

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



**RICKY
2443016023**

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

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

SKRIPSI

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


OLEH:

RICKY

2443016023

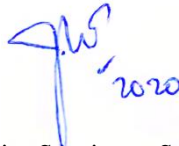
Telah disetujui pada tanggal 29 Juni 2020 dan dinyatakan LULUS

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 Fungi Endofit Genus Oidiodendron yang Diisolasi dari Daun 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 sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 29 Juni 2020



Ricky
2443016023

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, 29 Juni 2020



Ricky

2443016023

ABSTRAK

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

RICKY
2443016023

L-asparaginase adalah obat anti kanker yang digunakan dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut yang umumnya terjadi pada anak-anak. L-asparaginase yang berasal dari prokariotik dapat menyebabkan hipersensitivitas pada penggunaan jangka panjang, seperti reaksi alergi dan anafilaksis. Dengan demikian, diperlukan upaya baru untuk mencari L-asparaginase dari mikroorganism eukariotik untuk mengatasi permasalahan hipersensitivitas tersebut. Pada penelitian ini dilakukan pengamatan lebih lanjut mengenai aktivitas spesifik pada enzim L-asparaginase dari fungi endofit genus *Oidiodendron* yang diisolasi dari daun tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dengan kode isolate MC2 dari penelitian sebelumnya oleh Winarto (2017). Penelitian ini diawali dengan melakukan peremajaan terhadap fungi endofit yang dihasilkan dengan media *Potato Dextrose Yeast* (PDY) dan *Malt Extract Agar* (MEA). Fungi endofit dikarakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, uji biokimia dan skrining aktivitas enzim L-asparaginase dan aktivitas enzim L-glutaminase. Fungi endofit MC2 secara makroskopis menunjukkan memiliki tipe koloni filamentus dengan warna putih dan sifat permukaan seperti kapas. Secara mikroskopis fungi endofit memiliki konidiofor dan pada uji biokimia, fungi endofit menunjukkan hasil positif pada pengujian hidrolisa amilum, hidrolisa kasein dan hidrolisa lemak. Fungi endofit MC2 juga menunjukkan aktivitas positif baik terhadap aktivitas enzim L-asparaginase maupun terhadap aktivitas enzim L-glutaminase. Pada profil kurva pertumbuhan fungi endofit MC2 mencapai fase stasioner pada mulai waktu 32 jam setelah inokulasi ke dalam media pertumbuhan. Profil kurva produksi enzim L-asparaginase serta karakteristik enzim L-asparaginase dari fungi endofit MC2 genus *Oidiodendron* yaitu berupa pH optimum dan suhu optimum aktivitas enzim L-asparaginase serta kestabilan aktivitas enzim terhadap pengaruh pH dan suhu belum dapat diketahui.

Kata Kunci : L-asparaginase, fungi endofit, karakterisasi enzim, *Oidiodendron*.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF L-ASPARAGINASE FROM ENDOPHYTIC FUNGI GENUS OIDIODENDRON ISOLATED FROM TOMATO (*Lycopersicum esculentum* Mill.) LEAVES

**RICKY
2443016023**

L-asparaginase is an anticancer 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 reaction and anaphylaxis. Because of this, efforts are needed to find L-asparaginase from eukaryotic microorganisms to overcome this hypersensitivity problem. In the research further observations regarding the specific activity of the L-asparaginase enzyme from Oidiodendron genus endophytic isolates isolated from tomato leaves (*Lycopersicum esculentum* Mill.) with MC2 isolate code from previous research from Winarto (2017). The research began by optimizing the endophytic fungi with *Potato Dextrose Yeast* (PDY) and *Malt Extract Agar* (MEA). The endophytic fungi characterized by macroscopies, microcopies, biochemistry tests, and screening of L-asparaginase and L-glutaminase activity. The endophytic fungi macroscopically show filamentous colony type with white color and cotton-like surface. Microscopically, endophytic fungi have conidiophores and in biochemical tests, endophytic fungi show positive results on testing of starch hydrolysis, casein, hydrolysis and fat hydrolysis. The endophytic fungi also show positive activity enzyme both on the activity of the L-asparaginase enzyme and on the activity of the L-glutaminase enzyme. In the growth curve profile, the MC2 endophytic fungi reached a stationary phase after 32 hours of inoculation into growth media. The profile of the L-asparaginase enzyme production curve and the characteristics of the L-asparaginase enzyme from the MC2 endophytic fungi genus Oidiodendron that is in the form of optimum pH and optimum temperature of L-asparaginase enzyme activity and stability of enzyme activity on the influence of pH and temperature have not been known.

Key words : L-asparaginase, endophytic fungi, characterization, Oidiodendron.

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 Fungi Endofit Genus Oidiodendron yang Diisolasi dari Daun Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)** 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 berbeagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada pihak yang telah membantu selama proses pembuaan 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 Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
2. Ibu Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
3. Ibu Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing I dan Ibu Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing II yang telah menyediakan waktu dan tenaga, serta dengan sabar membimbing, mengarahkan, serta memberi dorongan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

4. Bapak Prof. Ami Soewandi dan Bapak 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.
5. Ibu Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt dan Ibu Senny Yesery Esar, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasihat akademik yang telah membimbing saya dalam proses pembelajaran selama perkuliahan.
6. Orang tua tercinta, adik tersayang dan Audrey Marcelline Chandra yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi, doa serta dukungan baik secara moral maupun material selama awal perkuliahan hingga selesai.
7. Rekan seperjuangan penulis Yoanita Alrina Wulandari, Elisabeth Hutaminingsih, Refos Junio dan Erike A. yang telah membantu dari awal sampai akhir penelitian.
8. Sahabat-sahabat tersayang Hans Cristian Adhinatya Harsono, I Gusti Ngurah Mahendra, I Made Rian Putra Gunawan, Mario Jose Selvio Ufi, Erdo Pratomo, Bagas Wahyu Nugroho, Stefan Michael Hans, Stevanus Marcellino Suryadi, Prasetyo Rismawan, Efendi Anggara, Gracia Gazali, Ni Komang Sri Ariesty, Lavenia Hans, dan Juniya Rusmayani yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa dari awal penyusunan hingga terselesainya skripsi ini.
9. Rekan-rekan organisasi BPMU generasi 8 dan generasi 9, Mentorship, UKM Petugas Liturgi dan Mahasiswa Duta Widya Mandala 2018 yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa dari awal penyusunan hingga terselesainya skripsi ini.

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, 29 Juni 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Pertanyaan Kajian Ulang Literatur.....	7
1.4 Tujuan Penelitian.....	7
1.5 Hipotesis Penelitian.....	8
1.6 Manfaat Penelitian	8
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Fungi Endofit.....	10
2.2 Kurva Pertumbuhan Fungi.....	15
2.3 L-asparaginase	17
2.3.1 Struktur Enzim L-asparaginase	19
2.3.2 pH Optimum L-asparaginase	21
2.3.3 Suhu Optimum L-asparaginase	21
2.3.4 Kurva Produksi L-asparaginase.....	22
2.4 Determinasi Aktivitas Enzim L-asparaginase	22

	Halaman
BAB III : METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1 Penelitian di Laboratorium	26
3.1.1 Jenis Penelitian.....	26
3.1.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	28
3.1.3 Metode Penelitian.....	30
3.1.4 Variabel Penelitian	33
3.1.5 Tahapan Penelitian	34
3.1.6 Analisa Data.....	45
3.1.7 Skema Kerja.....	50
3.2 Kajian Ulang Literatur.....	51
3.2.1 Jenis Penelitian.....	51
3.2.2 Populasi dan Sample.....	51
3.2.3 Teknik Pengumpulan Data.....	53
3.2.4 Analisa Data.....	53
3.2.5 Kerangka Opresional	54
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN	55
4.4 Hasil Penelitian.....	55
4.4.1 Penelitian di Laboratorium	55
4.1.2 Kajian Ulang Literatur.....	60
4.2 Pembahasan Penelitian	67
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN	81
5.1 Kesimpulan.....	81
5.2 Saran.	81
DAFTAR PUSTAKA.....	83

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1	Hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit MC2 pada perbesaran 10x40..... 56
Tabel 4.2	Hasil uji biokimia fungi endofit MC2 inkubasi 24 jam 57
Tabel 4.3	Hasil pengamatan aktivitas enzim L-asparaginase dari fungi endofit MC2..... 58
Tabel 4.4	Hasil pengamatan aktivitas enzim L-glutaminase dari fungi endofit MC2..... 59
Tabel 4.5	Produksi enzim L-asparaginase dari berbagai fungi..... 62
Tabel 4.6	Aktivitas enzim L-asparaginase dari berbagai fungi dan metode uji aktivitas..... 63
Tabel 4.7	pH optimum enzim L-asparaginase dari beberapa sumber..... 64
Tabel 4.8	Suhu optimum enzim L-asparaginase dari beberapa sumber..... 65
Tabel 4.9	Kestabilan enzim L-asparaginase terhadap pengaruh pH dari beberapa sumber..... 66
Tabel 4.10	Kestabilan enzim L-asparaginase terhadap pengaruh suhu dari beberapa sumber 67

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Hifa dan miselium..... 11
Gambar 2.2	Pembentukan metabolit primer dan sekunder..... 12
Gambar 2.3	Pengamatan makroskopis koloni murni fungi endofit MC2 pada usia 6 hari menggunakan media MEA..... 13
Gambar 2.4	Pengamatan mikroskopis fungi endofit MC2 menggunakan laktofenol 14
Gambar 2.5	Hasil positif uji biokimia..... 14
Gambar 2.6	Hasil positif skrining aktivitas L-asparaginase dengan menggunakan media MCD agar 14
Gambar 2.7	Kurva pertumbuhan fungi..... 16
Gambar 2.8	Kurva pertumbuhan fungi <i>Oidiodendron kalrai</i> 16
Gambar 2.9	Skema mekanisme kerja L-asparaginase 17
Gambar 2.10	Struktur L-asparaginase dari <i>E. chrysanthemi</i> 20
Gambar 2.11	Struktur sekunder L-asparaginase 20
Gambar 3.1	Mikroplate untuk penetapan kadar protein ekstrak kasar enzim L-asparaginase dari fungi endofit MC2 genus <i>Oidiodendron</i> 45
Gambar 3.2	Diagram Alir Kerja Karakterisasi Enzim L-asparaginase dari Fungi Endofit Genus <i>Oidiodendron</i> yang Diisolasi dari Daun Tomat 50
Gambar 3.3	Kerangka operasional kajian ulang literatur 54
Gambar 4.1	Makroskopis fungi endofit MC2 genus <i>Oidiodendron</i> usia 5 hari 56
Gambar 4.2	Kurva pertumbuhan fungi endofit MC2 60
Gambar 4.3	Pemilihan jurnal metode kajian ulang literatur 61
Gambar 4.4	Kurva pH optimum enzim L-asparaginase dari <i>Aspergillus</i> 76

	Halaman
Gambar 4.5 Kurva suhu optimum enzim L-asparaginase dari <i>Aspergillus</i>	77
Gambar 4.6 Kestabilan enzim L-asparaginase dari <i>Aspergillus</i> terhadap pengaruh pH	79
Gambar 4.7 Kestabilan enzim L-asparaginase dari <i>Aspergillus</i> terhadap pengaruh suhu.....	80

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Kurva Pertumbuhan Fungi Endofit MC2.....	90