

**KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI
ISOLAT FUNGI ENDOFIT GENUS FUSARIUM YANG
DIISOLASI DARI DAUN TOMAT**



FRANSISCA RISZA REGAR OCTAVIA

2443015172

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2019

**KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI ISOLAT
FUNGI ENDOFIT GENUS FUSARIUM YANG DIISOLASI DARI
DAUN TOMAT**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata I
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

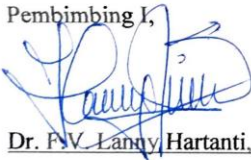
OLEH:

FRANSISCA RISZA REGAR OCTAVIA

2443015172

Telah disetujui pada tanggal 11 Oktober 2019 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I,



Dr. P.V. Lancy Hartanti, S.Si., M.Si.

NIK. 241.00.0437

Pembimbing II,



Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.

NIK. 241.07.0609

Mengetahui,

Ketua Penguji



Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt.

NIK. 241.02.0542

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Karakterisasi Enzim L-asparaginase Dari Isolat Fungi Endofit Genus Fusarium yang Diisolasi Dari Daun Tomat** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digitaly Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta. Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, Oktober 2019

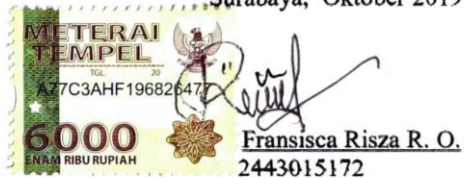


Fransisca Risza R. O.
2443015172

LEMBAR PERNYATAAN KARYA ILMIAH NON PLAGIAT

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh

Surabaya, Oktober 2019



ABSTRAK

KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT GENUS FUSARIUM YANG DIISOLASI DARI DAUN TOMAT

FRANSISCA RISZA REGAR OCTAVIA
2443015172

L-asparaginase adalah obat kemoterapi yang digunakan dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut (umumnya pada anak-anak). L-asparaginase yang berasal dari prokariotik dapat menyebabkan hipersensitivitas pada penggunaan jangka panjang, seperti reaksi alergi dan anafilaksis. Karena hal tersebut maka perlu adanya upaya mencari L-asparaginase dari mikroorganisme eukariotik untuk mengatasi permasalahan resistensi dan hipersensitivitas tersebut. Pada penelitian kali ini dilakukan pengamatan lebih lanjut mengenai aktivitas spesifik pada enzim L-asparaginase dari isolat fungi endofit genus fusarium yang diisolasi dari daun tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) dengan kode isolat PB2 dari penelitian sebelumnya oleh Winarto (2017). Penelitian diawali dengan melakukan optimasi terhadap fungi endofit yang dihasilkan dengan media *Potato Dextrose Yeast* (PDY) dan *Potato Dextrose Agar* (PDA). Peningkatan kurva pertumbuhan sejajar dengan kurva produksi, memuncak pada hari ke-3 (72 jam) dengan aktivitas enzim sebesar 134,6095 $\mu\text{g/mL}$. Uji aktivitas L-asparaginase pada isolat PB2 dilakukan dengan menginokulasikan ke media Modified Czapek Dox's (MCD) Agar yang mengandung L-asparagin sebagai substrat. Aktivitas enzim ditentukan menggunakan metode Nessler yang telah dimodifikasi. Dilakukan uji aktivitas enzim dengan variasi suhu 25, 30, 35, 40, 45, 50°C dan variasi pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 untuk mencari suhu dan pH optimal. Aktivitas tertinggi terjadi pada suhu 40°C dengan aktivitas enzim sebesar 132,2131 Unit/mL dan pH optimum pada pH 6 dengan aktivitas enzim sebesar 124,0961 Unit/mL. Kadar protein sebesar 448,1610 $\mu\text{g/mL}$ ditentukan menggunakan metode Bradford dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai baku standar. Uji aktivitas spesifik dilakukan pada suhu optimum 40°C dan pH 6 dengan hasil sebesar 0,2987 Unit/mL.

Kata kunci : Fusarium, L-asparaginase, fungi endofit, kurva produksi, aktivitas spesifik.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF L-ASPARAGINASE ENZYME FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATE GENUS FUSARIUM ISOLATED FROM TOMATO LEAF

FRANSISCA RISZA REGAR OCTAVIA
2443015172

L-asparaginase is a chemotherapy drug used in the treatment of acute lymphoblastic leukemia (generally in children). L-asparaginase derived from prokaryotes can cause hypersensitivity to long-term use, such as allergic reactions and anaphylaxis. Because of this, efforts are needed to find L-asparaginase from eukaryotic microorganisms to overcome these resistance and hypersensitivity problems. In the research further observations regarding the specific activity of the L-asparaginase enzyme from fusarium genus endophytic isolates isolated from tomato leaves (*Lycopersicon esculentum* Mill.), with PB2 isolate code from a previous study by Winarto (2017) will be carried out. The research began by optimizing the endophytic fungi produced with *Potato Dextrose Yeast* (PDY) and *Potato Dextrose Agar* (PDA) media. The increase in the growth curve is parallel to the production curve, peaking on the 3rd day (72 hours) with enzyme activity of 134.6095 $\mu\text{g}/\text{mL}$. L-asparaginase activity test on PB2 isolates was carried out by inoculating into Modified Czapek Dox's (MCD) media containing L-asparagin as a substrate. Enzyme activity was determined using the modified Nessler method. Enzyme activity tests were carried out with variations in temperature 25, 30, 35, 40, 45, 50°C and variations in pH 4, 5, 6, 7, 8, 9 to find the optimal temperature and pH. The highest activity occurred at 40°C with enzyme activity of 132.2131 Units/mL and optimum pH at pH 6 with enzyme activity of 124.0961 Units/mL. Protein content of 448.1610 $\mu\text{g}/\text{mL}$ was determined using the Bradford method with *Bovine Serum Albumin* (BSA) as the standard. Specific activity tests were carried out at an optimum temperature of 40°C and pH 6 with a yield of 0.2987 Units/mL.

Keywords: Fusarium, L-asparaginase, endophytic fungi, production curve, specific activity.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karuniaNya, sehingga skripsi dengan judul **Karakterisasi Enzim L-Asparaginase Dari Isolat Fungi Endofit Genus Fusarium Yang Diisolasi Dari Daun Tomat** dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat diselesaikan dengan bimbingan, bantuan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu proses pembuatan naskah skripsi ini, khususnya kepada :

1. Allah SWT dan Nabi Muhammad SAW yang selalu menyertai selama pengerjaan naskah skripsi ini.
2. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D sebagai Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. Sumi Wijaya, S.Si, Ph.D., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
4. Dr. F.V Lanny Hartanti, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing I, Lisa Soegianto selaku pembimbing II yang telah menyediakan waktu dan tenaga, serta dengan sabar membimbing, mengarahkan, serta memberi dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Prof. Dr. J. S. Ami Soewandi dan Henry Kurnia Setiawan, S. Si., M. Si., Apt selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menilai dan memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.

6. Elisabeth Kasih, M.Farm-Klin., Apt selaku penasehat akademik yang telah membimbing saya dalam proses pembelajaran selama perkuliahan.
7. Dosen-dosen dan staf pengajar yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas ilmu pengetahuan, keahlian dan pengalaman yang telah dibagi kepada saya.
8. Seluruh staf Tata Usaha Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah banyak membantu dan bekerjasama dalam proses penelitian ini.
9. Orang Tua tercinta dan semua keluarga besar yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi, doa serta dukungan baik secara moral maupun material selama awal perkuliahan hingga selesai.
10. Rekan seperjuangan saya Seviyana Bestari Riya Sanjaya yang telah membantu dari awal sampai akhir penelitian.
11. Sahabat-sahabat tersayang Fatimala Ulfarida Arini, Mega Agrippina, Ria Nyonata, Gloria Sendi, Embun Larasati, Ervan Rakhmansyah, Junaidi dan Angga Rifauzi yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa dari awal penyusunan hingga terselesainya skripsi ini.
12. Teman-teman angkatan 2015 yang dengan caranya sendiri telah mendukung dan memberikan motivasi kepada saya.

Akhir kata, sangat disadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Skripsi ini saya persembahkan kepada almamater tercinta Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi masyarakat pada umumnya dan bagi perkembangan ilmu kefarmasian pada khususnya.

Surabaya, Oktober 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tentang Leukemia Limfoblastik Akut (ALL).....	7
2.2 Tinjauan Tentang Enzim L-Asparaginase	9
2.2.1 Struktur L-Asparaginase.....	10
2.2.2 Klasifikasi Enzim L-Asparaginase Menurut Enzym Commision Number	12
2.2.3 Klasifikasi Umum Enzim L-Asparaginase	13
2.2.4 Determinasi Aktivitas L-Asparaginase.....	14
2.2.5 Pengaruh Suhu.....	16
2.2.6 Pengaruh pH.....	17
2.3 Tinjauan Tentang Isolat Fungi Endofit PB2.....	18
2.4 Tinjauan Tentang Kurva Pertumbuhan.....	20
2.5 Tinjauan Tentang Spektrofotometri UV-VIS	22
BAB III: METODOLOGI PENELITIAN	23

	Halaman
3.1	Jenis Penelitian 23
3.2	Bahan Dan Alat Penelitian 23
3.2.1	Bahan Penelitian 23
3.2.2	Alat Penelitian 24
3.3	Metode Penelitian 25
3.4	Variabel Penelitian 26
3.5	Tahapan Penelitian 27
3.5.1	Pembuatan Media, Reagen Dan Buffer 27
3.5.1.1	Media Potato Dextrose Yeast 27
3.5.1.2	Media Potato Dextrose Agar 27
3.5.1.3	Media Uji Aktivitas Enzim L-Asparaginase 27
3.5.1.4	Pembuatan Reagen Nessler 28
3.5.1.5	Pembuatan Reagen Bradford 28
3.5.1.6	Pembuatan Buffer Universal pH 8,6 28
3.5.2	Pembuatan Baku NH ₄ Cl 28
3.5.3	Optimasi Isolat Fungi Endofit 29
3.5.4	Uji Karakterisasi Isolat Fungi Endofit PB2 30
3.5.5	Penentuan Kurva Produksi Enzim L-Asparaginase Pada Isolat Fungi Endofit PB2 32
3.5.6	Uji Aktivitas Enzim L-Asparaginase 33
3.5.7	Penentuan pH Optimum 34
3.5.8	Penentuan Suhu Optimum 34
3.5.9	Penentuan Kurva Standar Protein 34
3.5.10	Penentuan Kadar Ekstrakkasar Enzim L-Asparaginase 35
3.6	Analisa Data 35
3.6.1	Kurva Baku NH ₄ Cl 35

	Halaman	
3.6.2	Kurva Pertumbuhan dan Produksi Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit PB2.....	35
3.6.3	Aktivitas Enzim L-Asparaginase	36
3.6.4	Kurva Standar Protein	36
3.6.5	Kadar Protein Fungi Endofit PB2.....	36
3.6.6	Aktivitas Spesifik	36
3.6.7	Analisa Data Dengan Analysis Of Variance (ANOVA).....	37
3.7	Skema Kerja Penelitian	38
BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		39
4.1	Hasil Penelitian.....	39
4.1.1	Karakteristik Fungi Endofit PB2	39
4.1.2	Kurva Baku NH ₄ Cl.....	42
4.1.3	Kurva Pertumbuhan Dan Produksi Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit PB2.....	43
4.1.4	Aktivitas Enzim L-Asparaginasepada Isolat PB2	45
4.1.5	Kurva Standar Protein	47
4.1.6	Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit PB2.....	47
4.2	Pembahasan.....	49
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN		56
5.1	Kesimpulan.....	56
5.2	Saran	56
DAFTAR PUSTAKA		57
LAMPIRAN		62

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Hasil Pengamatan Rasio Diameter Rata-rata Daerah L-Asparaginase Yang Terhidrolisis Terhadap Diameter Rata-rata Koloni Fungi Endofit Pada Media MCD Agar Selama 72 Jam	19
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Mikroskopis Fungi Endofit PB2 Dengan Mikroskop Perbesaran 10x40	40
Tabel 4.2 Hasil Uji Biokimia Fungi Endofit PB2	41
Tabel 4.3 Hasil Pengamatan Variasi Suhu Aktivitas Enzim L-Asparaginase Pada Spektrofotometer.....	45
Tabel 4.4 Hasil Variasi Ph Aktivitas Enzim L-Asparaginase Pada Spektrofotometer.....	45
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit PB2	48
Tabel 4.6 Hasil pengamatan Aktivitas Spesifik Kasar Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit PB2	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Reaksi Hidrolisis Enzim L-Asparaginase..... 9
Gambar 2.2	Struktur Primer Enzim L-Asparaginase 12
Gambar 2.3	Pengaruh Suhu Terhadap Laju Reaksi..... 18
Gambar 2.4	Pengaruh pH Terhadap Laju Reaksi 19
Gambar 4.1	Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Fungi Endofit PB2 39
Gambar 4.2	Hasil pengamatan aktivitas enzim L-asparaginase pada media MCD..... 42
Gambar 4.3	Grafik Kurva Baku NH_4Cl 42
Gambar 4.4	Grafik Kurva Produksi Enzim L-Asparaginase Pada Isolat PB2 44
Gambar 4.5	Grafik Profil Aktivitas Enzim L-Asparaginase Isolat PB2 Pada Variasi Suhu..... 46
Gambar 4.6	Grafik Profil Aktivitas Enzim L-Asparaginase Isolat PB2 Pada Variasi pH..... 46
Gambar 4.7	Grafik hasil pengamatan kurva standar protein 47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Baku NH_4Cl	62
Lampiran B. Kurva Pertumbuhan Dan Kurva Produksi L-Asparaginase	64
Lampiran C. Penentuan Suhu Optimum Dan pH Optimum	70
Lampiran D. Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-Asparaginase Pada Isolat PB2	79
Lampiran E. Aktivitas Spesifik Enzim L-Asparaginase	81
Lampiran F. Hasil Analisa Data Menggunakan SPSS	84