 0         | 0         | 0.00      | 0         |
| HFSI -8 | 0.29   | 0.28      | 0.67      | 0.60      | 1.00      | 0.88      | 0.79      | 0.64      |
| HFSI -9 | 0.45   | 0.27      | 0.25      | 0.42      | 0.45      | 0.41      | 0.40      | 0.37      |
| HFSI -10| 0.22   | 0.35      | 0.65      | 0.68      | 0.64      | 0.51      | 0.82      | 0.55      |
| HFSI -11| 1.00   | 0.45      | 0.52      | 0.72      | 0.93      | 1.03      | 0.86      | 0.78      |
| HFSI -12| 0.70   | 0.47      | 0.65      | 0.81      | 0.83      | 0.85      | 0.67      | 0.71      |

Hasil Penelitian

Uji Aktifitas proteolitik
Hasil Uji Aktifitas Trombolisis Isolat HSFI-5 dengan Microtube dan Tabung

| Kode ulang | Microtube | Tabung |
|------------|-----------|--------|
|            | Nattokinase | HSFI-5 | Nattokinase | HSFI-5 |
| 1          | 48.39    | 60.44  | 87.22     | 79.67  |
| 2          | 63.16    | 81.13  | 82.30     | 86.94  |
| 3          | 78.39    | 74.44  | 79.20     | 81.44  |
| 4          | 64.41    | 70.32  | 80.20     | 83.37  |
| 5          | 63.15    | 64.41  | 77.30     | 83.08  |
| 6          | 60.36    | 64.93  | 78.70     | 72.50  |
| 7          | 64.26    | 62.04  | 80.40     | 69.24  |
| Rerata     | 63.16    | 68.24  | 80.76     | 79.46  |
Simpulan

1. Hasil pengukuran aktifitas *crude ekstrak enzim* dari jaringan *H.scabra* dengan cara vortex tidak didapatkan aktifitas, sedangkan tanpa perlakuan vortex didapatkan aktifitas 3103,3041 U/mL

2. Dari sampel organ pencernaan *H. scabra*, diperoleh 4 isolat bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik, trombolitik dan fibrinolitik yaitu HSFI-3, HSFI-4, HSFI-5 dan HSFI-6. Dari keempat isolat tersebut, isolat HFSI-5 adalah penghasil enzim protease fibrinolitik dengan aktivitas trombolisis tertinggi
ARTIFITIAS ENZIM PROTEASE FIBRINOLITIK JARINGAN TISSUE PASIR (ANTECUBITAL FOLLICULAR) SEBAGAI AGEN ANTITROMBOSIS PADA PATIEN VASCULAR DISEASE

LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
BALAI BIO INDUSTRI LAUT
JL. RAYA SENGIGI, TELUK KODEK, DESA MALAKA KEC. PEMENANG
KAB. LOMBOK UTARA - NTB83352
www.bioindustriaut.lipi.go.id
This is to certify that

**Nur Hidayati**

has contributed as

**Oral Presenter**

with presentation title

**Potential of Fibrinolytic Protease Enzymes from Tissue of Sand Sea Cucumber (Holothuria scabra) as Thrombolysis Agent**

in **The 11th International Conference on Global Resource Conservation**

**Synergizing Knowledge for Post 2020 Global Biodiversity Network**

Malang, July 28, 2020

Prof. Dr. Ir. Nuhfil Hanani A.R., M.S.
Rector of Universitas Brawijaya

Muridah Afiyanti, S.P., Ph.D.
Conference Chairperson
Letter Of Accepted
Annual Conference On Health And Food Science Technology

Dear Stalis Norma Ethica from Universitas Muhammadiyah Semarang

The review processes for Annual Conference On Health And Food Science Technology organized by Online Conference Host By PT Kresna Acitya Nusantara Mediatama has been completed. The conference reviewed by international experts.

The conference reviewed by international experts. Based on the recommendations of the reviewers and the Technical Program Committees, we are pleased to inform you that your paper entitled Blood Clot Lysis Activities Of Crude Proteases Extracted From Tissue And Bacterial Isolates Of Holothuria Scabra (file link: https://achost.kresnanusantara.com/repository/Abstrak_3e671a47eee0c1537dd314ea8d53746d.pdf) has been ACCEPTED for publication and oral presentation.
You are cordially invited to present the paper at Annual Conference On Health And Food Science Technology to be held on 2020-11-25, Kresna Nusantara Zoom Webinar.

With the package conference have been selected is: PRESENTER

For the most updated information on the conference, please check the conference website. achost.kresnanusantara.com or email to kresnanusantara@relawanjurnal.id.

Warm regards,

Conference Committee