

**AKTIVITAS ENZIM L-ASPARAGINASE BAKTERI *Paenibacillus* sp.
DAN *Bacillus subtilis* RRM-1 YANG DIMUTASI DENGAN
SINAR ULTRAVIOLET (UV)**

SKRIPSI

Oleh:
FOURINA INDAH PUSPITA
NIM. 145080301111005



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**AKTIVITAS ENZIM L-ASPARAGINASE BAKTERI *Paenibacillus* sp.
DAN *Bacillus subtilis* RRM-1 YANG DIMUTASI DENGAN
SINAR ULTRAVIOLET (UV)**

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan di
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya**

Oleh :
FOURINA INDAH PUSPITA
NIM. 145080301111005



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

AKTIVITAS ENZIM L-ASPARAGINASE BAKTERI *Paenibacillus* sp.
DAN *Bacillus subtilis* RRM-1 YANG DIMUTASI DENGAN
SINAR ULTRAVIOLET (UV)

Oleh :
FOURINA INDAH PUSPITA
NIM. 145080301111005


telah dipertahankan didepan penguji
pada tanggal 6 Desember 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Mengotahui,
Ketua Jurusan MSP



(Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP)
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal : 17 DEC 2018

Menyetujui,
Dosen Pembimbing



(Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi, MP)
NIP. 19810602 200604 1 001
Tanggal : 17 DEC 2018



LEMBAR IDENTITAS PENGUJI

Judul : Aktivitas Enzim L-Asparaginase Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 Yang Dimutasi dengan Sinar Ultraviolet (UV)

Nama Mahasiswa : Fourina Indah Puspita

NIM : 145080301111005

Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan

PENGUJI PEMBIMBING

Dosen Pembimbing : Dr. Sc. Asep Awaludin Pihanto, S.Pi, MP.

PENGUJI BUKAN PEMBIMBING

1. Dosen Penguji 1 : Rahmi Nurdiani, S.Pi, Mapp.Sc, PhD
2. Dosen Penguji 2 : Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP.

Tanggal Ujian : 6 Desember 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS

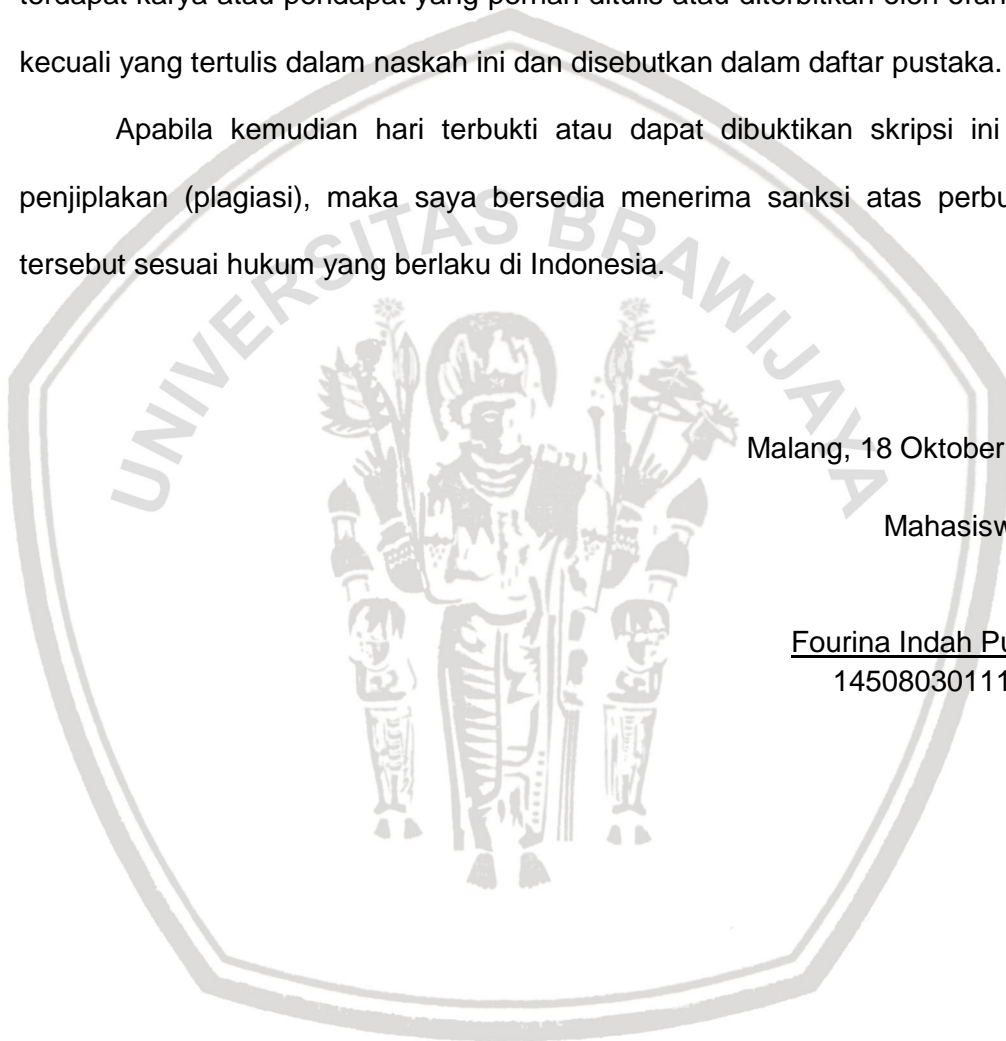
Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis dengan judul “Aktivitas Enzim L-Asparaginase Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 Yang Dimutasi dengan Sinar Ultraviolet (UV)” benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan, tersebut sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, 18 Oktober 2018

Mahasiswa

Fourina Indah Puspita
145080301111005



UCAPAN TERIMA KASIH

Skripsi ini dapat terselesaikan atas dukungan dan doa orang tua dan teman-teman. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada

1. Allah SWT atas karunia dan kesehatan yang diberikan selama ini sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Ayah dan Ibu, adik-adik, Bude Min, Nenek, Mama Eni dan Rizqi Akbar Ega Putra yang selalu memberikan do'a dan dukungan penuh tiada batas.
3. Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi, MP selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama penyusunan sampai dengan selesainya laporan skripsi ini.
4. Rahmi Nurdiani, S.Pi, Mapp.Sc, PhD dan Hefti Salis Yufidasari, S.Pi, MP selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun.
5. Teman – teman satu bimbingan Dhea, Ayangga, Aldino, Kiko, Yolanda, Johan dan Tamam serta pembimbing kedua Mas Kasyanto, S.Pi tanpa kalian skripsi ini tidak akan terselesaikan dengan baik.
6. Teman-teman terdekat yang selalu sabar mendengar keluh kesah selama ini dan selalu menemani Amel, Asma, Abida dan Hanum, Nopya, Jessica, Lita, Jani, Maria dan Diahavika dan teman-teman THP 2014.

Penulis menyadari laporan ini jauh dari kesempurnaan. Semoga laporan ini bisa bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, 18 Oktober 2018

Penulis

RINGKASAN

FOURINA INDAH PUSPITA. Aktivitas Enzim L-Asparaginase Bakteri *Paenibacillus* sp. Dan *Bacillus subtilis* RRM-1 Yang Dimutasi Dengan Sinar Ultraviolet (UV). (Dibawah bimbingan **Dr. Sc. Asep Awaludin Prihanto, S.Pi, MP**)

L-Asparaginase (E.C.3.5.1.1) merupakan enzim yang mengkatalis reaksi hidrolisis L-Asparagin menjadi asam aspartat dan amonia. Enzim L-Asparaginase dalam bidang kesehatan dapat dimanfaatkan salah satunya digunakan sebagai agen antineoplastik dalam mengobati penyakit leukemia. L-Asparaginase juga dapat mencegah pembentukan akrilamid, senyawa karsinogenik pemicu kanker yang terdapat dalam produk abon ikan. L-Asparaginase dalam jumlah besar dapat dihasilkan oleh bakteri. Penelitian ini dilakukan pada bakteri endofit mangrove yaitu *Paeniocillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang memiliki aktivitas enzim L-Asparaginase tetapi dalam jumlah rendah pada penelitian sebelumnya. Teknik mutasi dapat dimanfaatkan untuk peningkatan produksi enzim pada mikroba yang lebih efisien. UV mutagenesis merupakan metode mutasi fisik yang paling sederhana dan efektif, menyebabkan perubahan struktur DNA, sehingga bakteri dapat menghasilkan enzim lebih maksimal.

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan dan Laboratorium Parasit dan Penyakit Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang. Laboratorium Sentral Ilmu Hayati Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret – September 2018. Tujuan dari dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas enzim L-Asparaginase dari bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang dimutasi dengan sinar ultraviolet (UV).

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode eksploratif deskriptif. Penelitian ini dilakukan dengan tiga tahap yaitu, tahap pertama peremajaan isolat bakteri *Paeniocillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1. Tahap kedua melakukan proses mutagenesis bakteri menggunakan sinar ultraviolet (UV). Pada tahap ketiga melakukan uji aktivitas enzim L-Asparaginase dari bakteri mutan dengan *survival rate* 1% menggunakan media M9 *broth* modifikasi.

Bakteri *Paeniocillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 yang dimutasi dengan sinar ultraviolet (UV) pada jarak 15 cm selama (0, 30, 60, 90 dan 120 menit) nilai *survival rate* terbaik adalah 1%. *Survival rate* terbaik yaitu waktu paparan sinar UV selama 120 menit. 8 bakteri mutan *Paenibacillus* sp. tidak menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim L-Asparaginase, sedangkan dari 6 bakteri mutan *Bacillus subtilis* RRM-1 terdapat 2 mutan yang mengalami peningkatan aktivitas enzim L-Asparaginase yaitu mutan (UV-1) dan (UV-6). Saran untuk penelitian ini adalah sebaiknya dilakukan uji lanjut mengenai aktivitas enzim L-Asparaginase secara kuantitatif dan penelitian lanjutan mengenai stabilitas bakteri mutan penghasil enzim L-Asparaginase yang tinggi.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Enzim L-Asparaginase Bakteri *Paenibacillus* sp. dan *Bacillus subtilis* RRM-1 Yang Dimutasi dengan Sinar Ultraviolet (UV)”. Pembuatan Skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Sarjana perikanan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak sebagai masukan dan bahan pertimbangan untuk perbaikan pada penulisan selanjutnya. Akhir kata semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat yang sebesar-besarnya bagi penulis dan bagi masyarakat umumnya.

Malang, 18 Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

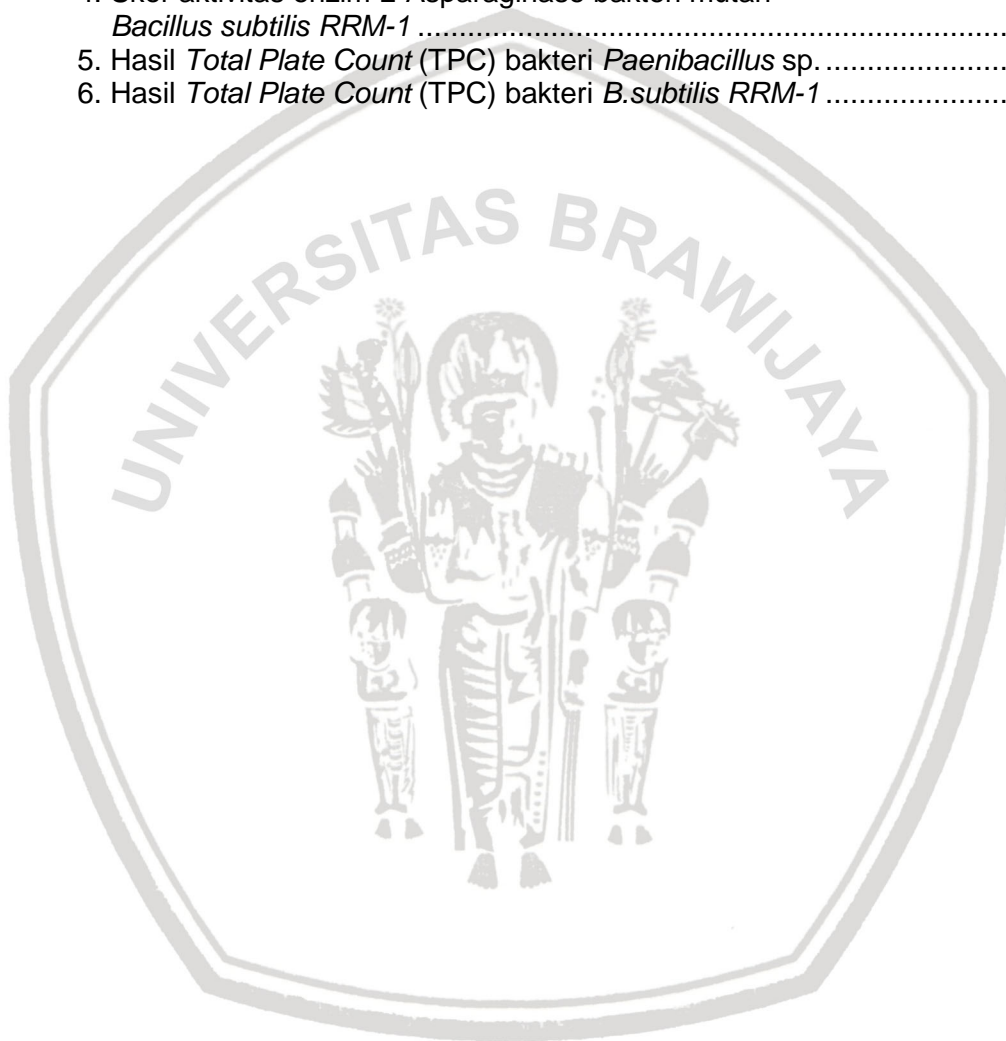
	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR IDENTITAS PENGUJI.....	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
UCAPAN TERIMAKASIH.....	v
RINGKASAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Kegunaan	3
1.5 Waktu dan Tempat.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim.....	4
2.2 Enzim L-Asparaginase.....	5
2.2.1 Manfaat Enzim L-Asparaginase	6
2.2.2 Sumber Enzim L-Asparaginase.....	8
2.3 Bakteri <i>Paenibacillus</i> sp.....	9
2.4 Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	9
2.5 Mutasi	10
2.6 Mutasi Menggunakan Sinar Ultraviolet (UV).....	12
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN	13
3.1 Materi Penelitian	13
3.1.1 Alat Penelitian	13
3.1.2 Bahan Penelitian.....	13
3.2 Metode Penelitian	14
3.3 Prosedur Penelitian.....	14
3.4 Tahap I (Peremajaan Bakteri)	15
3.5 Tahap II (Mutasi Bakteri <i>Paenibacillus</i> sp. dan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1 Menggunakan Sinar Ultraviolet	17
3.5.1 Kultur Bakteri <i>Paenibacillus</i> sp. dan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	17
3.5.2 Mutasi Bakteri dengan Sinar Ultraviolet (UV)	18
3.5.3 Pembuatan Media LBA dan Penanaman	20
3.5.4 Perhitungan Survival Rate Bakteri Mutan.....	21
3.5.5 Kultur Murni Bakteri Mutan.....	21
3.5.5.1 Inokulasi Bakteri Pada Media LB Agar Miring.....	21
3.5.5.2 Pemurnian Bakteri Mutan	22
3.6 Tahap III (<i>Screening</i> enzim L-Asparaginase)	24
3.6.1 Analisis Aktivitas Enzim L-Asparaginase.....	25

4. HASIL DAN PEMAHASAN	27
4.1 Peremajaan Bakteri <i>Paenibacillus sp.</i> dan <i>Bacillus subtilis RRM-1</i>	
4.2 Mutasi Bakteri <i>Paenibacillus sp.</i> dan <i>Bacillus subtilis RRM-1</i> dengan Sinar Ultraviolet (UV).....	27
4.3 Aktivitas Enzim L-Asparaginase Bakteri Mutan <i>Paenibacillus sp.</i> dan <i>Bacillus subtilis RRM-1</i>	31
4.3.1 Bakteri Mutan <i>Paenibacillus sp.</i>	31
4.3.2 Bakteri Mutan <i>Bacillus subtilis RRM-1</i>	34
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA.....	39
LAMPIRAN.....	44



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil <i>survival rate</i> bakteri <i>Paenibacillus</i> sp.....	28
2. Hasil <i>survival rate</i> bakteri <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1.....	28
3. Skor aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Paenibacillus</i> sp.	33
4. Skor aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	36
5. Hasil <i>Total Plate Count</i> (TPC) bakteri <i>Paenibacillus</i> sp.	59
6. Hasil <i>Total Plate Count</i> (TPC) bakteri <i>B.subtilis</i> RRM-1	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Reaksi enzim L-Asparaginase	5
2. Proses L-Asparaginase menghambat kanker	7
3. Skema kerja tahap I	16
4. Skema kerja tahap II	17
5. Mutasi sampel bakteri dengan sinar ultraviolet (UV)	19
6. Skema kerja tahap III	24
7. Skala warna aktivitas enzim L-Asparaginase	26
8. Hasil peremajaan bakteri <i>Paenibacillus</i> sp dan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	27
9. Isolat murni bakteri mutan <i>Paenibacillus</i> sp	28
10. Isolat murni bakteri mutan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	30
11. Hasil aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Paenibacillus</i> sp.	32
12. Hasil aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Isolat murni bakteri <i>Paenibacillus</i> sp. dan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1.....	44
2. Skema kerja pembuatan media LBA	45
3. Skema kerja tahap penanaman bakteri dengan metode <i>spread</i>	46
4. Skema kerja pemurnian bakteri dengan metode <i>streak plate</i> dan agar miring	47
5. Skema kerja pembuatan media M9 <i>broth</i> modifikasi	48
6. Hasil penanaman dengan metode <i>spread</i> bakteri <i>Paenibacillus</i> sp.	49
7. Hasil penanaman dengan metode <i>spread</i> bakteri <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1.....	54
8. Hasil Total Plate Count Agar (TPC).....	59
9. Grafik <i>survival rate</i> mutagenesis dengan sinar UV	60
10. Hasil skrinning enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Paeniacillus</i> sp.	61
11. Skoring aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri <i>Paenibacillus</i> sp.	63
12. Hasil skrinning enzim L-Asparaginase bakteri mutan <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1.....	64
13. Skoring aktivitas enzim L-Asparaginase bakteri <i>Bacillus subtilis</i> RRM-1.....	66
14. Perhitungan <i>survival rate</i> (%)	67