

**KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI
ISOLAT FUNGI ENDOFIT GENUS RHIZOPUS YANG
DIISOLASI DARI DAUN TANAMAN TOMAT
(*Lycopersicum esculentum* Mill.)**



ELISABET HUTAMININGSIH

2443016020

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MDANALA SURABAYA
2020**

**KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI ISOLAT
FUNGI ENDOFIT GENUS RHIZOPUS YANG DIISOLASI DARI
DAUN TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mdanala Surabaya

OLEH:

ELISABET HUTAMININGSIH

2443016020

Telah disetujui pada tanggal 6 Juli 2020 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0437

Mengetahui,
Ketua Penguji



Prof. Dr. J. S. Ami Soewdani, 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 *Rhizopus* yang diisolasi dari Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Katolik 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, 6 Juli 2020



Elisabet Hutaminingsih

2443016020

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

Surabaya, 6 Juli 2020



Elisabet Hutaminingsih

2443016020

ABSTRAK

KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI ISOLAT FUNGI ENDOFIT GENUS RHIZOPUS YANG DIISOLASI DARI DAUN TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

ELISABET HUTAMININGSIH
2443016020

L-asparaginase merupakan salah satu agen terapi dalam pengobatan kanker pada sistem limfatik. L-asparaginase bekerja dengan cara menghidrolisis asam amino L-asparagin (Asn) menjadi asam L-aspartat (Asp) dan amonia. L-asparaginase yang dihasilkan oleh organisme eukariotik mengurangi reaksi alergi dan anafilaksis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakteristik aktivitas enzim L-asparaginase lebih spesifik. Tahap awal penelitian dilakukan karakterisasi fungi endofit genus *Rhizopus* dengan melakukan peremajaan menggunakan media pertumbuhan *Potato Dextrose Yeast* (PDY) dan *Malt Extract Agar* (MEA), makroskopis, mikroskopis, uji biokimia, uji aktivitas semi kuantitatif enzim L-asparaginase dan L-glutaminase. Secara makroskopis fungi *Rhizopus* MC3-2B menunjukkan tipe koloni filamen, sifat permukaan seperti puyer, warna koloni hitam. Fungi *Rhizopus* MC3-2B secara mikroskopis terdapat konidiofor, kolumela dan rhizoid. Uji biokimia menunjukkan hasil positif pada masing-masing uji hidrolisa amilum, kasein, dan hidrolisa lemak. Pada uji aktivitas enzim L-asparaginase dan L-glutaminase menunjukkan hasil positif. Kurva pertumbuhan fungi endofit optimum diperoleh saat memasuki fase stasioner, yaitu waktu 48 jam setelah inokulasi. Kurva produksi enzim L-asparaginase, karakterisasi enzim L-asparaginase dari genus *Rhizopus* MC3-2B berupa pH optimum, suhu optimum aktivitas enzim L-asparaginase dan kestabilan aktivitas enzim terhadap pH dan suhu belum dapat diketahui karena belum dilakukan pengujian aktivitas enzim L-asparaginase selama masa pdanemi COVID-19.

Kata kunci : L-asparaginase, karakterisasi, *Rhizopus*, fungi endofit, L-glutaminase.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF L-ASPARAGINASE ENZYME FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATE OF RHIZOPUS GENUS ISOLATED FROM TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.) LEAVES

**ELISABET HUTAMININGSIH
2443016020**

L-asparaginase is one of the therapy agents in the treatment of cancer of the lymphatic system. L-asparaginase works by hydrolyzing the amino acid L-asparagine (Asn) to L-aspartic acid (Asp) dan ammonia. L-asparaginase produced by the eukaryotic body reduces allergic reactions dan anaphylaxis. This study aims to characterize the activity of the L-asparaginase enzyme more specifically. This study began with the characterization of Rhizopus-type endophytic fungi by rejuvenating using Potato Dextrose Yeast (PDY) dan Malt Extract Agar (MEA) as growth media, macroscopic, microscopic, biochemical tests, semi-test L-asparaginase dan L-glutaminase growth media. Macroscopically, the Rhizopus MC3-2B fungus shows the type of filament colony, surface properties such as powder, black colony color. Microscopic observations showed that Rhizopus MC3-2B's structure is conidiophores, columella dan rhizoid. Biochemical tests showed positive results on each test of starch hydrolysis, casein, dan fat hydrolysis. The L-asparaginase dan L-glutaminase enzyme activity tests showed positive results. Optimal endophytic fungal growth curves were obtained during the stationary expansion phase, which is within 48 hours after inoculation. L-asparaginase enzyme production curves, characterization of L-asparaginase enzymes from the genus Rhizopus MC3-2B form optimal pH, optimal temperature, stability activity enzyme L-asparaginase activity for pH dan temperature are still unknown because the test have not been conducted because COVID-19 pandemic,

Keywords: L-asparaginase, characterization, Rhizopus, endophytic fungi, L-glutaminase.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **Karakterisasi Enzim L-asparaginase dari Isolat Fungi Endofit Genus *Rhizopus* yang diisolasi dari Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)** dapat diselesaikan. Skripsi ini disusun untuk dapat memenuhi persyaratan memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mdanala Surabaya.

Menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan berbagai pihakskripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik. Penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus atas rahmat, hikmat, dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Alm. Mgr. Herman Joseph Sahadat Pdanoyoputro, O.Carm.dan Mgr. Prof. Dr. Henricus Pidyarto Gunawan, O.Carm selaku pimpinan Keuskupan Malang dan jajarannya yang telah mendukung, mendampingi, memberikan motivasi kepada penulis untuk tetap berkarya melalui dunia kesehatan.
3. Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing I atas nasehat, kesabaran, saran dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis dalam mendampingi menyelesaikan proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
4. Prof. Ami Soewdani dan Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen penguji atas kritik, saran, dan waktu yang telah diluangkan guna penyempurnaan skripsi ini.

5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi UKWMS atas ilmu yang diberikan serta bimbingan dalam menempuh studi strata S1 kepada penulis.
6. Teguh Widodo S.Si., M.Si., Apt. selaku penasihat akademik yang telah memberikan dukungan, saran, motivasi, dan arahan dari awal masa studi penulis hingga akhir.
7. Papa Yohanes Soegijanto, Mama Ruth Naomi, serta kakak-kakak penulis Carolina Irawati, Herlina Riana, Bambang Sugiarto, Kezia Jacquélien Sugiarto, dan Yohanes Dewa Bayu Adyawadhana yang telah mengasahi, mendampingi, mendukung dan mendoakan penulis.
8. Ni Putu Juniya Rusmayani dan Hildegardis Leli yang telah menjadi sahabat sejak awal perkuliahan hingga saat ini.
9. Sahabat terkasih Elisabeth Agustini Tanjung, Sonia Sirajudin, Veronika Nurak, Yulia Irma, Ema Yulianti, Mhyra, Dian Lende, Iwan, Nindhy, Arcenia, Ovhy, Hani Losu, yang telah menjadi teman belajar, teman curhat, dan teman *hang out* serta selalu memberikan dukungan bagi penulis dari awal perkuliahan hingga saat ini.
10. Kakak-kakak rohani *Contact BBM MDC Galaxy* Surabaya yang telah mengasahi, mendoakan, dan mendukung penulis menyelesaikan penelitian ini.
11. Teman-teman seperjuangan L-asparaginase Ricky, Yoanita, Erike, Refos atas bantuannya dari awal hingga akhir penelitian.
12. Teman-teman Mentorship yang telah memberikan doa dan semangat bagi penulis.
13. Semua pihak terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah skripsi terdapat keterbatasan pengetahuan dan pustaka yang jauh dari kesempurnaan. Akhir kata, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk naskah skripsi ini agar

dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang Farmasi.

Surabaya, Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Pertanyaan Kajian Literatur.....	8
1.4 Tujuan Penelitian.....	8
1.5 Hipotesis Penelitian.....	8
1.6 Manfaat Penelitian.....	9
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Mikroba Endofit.....	10
2.1.1 Kapang Endofit.....	10
2.1.2 Fungi Endofit Genus <i>Rhizopus</i>	14
2.1.3 Kurva Pertumbuhan Fungi.....	17
2.2 L-asparaginase.....	21
2.2.1 Struktur Enzim L-asparaginase.....	21
2.2.2 Enzim L-asparaginase.....	22
2.2.3 Karakterisasi Enzim L-asparaginase.....	27
2.2.4 Klasifikasi Enzim L-asparaginase Berdasarkan <i>Enzyme Commission Number</i>	29
2.2.5 Jenis L-asparaginase.....	29

	Halaman
2.2.6 Sumber L-asparaginase.....	30
2.2.7 Indikasi L-asparaginase.....	31
2.2.8 Farmakokinetika L-asparaginase.....	32
2.2.9 Efek samping L-asparaginase.....	33
2.2.10 Determinasi Uji Aktivitas L-asparaginase.....	33
BAB III : METODOLOGI PENELITIAN.....	37
3.1 Jenis Penelitian.....	37
3.2 Penelitian di Laboratorium.....	38
3.2.1 Bahan dan Alat Penelitian.....	40
3.2.2 Tahapan Penelitian.....	42
3.2.3 Analisis Data Penelitian.....	52
3.2.4 Skema Kerja Penelitian.....	56
3.3 Kajian Literatur.....	57
3.3.1 Populasi dan Sampel.....	58
3.3.2 Teknik Pengumpulan Data.....	59
3.3.3 Observasi Uji Aktivitas L-asparaginase Menggunakan Media Cair dari Rhizopus.....	60
3.3.4 Observasi Karakterisasi Enzim L-asparaginase.....	60
3.3.5 Analisis Data Kajian Literatur.....	61
3.3.6 Kerangka Operasional.....	62
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN.....	63
4.1 Pemilihan Jurnal terkait Uji Aktivitas L-asparaginase.....	63
4.2 Pemilihan Jurnal terkait Karakterisasi Enzim L-asparaginase.....	63
4.3 Hasil Penelitian.....	66
4.3.1 Karakterisasi Fungi Endofit MC3-2B.....	66
4.3.2 Kurva Baku Stdanar NH ₄ Cl.....	68
4.3.3 Kurva Pertumbuhan dan Kurva Produksi.....	72

	Halaman
4.3.4	pH Optimum Enzim L-asparaginase..... 73
4.3.5	Uji pH terhadap Kestabilan Aktivitas L- asparaginase..... 74
4.3.6	Suhu Optimum Enzim L-asparaginase..... 75
4.3.7	Uji Suhu terhadap Kestabilan Aktivitas L- asparaginase..... 76
4.4	Pembahasan..... 76
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN..... 86	
5.1	Kesimpulan..... 86
5.2	Saran..... 86
DAFTAR PUSTAKA..... 87	
LAMPIRAN..... 98	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kelebihan dan Kekurangan Metode Kromatografi dan Non Kromatografi.....	28
Tabel 2.2 Teknik Pemisahan untuk Protein dan yang Mendasari.....	28
Tabel 2.3 Mikroorganisme Penghasil L-asparaginase.....	30
Tabel 2.4 Indikasi L-asparaginase.....	32
Tabel 2.5 Farmakokinetika L-asparaginase.....	32
Tabel 2.6 Efek Samping Enzim L-asparaginase.....	33
Tabel 3.1 Observasi tentang Karakterisasi Enzim L-asparaginase dari Berbagai Fungi.....	61
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus	66
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Mikroskopis Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus Perbesaran 10x40.....	67
Tabel 4.3 Hasil Uji Biokimia Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus.....	67
Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus.....	68
Tabel 4.5 Hasil Pengamatan Diameter dan Diameter Zone Index L-asparaginase setiap 8 jam Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus.....	69
Tabel 4.6 Hasil Pengamatan Diameter Isolat MC3-2B dan Diameter Zone Index L-asparaginase Setiap 8 jam.....	70
Tabel 4.7 Hasil Pengamatan Diameter dan Diameter Zone Index L-glutaminase Setiap 8 jam Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus.....	71
Tabel 4.8 pH Optimum Enzim L-asparaginase yang Dihasilkan oleh Fungi.....	74
Tabel 4.9 Kestabilan Enzim L-asparaginase terhadap pH.....	74

Halaman

Tabel 4.10 Suhu Optimum Enzim L-asparaginase yang Dihasilkan oleh Fungi.....	75
Tabel 4.11 Kestabilan Enzim L-asparaginase terhadap Suhu.....	76

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Makroskopis Isolat Fungi Endofit Genus Rhizopus kode MC3-2B.....	16
Gambar 2.2 Mikroskopis Isolat Fungi Endofit Genus Rhizopus kode MC3-2B.....	16
Gambar 2.3 Hasil Positif Uji Biokimia terhadap Fungi Endofit Genus Rhizopus.....	17
Gambar 2.4 Hasil Positif terhadap Skrining Aktivitas Enzim L-asparaginase terhadap Fungi Endofit Genus Rhizopus.....	17
Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan Fungi.....	19
Gambar 2.6 Pertumbuhan Kapang dengan Pengocokan atau Tanpa Pengocokan.....	20
Gambar 2.7 Struktur Tiga Dimensi Enzim L-asparaginase dari Erwinia carotovora.....	21
Gambar 2.8 Prediksi Struktur Sekunder Enzim L-asparaginase II.....	23
Gambar 2.9 Reaksi Hidrolisis oleh Enzim L-asparaginase.....	23
Gambar 3.1 Desain Mikroplate untuk Penetapan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-asparaginase.....	50
Gambar 3.2 Skema kerja Penelitian Karakterisasi Enzim L-asparaginase yang Diisolasi dari Daun Tanaman Tomat.....	56
Gambar 3.3 Kurva Produksi Enzim L-asparaginase.....	60
Gambar 3.4 Kerangka Operasional Kajian Literatur.....	62
Gambar 4.1 Pemilihan Jurnal terkait Uji Aktivitas Enzim L-asparaginase.....	64
Gambar 4.2 Pemilihan Jurnal terkait Karakterisasi Enzim L-asparaginase.....	65
Gambar 4.3 Hasil Uji Biokimia Fungi Endofit MC3-2B Genus Rhizopus (a) Hidrolisa Amilum (b) Hidrolisa Lemak (c) Hidrolisa Kasein.....	67

	Halaman
Gambar 4.4 Perbandingan Zone Index L-asparaginase dan L-glutaminase.....	70
Gambar 4.5 Grafik Regresi Linier Hubungan Absorbansi dengan Konsentrasi Ammonia yang ditentukan dengan Metode Nessler.....	70
Gambar 4.6 Grafik Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit Genus Rhizopus MC3-2B.....	72
Gambar 4.7 Kurva Produksi Enzim L-asparaginase.....	73
Gambar 4.8 Kurva Karakterisasi Enzim L-asparaginase dari <i>Mucor hiemalis</i> (a) pH dan Suhu Optimum, (b) Kestabilan Aktivitas Enzim L-asparaginase terhadap pH dan Suhu..	83

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Bobot Fungi Endofit MC3-2B.....	98