

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



**SEVIYANA BESTARI RIYA SANJAYA  
2443015255**

**PROGRAM STUDI S1  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA  
2019**

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

**SKRIPSI**

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

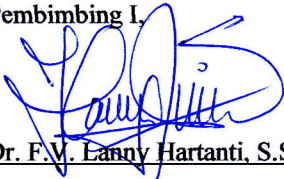
**OLEH:**

**SEVIYANA BESTARI RIYA SANJAYA**

**2443015255**

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

Pembimbing I,



Dr. F.V. Lanny 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 *Penicillium* yang Diisolasi dari Daun Tomat** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital 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, 11 Oktober 2019



Seviana Bestari Riya Sanjaya

2443015255

## 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, 11 Oktober 2019



Seviana Bestari Riya Sanjaya

2443015255

## ABSTRAK

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

SEVIYANA BESTARI RIYA SANJAYA  
2443015255

Leukemia atau kanker darah merupakan penyakit keganasan sel darah yang berasal dari sumsum tulang. Dalam pengobatan leukemia limfositik akut, salah satu agen kemoterapi yang telah menjadi pusat terapi pediatrik adalah asparaginase. L-asparaginase (EC 3.5.1.1) merupakan salah satu jenis enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi asam aspartat dan amonia dengan memutus ikatan amida. Enzim L-asparaginase yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim L-asparaginase yang telah diperoleh dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kurva pertumbuhan isolat fungi serta kurva produksi enzim, pH optimum dan suhu optimum enzim, aktivitas enzim L-asparaginase dari *Penicillium*, kadar protein enzim, dan aktivitas spesifik enzim L-asparaginase pada kondisi optimumnya. Aktivitas L-asparaginase ditentukan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel dengan mengukur jumlah ammonia yang dihasilkan dari katalisis L-asparaginase menggunakan reagen *Nessler*. Satu unit L-asparaginase (IU) didefinisikan sebagai jumlah enzim L-Asparaginase yang mengkatalisis pembentukan satu  $\mu\text{mol}$  ammonia per menit pada kondisi pengujian. Kurva pertumbuhan isolat fungi endofit dan kurva produksi enzim tertinggi dicapai pada kurun waktu 72 jam. pH optimum enzim L-asparaginase adalah pH 7 dengan aktivitas sebesar 104,8126 Unit/mL. Suhu optimum enzim L-Asparaginase yaitu suhu 40°C dengan aktivitas sebesar 93,7222 Unit/mL. Aktivitas enzim L-Asparaginase pada kondisi optimum yaitu pH 7 dan suhu 40°C diperoleh rata-rata sebesar 100,3497 Unit/mL. Kadar protein ekstrak kasar enzim L-asparaginase yang ditentukan menggunakan metode *Bradford* diperoleh rata-rata sebesar 197,6536  $\mu\text{g/mL}$ . Aktivitas spesifik enzim L-Asparaginase pada pH 7 dan suhu 40°C diperoleh hasil dengan rata-rata sebesar 0,5077 Unit/mL.

**Kata kunci** : daun tomat, endofit, *Penicillium*, L-asparaginase, karakterisasi.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF L-ASPARAGINASE ENZYME FROM ENDOPHYTIC FUNGI GENUS *PENICILLIUM* ISOLATED FROM TOMATO LEAF

SEVIYANA BESTARI RIYA SANJAYA  
2443015255

Leukemia or blood cancer is a malignancy of blood cells that originate in the bone marrow. In the treatment of acute lymphocytic leukemia, one of the chemotherapy agents has become the center of pediatric therapy is asparaginase. L-asparaginase (EC 3.5.1.1) is a hydrolysis enzyme which catalyzes the hydrolysis reaction of L-asparagine to aspartic acid and ammonia by breaking the amide bonds. The L-asparaginase enzyme used in this study was the L-asparaginase enzyme which was obtained from the endophytic fungi genus *Penicillium* isolated from tomato leaves (*Lycopersicon esculentum* Mill.). This study aims to obtain the growth curve of fungi isolates and enzyme production curve, optimum pH and optimum temperature of the enzyme, L-asparaginase enzyme activity from *Penicillium*, enzyme protein content, and specific activity of the L-asparaginase enzyme at optimum condition. L-asparaginase activity was determined using a UV-Visible spectrophotometer by measuring the amount of ammonia produced from L-asparaginase catalysis using the Nessler reagent. One unit of L-asparaginase (IU) is defined as the amount of the L-Asparaginase enzyme that catalyzes the formation of one  $\mu\text{mol}$  ammonia per minute under test conditions. The growth curve of endophytic fungi isolates and the highest production curve was achieved at 72 hours. The optimum pH of the L-asparaginase enzyme is pH 7 with an activity of 104.8126 Unit/mL. The optimum temperature of the L-Asparaginase enzyme is 40°C with an activity of 93.7222 Unit/mL. The activity of L-Asparaginase enzyme at optimum conditions is pH 7 and temperature 40°C obtained an average of 100.3497 Unit/mL. Protein levels of crude extracts of the L-asparaginase enzyme determined using the Bradford method obtained an average of 197.6536  $\mu\text{g/mL}$ . The average specific activity of the L-Asparaginase enzyme at pH 7 and temperature 40°C was 0.5077 Unit/mL.

**Keywords** : tomato leaf, endophytic, *Penicillium*, L-asparaginase, characterization.

## 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 *Penicillium* Yang Diisolasi Dari Daun Tomat** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk 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. Bapak Drs. Kuncoro Foe, G.Dip. Sc., Ph.D., Apt., selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
2. Ibu Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I yang telah banyak meluangkan waktu, ilmu dan tenaga dalam membimbing dan senantiasa memberikan pengarahan yang sangat bermanfaat dalam masa perkuliahan hingga terselesaikannya skripsi ini dengan baik.
3. Ibu Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu, ilmu dan tenaga dalam memberikan bimbingan, dukungan dan pengarahan yang sangat bermanfaat dalam terselesaikannya skripsi ini.
4. Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt. dan Bapak Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., Apt. selaku dosen penguji yang telah

memberikan banyak kritik, saran dan masukan positif yang sangat berguna untuk skripsi ini.

5. Ibu Dr. phil. nat. E. Catherina Wijayakusuma, S.Si., M.Si. selaku Penasihat Akademik yang telah membantu selama masa perkuliahan berlangsung.
6. Orangtua tercinta Ibu Sri Lestari, donatur terbesar dalam hidup yang selalu memberikan kasih sayang, uang jajan, uang kuliah, dukungan, motivasi serta doa yang tiada henti untuk anaknya.
7. Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah menyediakan fasilitas, pelayanan, mengajarkan ilmu kefarmasian selama masa perkuliahan dan telah mendanai penelitian ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
8. Kepala Laboratorium Penelitian, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, dan Laboratorium Bioanalisis di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah menyediakan fasilitas laboratorium selama penelitian ini berlangsung.
9. Pak Dwi, Pak Ignatius, dan Mbak Evi selaku laboran laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah bersedia meluangkan waktu untuk membantu di laboratorium selama penelitian ini berlangsung.
10. *Partner* skripsi Fransisca Risza Regar yang bersedia bertahan dan memberikan bantuan tenaga serta pikirannya dalam mengerjakan skripsi ini bersama-sama.
11. Sahabat-sahabat yang senantiasa menemani suka duka dan memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi ini, Mega Agrippin, Embun Larasati, Fatimala Ulfa, Gloria Sendi, Ria Nyonata, Defi Ratna, Adela Agustin, Wian May, Arvia Ade, Sasmito



Adi dan Ari Handoko yang membantu *searching* jurnal-jurnal serta pustaka-pustaka yang dibutuhkan dalam mengerjakan skripsi ini.

12. Teman-teman penerus penelitian yang telah bersedia bertukar pikiran dan memberikan bantuan tenaga dalam mengerjakan skripsi ini, Refos Junio, Erike, dan Ricky.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah Skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, Oktober 2019

Seviana Bestari Riya Sanjaya

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 Leukimia.....	6
2.2 L-Asparaginase.....	8
2.2.1 Struktur L-Asparaginase .....	9
2.2.2 Klasifikasi Enzim L-Asparaginase .....	11
2.2.3 Klasifikasi Enzim L-Asparaginase Berdasarkan <i>Enzyme Commission Number</i> .....	12
2.2.4 Jenis-jenis Enzim L-Asparaginase .....	13
2.2.5 Determinasi Aktivitas Enzim L-Asparaginase .....	13
2.2.6 Farmakokinetika Asparaginase .....	16
2.3 Mikroba Endofit .....	17
2.4 Isolat Fungi Endofit Genus <i>Penicillium</i> Kode MC3-2A2 dari Daun Tanaman Tomat .....	18
2.5 Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim .....	18

	<b>Halaman</b>
2.6 Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim.....	19
2.7 Tinjauan Kurva Pertumbuhan.....	19
<b>BAB III : METODE PENELITIAN</b> .....	<b>21</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	21
3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....	21
3.2.1 Bahan Penelitian.....	21
3.2.2 Alat Penelitian.....	22
3.3 Metode Peneletian .....	23
3.4 Variabel Penelitian .....	24
3.5 Tahapan Penelitian .....	24
3.5.1 Pembuatan Media.....	24
3.5.1.1 Potato Dextrose Yeast (PDY) .....	24
3.5.1.2 Malt Extract Agar (MEA).....	25
3.5.1.3 Modified Czapek Dox's .....	25
3.5.2 Pembuatan Reagen Nessler .....	26
3.5.3 Pembuatan Reagen Bradford.....	26
3.5.4 Pembuatan Kurva Baku $\text{NH}_4\text{Cl}$ .....	27
3.5.5 Pembuatan Buffer Universal pH 5 .....	27
3.5.6 Optimasi Isolat Fungi Endofit Genus <i>Penicillium</i> dari Daun Tanaman Tomat ( <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)..	27
3.5.7 Karakterisasi Fungi Endofit MC3-2A2 (Makroskopis dan Mikroskopis) .....	28
3.5.8 Pengujian Aktivitas Enzim L-asparaginase yang Dihasilkan Isolat Fungi pada Media Uji.....	28
3.5.9 Pengujian Biokimia Fungi Endofit MC3-2A2 .....	28
3.5.9.1 Uji Hidrolisa Amilum .....	28
3.5.9.2 Uji Hidrolisa Lemak.....	29

	<b>Halaman</b>
3.5.9.3 Uji Hidrolisa Kasein.....	29
3.5.10 Pengujian Secara Kualitatif Aktivitas Enzim L-Asparaginase .....	29
3.5.11 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat dan Produksi Enzim L-Asparaginase.....	29
3.5.12 Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase.....	30
3.5.13 Penentuan Kurva Standar Protein .....	31
3.5.14 Penentuan Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-asparaginase .....	31
3.5.15 Penentuan pH Optimum.....	31
3.5.16 Penentuan Suhu Optimum.....	32
3.6 Analisis Data .....	32
3.6.1 Penentuan Kurva Baku NH <sub>4</sub> Cl.....	32
3.6.2 Penentuan Aktivitas Enzim .....	32
3.6.3 Penentuan Kurva Standar Protein.....	33
3.6.4 Penentuan Kadar Protein.....	33
3.6.5 Perhitungan Aktivitas Spesifik Enzim.....	33
3.6.6 Analisa Data dengan Analysis of Variance (ANOVA) .....	34
3.7 Skema Kerja Penelitian .....	35
<b>BAB IV : HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>36</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	36
4.1.1 Karakterisasi Ulang Isolat Fungi Endofit Genus Penicillium Kode Isolat MC3-2A2.....	36
4.1.1.1 Makroskopis dan Mikroskopis Isolat Fungi Endofit.....	36
4.1.1.2 Uji Aktivitas Enzim L-asparaginase yang Dihasilkan Isolat Fungi pada Media Uji.....	37
4.1.1.3 Uji Biokimia Isolat Fungi Endofit.....	38

	<b>Halaman</b>
4.1.2 Kurva Baku Standar $\text{NH}_4\text{Cl}$ .....	38
4.1.3 Kurva Pertumbuhan Isolat dan Kurva Produksi Enzim L-asparaginase .....	39
4.1.4 pH Optimum Enzim L-asparaginase .....	41
4.1.5 Suhu Optimum Enzim L-asparaginase .....	42
4.1.6 Kurva Standar Bovine Serum Albumin (BSA) .....	43
4.1.7 Kadar Protein Ekstrak Kasar Enzim L-asparaginase .....	43
4.1.8 Aktivitas Enzim L-asparaginase .....	44
4.1.9 Aktivitas Spesifik Enzim L-asparaginase .....	44
4.2 Pembahasan .....	45
<b>BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>52</b>
5.1 Kesimpulan .....	52
5.2 Saran .....	52
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>53</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>58</b>

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
Tabel 2.1	Farmakokinetika Asparaginase ..... 16
Tabel 4.1	Hasil pengamatan makroskopis isolat fungi endofit..... 36
Tabel 4.2	Hasil pengamatan mikroskopis isolat fungi endofit ..... 37
Tabel 4.3	Hasil pengamatan uji hidrolisa amilum, lemak, dan kasein isolat fungi endofit ..... 38
Tabel 4.4	Hasil uji biokimia isolat fungi endofit daun tomat ..... 38
Tabel 4.5	Kadar protein Enzim L-asparaginase ..... 44
Tabel 4.6	Aktivitas Enzim L-asparaginase pada pH 7 dan suhu 40 <sup>o</sup> C ..... 44
Tabel 4.7	Aktivitas Spesifik Enzim L-Asparaginase..... 45

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 2.1 Mekanisme reaksi hidrolisis oleh L-Asparaginase .....	8
Gambar 2.2 Struktur 3D enzim L-Asparaginase dari <i>Erwinia carotovora</i> RCSB PDB-ZCF .....	10
Gambar 2.3 Sekuensi enzim L-Asparaginase .....	10
Gambar 2.4 Klasifikasi umum enzim L-asparaginase.....	11
Gambar 2.5 Pengaruh pH terhadap laju reaksi.....	19
Gambar 2.6 Pengaruh suhu terhadap laju reaksi .....	19
Gambar 3.1 Skema kerja penelitian .....	35
Gambar 4.1 Hasil pengamatan uji aktivitas enzim L-asparaginase pada media uji.....	37
Gambar 4.2 Grafik regresi linier hubungan konsentrasi amonia ( $\mu\text{g/mL}$ ) dengan absorbansi yang ditentukan secara Nessler.....	39
Gambar 4.3 Kurva produksi dan kurva pertumbuhan Enzim L-asparaginase dari 3 replikasi.....	40
Gambar 4.4 Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim L-asparaginase .....	41
Gambar 4.5 Hasil uji statistika ( <i>Post Hoc Tukey</i> ) pada pH 7 .....	41
Gambar 4.6 Pengaruh suhu terhadap aktivitas enzim L-asparaginase ...	42
Gambar 4.7 Hasil uji statistika ( <i>Post Hoc Tukey</i> ) pada suhu $40^{\circ}\text{C}$ .....	43
Gambar 4.8 Grafik regresi linier hubungan konsentrasi protein ( $\mu\text{g/mL}$ ) dengan absorbansi.....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran A Penentuan Kurva Pertumbuhan Isolat Fungi dan Kurva Produksi Enzim L-Asparaginase .....	58
Lampiran B Penentuan Ph Optimum Enzim L-Asparaginase .....	65
Lampiran C Penentuan Suhu Optimum Enzim L-Asparaginase .....	70
Lampiran D Hasil Uji Aktivitas Enzim pada Kondisi Optimum (Ph 7 dan Suhu 40 <sup>0</sup> C) .....	75
Lampiran E Penentuan Kadar Protein Enzim L-Asparaginase .....	76
Lampiran F Hasil Uji Aktivitas Spesifik Enzim L-Asparaginase .....	78