

**METODE PENGENDAPAN AMMONIUM SULFAT
UNTUK PEMURNIAN PARSIAL ENZIM L-
ASPARAGINASE PADA BAKTERI DAN FUNGI
(KAJI ULANG PUSTAKA)**



YOANITA ALRINA WULANDARI

2443016156

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2020

**METODE PENGENDAPAN AMMONIUM SULFAT UNTUK
PEMURNIAN PARSIAL ENZIM L-ASPARAGINASE PADA
BAKTERI DAN FUNGI
(KAJI ULANG PUSTAKA)**

SKRIPSI

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

OLEH:

YOANITA ALRINA WULANDARI

2443016156

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

Pembimbing II,



Henry Kurnia S, S.Si. M.Si., Apt.

NIK. 241.97.0283

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 : **Metode Pengendapan Ammonum Sulfat Untuk Pemurnian Parsial Enzim L-asparaginase Pada Bakteri dan Fungi (Kaji Ulang Literatur)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan diinternet 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, 19 Juli 2020



Yoanita Alrina Wulandari

2443016156

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 menetima sangsi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 19 Juli 2020



Yoanita Alrina Wulandari
2443016156

ABSTRAK

METODE PENGENDAPAN AMMONIUM SULFAT UNTUK PEMURNIAN PARSIAL ENZIM L-ASPARAGINASE PADA BAKTERI DAN FUNGI (KAJI ULANG PUSTAKA)

YOANITA ALRINA WULANDARI
2443016156

L-asparaginase merupakan salah satu agen kemoterapi dalam pengobatan kanker khususnya leukimia limfoblastik akut pada anak-anak. L-asparaginase memiliki karakteristik khusus sebagai enzim hidrolitik pada L-asparagin yang dapat digunakan sebagai pengobatan leukimia limfoblastik akut untuk anak-anak. Untuk aplikasinya sebagai agen terapi dibutuhkan pemurnian enzim L-asparaginase untuk memperoleh aktivitas dalam jumlah yang besar dan kemurnian yang lebih tinggi. Pada penelitian ini dilakukan studi literatur mengenai pemurnian parsial enzim L-asparaginase menggunakan metode pengendapan ammonium sulfat pada fungi dan bakteri. Pemurnian parsial enzim dengan metode pengendapan ammonium sulfat merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan untuk menghilangkan protein yang tidak diinginkan. L-asparaginase dapat diendapkan secara optimal dengan kejenuhan ammonium sulfat 80%. Namun demikian, agar diperoleh L-asparaginase dengan kemurnian yang tinggi maka umumnya proses pemurnian dilanjutkan dengan tahap kedua yang melibatkan pemurnian secara kromatografi. Metode kromatografi yang sering dilakukan untuk pemurnian L-asparaginase adalah kromatografi penukar ion. Untuk memonitor proses dan hasil pemurnian dibutuhkan prosedur penentuan aktivitas enzim. Metode Nessler, yang didasarkan pada pembentukan warna kuning coklat sebagai hasil reaksi reagen Nessler dan ammonia yang merupakan produk reaksi enzimatik, adalah metode penentuan aktivitas enzim L-asparaginase yang paling banyak dilakukan. Namun demikian metode ini digunakan pada tahap akhir proses pemurnian saat enzim L-asparaginase telah bebas dari ammonium sulfat.

Kata Kunci: L-asparaginase, pemurnian, pengendapan, ammonium sulfat

ABSTRACT

AMMONIUM SULPHATE PRECIPITATION METHOD FOR PARTIAL PURIFICATION OF L-ASPARAGINASE ENZYME FROM BACTERIA AND FUNGI (LITERATURE REVIEW)

**YOANITA ALRINA WULANDARI
2443016156**

L-asparaginase is one of the chemotherapy agents in the treatment of cancer, especially acute lymphoblastic leukemia in children. L-asparaginase has special characteristics as a hydrolitic enzyme in L-asparaginase that can be used as an acute lymphoblastic leukemia treatment for children. For its application as a therapeutic agents, L-asparaginase enzyme needs to be purified to obtain larger quantities and higher activity. In this research, a literature study was conducted on the partial purification of the enzyme L-asparaginase using ammonium sulphate precipitation method in bacteria and fungi. Partial purification of enzyme by ammonium sulphate precipitation method is one of the most frequently used methods for removing unwanted proteins. L-asparaginase can be optimally precipitated with 80% of ammonium sulphate saturation. However, in order to obtain L-asparaginase with high purity, the purification process is often continued with the second purification step using chromatography. The most commonly performed chromatographic method for L-asparaginase purification is ion-exchange chromatography. A certain procedure of enzyme activity assay is needed to monitor the process and purification results needed. The Nessler method, which is based on the formation of yellow-brownish product as a result of the reaction between Nessler reagent and ammonia as the enzymatic reaction product, is most common used to determine the activity of the L-asparaginase enzyme. However this method is used in the final purification process when the L-asparaginase enzyme is already free of ammonium sulphate.

Keywords: L-asparaginase, purification, precipitation, ammonium sulphate

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Metode Pengendapan Ammonium Sulfat Untuk Pemurnian Parsial Enzim L-asparaginase Pada Bakteri dan Fungi (Kaji Ulang Literatur)**” yang disusun untuk memenuhi persyaratan guna mendapatkan gelar sarjana Farmasi di Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat diselesaikan dengan baik tanpa ada bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu selama pembuatan naskah skripsi ini, khususnya kepada :

1. Tuhan Yesus Kristus atas penyertaan-Nya dan telah mengaruniakan berkat, rahmat, dan hikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Orang tua tercinta papa Indro dan mama Naning serta kedua adik tersayang Stephanie Putri Anneta dan Carolina Yolanda Trihapsari yang selalu memberikan kasih sayang, motivasi, doa serta dukungan baik secara moral maupun material selama awal perkuliahan hingga selesai.
3. 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.
4. 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.

5. Ibu Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing I dan Bapak Henry Kurnia Setiawan, S.Si., M.Si., 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.
6. Bapak Prof. Dr. J. S Ami Soewandi, Apt. dan Ibu Anita Kurniati, S.Si., M.Si. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk menilai dan memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
7. Ibu Elisabeth Kasih, M.Farm.Klin., Apt. selaku penasihat akademik yang telah membimbing saya dalam proses pembelajaran selama perkuliahan.
8. Bapak dan Ibu Tata Usaha yang telah memberikan bantuan adminitrasi serta dukungan moral sehingga dapat terselesainya skripsi ini.
9. Rekan seperjuangan penulis Ricky, Elisabeth Hutaminingsih, Refos Junio dan Erike A. yang telah membantu dari awal sampai akhir penelitian.
10. Sahabat-sahabat tersayang Henoah Zebaoth, Kristian, Kinari, I Gusti Ngurah Mahendra, I Made Rian Putra Gunawan, Mario Jose Selvio Ufi, Erdo Pratomo, Bagas Wahyu Nugroho, Ni Komang Sri Ariesty, Audrey Marcelline yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa dari awal penyusunan hingga terselesainya skripsi ini.
11. Rekan-rekan organisasi Jarvis, Student Chapter Jatim Bali yang telah memberikan bantuan, semangat dan doa dari awal penyusunan hingga terselesaikannya skripsi ini.

12. Semua pihak yang sudah mendukung serta membantu proses penyelesaian skripsi ini.

Semoga hasil penelitian ini dapat memberi pengetahuan dan manfaat bagi masyarakat dan juga bidang kefarmasian. Disadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini.

Surabaya, 26 Juni 2020

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Enzim L-asparaginase.....	8
2.1.1 Reaksi Hidrolisis L-asparaginase.....	8
2.1.2 Struktur Enzim L-asparaginase.....	10
2.1.3 Tipe L-asparaginase.....	11
2.1.4 Sumber L-asparaginase.....	12
2.2 Determinasi Aktivitas Enzim L-asparaginase.....	13
2.3 Pemurnian Enzim.....	16
2.3.1 Pemurnian dengan Pengendapan Ammonium Sulfat.....	18
2.3.2 Dialisis.....	19
BAB III : METODOLOGI PENELITIAN.....	21
3.1 Metode Penelitian.....	21

	Halaman
3.2 Kajian Literatur.....	21
3.3 Populasi dan Sampel.....	21
3.3.1 Populasi.....	22
3.3.2 Sampel.....	22
3.4 Teknik Pengumpulan Data.....	23
3.4.1 Observasi Pemurnian Parsial Enzim L-asparaginase Menggunakan Metode Pengendapan Ammonium Sulfat.....	23
3.5 Analisis Data.....	25
3.5.1 Pengumpulan Data.....	25
3.5.2 Pengelompokan Data.....	26
3.5.3 Penyajian Data.....	26
3.5.3 Pembahasan dan Kesimpulan.....	26
3.7 Kerangka Operasional.....	27
BAB IV : PEMBAHASAN	28
4.1 Pemilihan Jurnal Terkait Purifikasi Enzim L-asparaginase.....	28
4.2 Produksi Enzim L-asparaginase dari Berbagai Mikroba.....	28
4.3 Pemurnian Enzim L-asparaginase.....	33
4.4 Pemurnian Parsial Enzim L-asparaginase	34
4.4.1 Pengendapan Enzim L-asparaginase dengan Ammonium Sulfat.....	34
4.4.2 Penentuan Aktivitas Enzim L-asparaginase.....	38
BAB V : KESIMPULAN	46
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46

	Halaman
DAFTAR PUSTAKA.....	47

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Berat Molekul Enzim L-asparaginase dari Beberapa Sumber.....	11
Tabel 2.2 Mikroorganisme penghasil L-asparaginase	13
Tabel 2.3 Perbandingan pemurnian antara metode kromatografi dan non kromatografi.....	17
Tabel 2.4 Teknik Pemurnian.....	18
Tabel 3.1 Tabel mengenai produksi enzim L-asparaginase yang berasal dari bakteri dan fungi.....	24
Tabel 3.2 Tabel observasi mengenai hasil rendemen dari beberapa bakteri dan fungi menggunakan metode <i>solid state fermentation</i> dan <i>submerged fermentation</i>	24
Tabel 3.3 Tabel observasi mengenai mikroba, metode dan aktivitas enzim.....	24
Tabel 3.4 Tabel observasi mengenai mikroba, metode pemurnian dan tingkat pemurnian.....	24
Tabel 4.1 Produksi enzim L-asparaginase yang berasal dari bakteri dan fungi.....	32
Tabel 4.2 Hasil rendemen dari beberapa bakteri dan fungi menggunakan metode <i>solid state fermentation</i> dan <i>submerged fermentation</i>	33
Tabel 4.3 Peningkatan aktivitas spesifik enzim L-asparaginase dengan berbagai langkah pada beberapa mikroba.....	37
Tabel 4.4 Tingkat pemurnian dari pengendapan ammonium sulfat dan dialisis L-asparaginase dari berbagai fungi dan bakteri.....	42

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 2.1	Reaksi Hidrolisis Enzim L-asparaginase.....	9
Gambar 2.2	Struktur L-asparaginase dari <i>E. Chrysanthem</i>	10
Gambar 2.3	Teknik Pemisahan Dialisis.....	20
Gambar 3.1	Kerangka Operasional.....	25
Gambar 4.1	Pemilihan Jurnal Terkait Pemurnian Enzim L-asparaginase	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Tabel kejenuhan Bollag, Rozycki, Edelstein.....	55