

**Purifikasi L-Asparaginase Dari Bawang Bombay
(*Allium cepa* L.) Menggunakan Kromatografi
Filtrasi Gel *Sephadex* G-100**

Ayu Sri Rahayu Setiawan, Wuryanti, Agustina Lina Nurul Aminin
Lab. Biokimia, Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas
Diponegoro Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275, Telepon (024)
7474754 setiawanayu@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan purifikasi L-asparaginase dari bawang bombay (*Allium cepa* L.). Tahapan penelitian meliputi isolasi L-asparaginase menghasilkan ekstrak kasar yang selanjutnya difraksinasi dengan amonium sulfat, dialisis, dan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 sehingga menghasilkan L-asparaginase dengan kemurnian lebih tinggi. Analisis L-asparaginase pada ekstrak kasar, hasil fraksinasi amonium sulfat, dan hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 dilakukan dengan penentuan aktifitas enzim dengan metode Nessler dan penentuan kadar protein dengan metode Lowry sehingga dapat ditentukan aktifitas spesifiknya. Hasil analisis diperoleh ekstrak kasar L-asparaginase dari bawang bombay (*Allium cepa* L.) dengan aktifitas spesifik sebesar 30,502 unit/mg protein. Aktifitas spesifik tertinggi dari fraksi amonium sulfat berada pada F₅ (80-100%) sebesar 30,831 unit/mg protein. F₅ (80-100%) selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 sehingga diperoleh aktifitas spesifik tertinggi berada pada fraksi 10 sebesar 6508,250 unit/mg protein dengan tingkat kemurnian lebih dari 200 kali dibandingkan dengan ekstrak kasar.

Kata kunci : *Allium cepa* L., L-asparaginase, uji aktifitas enzim, kromatografi filtrasi gel

ABSTRACT

L-asparaginase from onion (Allium cepa L.) was purified. Some stage of the work including isolation of L-asparaginase obtain of crude extract was further fractionated with ammonium sulphate, dialysis, and gel filtration chromatography Sephadex G-100 to produce L-asparaginase with a higher purity. Analysis of L-asparaginase in the crude extract, the ammonium sulphate fractionation, and results of gel filtration chromatography Sephadex G-100 is done by determining the activity of the enzyme with Nessler method and determination of protein content by Lowry method so it can be determined the specific activity. The analysis obtained are a crude extract of L-asparaginase from onion (Allium cepa L.) with a specific activity of 30.502 units/mg protein. The highest specific activity of the fraction of ammonium sulphate is at F₅ (80-100%) of 30.831 units/mg protein. F₅ was further purified by gel filtration chromatography sephadex G-100, obtained the highest specific activity was in fraction 10 by 6508.250 units/mg protein with a purity level more than 200 times compared to the crude extract.

Keywords : *Allium cepa* L., L-asparaginase, activity test, gel filtration chromatograph

I. PENDAHULUAN

Enzim merupakan biokatalisator yang mempercepat reaksi kimia dalam sistem biologi. Enzim bersifat spesifik terhadap substratnya (Lehninger, 1982). Enzim memiliki berbagai peran dalam kehidupan, misalnya di bidang kesehatan (Scopes, 1987). Salah satu enzim yang berperan di dalam bidang kesehatan adalah L-asparaginase (Konëenä dkk., 2004).

Enzim L-asparaginase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia (Handler dan Hill, 1978). L-asparagin merupakan nutrisi bagi sel kanker (Devlin dan Thomas, 1993). L-asparaginase dapat menghambat pertumbuhan sel kanker (Konëenä dkk., 2004).

Penelitian sebelumnya L-asparaginase telah berhasil diisolasi dari bawang bombay (*Allium cepa* L.), dimurnikan dengan fraksinasi amonium sulfat, dan dikarakterisasi (Widuri, 2009). Pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat didasarkan atas sifat-sifat garam seperti kelarutannya dalam mengendapkan protein. Penambahan garam menyebabkan terjadinya peningkatan kekuatan ion dalam larutan yang dapat menyebabkan penurunan efek penolakan dari muatan yang serupa diantara molekul-molekul protein yang identik (Chaplin dan Bucke, 2004). Pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat menghasilkan fraksi-fraksi yang mengandung beragam protein yang identik yang memiliki gaya menolak antar muatan serupa. L-asparaginase yang diperoleh dari fraksinasi amonium sulfat memiliki kemurnian yang masih sangat rendah.

Pada penelitian ini dilakukan pemurnian lebih lanjut L-asparaginase dari bawang bombay menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100. Kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 merupakan metode pemisahan protein didasarkan atas perbedaan ukuran molekul (Lehninger, 1982). L-asparaginase yang akan diperoleh dari kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 diharapkan jauh lebih murni dikarenakan L-asparaginase dipisahkan dari molekul protein lain didasarkan perbedaan ukuran molekulnya.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan enzim L-asparaginase dari bawang bombay (*Allium cepa* L.) dengan kemurnian lebih tinggi menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 serta mendapatkan data fraksi *sephadex* yang memiliki aktifitas spesifik tertinggi.

II. METODE KERJA

2.1 Bahan dan

Alat 2.1.1 Bahan

Bawang bombay, bufer tris-hidroksimetil aminometan, amonium sulfat, membran selofan, L-asparagin, *Trichloro acetate* (TCA), *Bovine serum albumin* (BSA), *Follin ciocalteau*, *Sephadex* G-100, akuades, akuabides, dll.

2.1.2 Alat

Alat-alat gelas laboratorium, Timbangan (Kern 444-45), pHmeter (EUTECH Instrument PC 510), *Blender* (Philip), Sentrifus (Centrifuc-228), Kulkas (Sharp), Pengaduk magnet (Quart), Spektrofotometer *UV-Vis* (Shimadzu), Inkubator (Memmert), Kromatografi kolom *sephadex* G-100, dll.

2.2 Cara Kerja

2.2.1 Isolasi L-Asparaginase

Bawang bombay diiris-iris ditambah bufer tris-hidroksimetil aminometan (0,2 M; pH 8,9) dan dihomogenisasi dengan blender selama 20 menit. Homogenat yang diperoleh didiamkan selama 1-2 jam pada suhu 5 °C, kemudian disaring dan filtratnya disentrifus pada 3400 rpm selama 15 menit. Filtrat yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar enzim L-asparaginase.

2.2.2 Fraksinasi dengan Garam Amonium Sulfat

Amonium sulfat yang telah ditimbang dimasukkan ke dalam ekstrak kasar sambil diaduk dengan pengaduk magnet dalam tempat yang direndam es. Campuran tersebut dibiarkan semalam dalam keadaan dingin kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3400 rpm selama 50 menit sehingga diperoleh endapan fraksi 0-20% (F₁) dan filtratnya. Endapan dipisahkan kemudian disuspensikan dengan bufer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH 8,9. Filtrat yang dihasilkan diperlakukan sama

sehingga didapatkan fraksi dengan tingkat kejenuhan 20-40% (F₂), 40-60% (F₃), 60-80% (F₄), 80-100% (F₅). Hasil fraksinasi selanjutnya didialisis sehingga didapatkan fraksi-fraksi bebas amonium sulfat.

2.2.3 Penentuan Aktifitas L-Asparaginase

Satu unit L-asparaginase didefinisikan sebagai banyaknya enzim L-asparaginase yang dapat membentuk 1 mol NH₄⁺ per menit pada kondisi optimum (Paul, 1982). Sebanyak 1 mL larutan L-asparagin 0,1665 M, ditambah 0,2 mL enzim hasil fraksinasi, dan ditambah 0,8 mL bufer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH 8,9 diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Setelah itu, ditambah 0,2 mL larutan TCA 1,5 M dan disentrifugasi pada kecepatan 3400 rpm selama 15 menit. Sebanyak 0,25 mL filtrat diambil kemudian ditambah 4,25 mL akuades dan 0,5 mL pereaksi Nessler, lalu absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis* pada λ max 400 nm. Aktifitas enzim ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar amonium sulfat.

2.2.5 Penentuan Kadar Protein dengan Metode Lowry

Kadar protein hasil fraksinasi amonium sulfat ditentukan dengan metode Lowry menggunakan larutan *Bovine serum albumin* (BSA) sebagai protein standar. Absorbansi larutan diukur dengan spektrofotometer *UV-Vis*. Kadar protein diukur ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar BSA.

2.2.6 Pemurnian dengan Kromatografi Filtrasi Gel *Sephadex G-100*

Fraksi amonium sulfat yang memiliki aktifitas spesifik tertinggi diaplikasikan ke dalam kolom *sephadex G-100* (1 cm x 55 cm) yang sebelumnya telah diekuilibrasi dengan bufer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH 8,9 dengan laju elusi yaitu 20 mL/jam. Fraksi-fraksi yang didapat kemudian ditampung dan dianalisis kandungan protein dan aktifitas enzim L-asparaginasenya.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

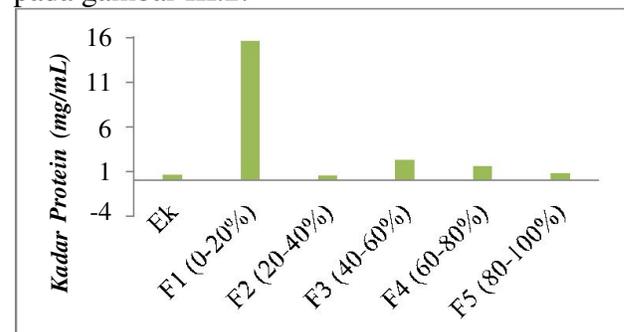
3.1 L-asparaginase pada Fraksi Amonium Sulfat

Filtrat yang ditunjukkan pada gambar III.1 adalah hasil isolasi L-asparaginase dari bawang bombay yang selanjutnya disebut sebagai ekstrak kasar (Ek).



Gambar III.1 Filtrat bawang bombay Ekstrak kasar (Ek) selanjutnya dimurnikan

dengan fraksinasi amonium sulfat dan didialisis, sehingga menghasilkan fraksi-fraksi, yaitu F₁, F₂, F₃, F₄, dan F₅ yang bebas amonium sulfat. Ekstrak kasar dan fraksi-fraksi yang telah didapat selanjutnya diukur kadar protein dan diuji aktifitas enzim L-asparaginase, sehingga dapat ditentukan aktifitas spesifiknya. Hasil penentuan kadar protein dari ekstrak kasar dan hasil fraksinasi amonium sulfat ditunjukkan pada gambar III.2:



Gambar III.2 Grafik kadar protein fraksi amonium sulfat

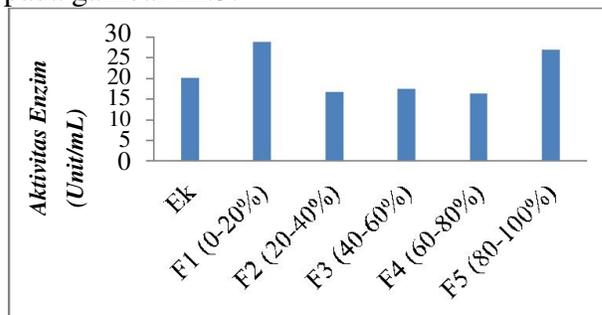
Pada gambar III.2 tampak profil kadar protein ekstrak kasar dan fraksi-fraksi amonium sulfat. Dari gambar tersebut terlihat bahwa fraksi yang memiliki kadar protein tertinggi adalah F₁ sebesar 15,647 mg/mL, sedangkan fraksi-fraksi yang lain memiliki kadar protein kurang dari 3 mg/mL. Jika dilihat dari gambar di atas kadar protein ekstrak kasar jauh lebih rendah daripada F₁. Sebenarnya, kadar protein ekstrak kasar tidak bisa dibandingkan dengan kadar protein dari tiap fraksi hasil fraksinasi amonium sulfat. Hal ini dikarenakan fraksi-

fraksi tersebut lebih pekat daripada ekstrak kasar. Fraksi-fraksi tersebut merupakan endapan yang dihasilkan dari fraksinasi amonium sulfat, kemudian disuspensikan dengan bufer. Selain itu, di dalam ekstrak kasar tidak hanya mengandung molekul-molekul protein tetapi juga mengandung molekul-molekul lain seperti karbohidrat dan lipid, sedangkan di dalam tiap fraksi sudah dipisahkan antara molekul protein dengan molekul non protein.

Menurut Chaplin (2004), protein yang mengandung asam-asam amino hidrofobik akan mengendap pada konsentrasi garam yang lebih rendah dibandingkan protein yang mengandung asam-asam amino hidrofilik. Hal tersebut dikarenakan pada tingkat kejenuhan garam amonium sulfat berikatan dengan molekul air, sedangkan protein yang mengandung asam amino hidrofobik paling banyak akan mengendap. Protein dengan asam amino hidrofilik tidak akan mengendap dan berada pada filtrat. Protein yang bersifat lebih hidrofilik akan mengendap jika sudah berada pada tingkat kejenuhan garam tertinggi (80-100%). Semakin banyak molekul air yang berikatan dengan ion-ion garam akan menyebabkan penarikan molekul air yang mengelilingi permukaan protein. Peristiwa ini mengakibatkan protein saling berinteraksi, teragregasi, dan mengendap (Scopes, 1993). Jika dilihat dari data pada gambar III.2 protein yang paling banyak mengendap berada pada kadar amonium sulfat 0-20% (F₁) yang bersifat lebih hidrofobik dibandingkan protein yang mengendap pada konsentrasi garam 80-100%. Hal tersebut berarti protein-protein yang terdapat pada ekstrak kasar mengandung asam-asam amino hidrofobik dengan jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan protein-protein yang mengandung asam-asam amino hidrofilik.

Setelah kadar protein dari ekstrak kasar dan tiap fraksi hasil fraksinasi amonium sulfat diperoleh, selanjutnya dapat ditentukan aktifitas enzim L-asparaginase. Hasil penentuan aktifitas enzim L-asparaginase dari ekstrak kasar dan

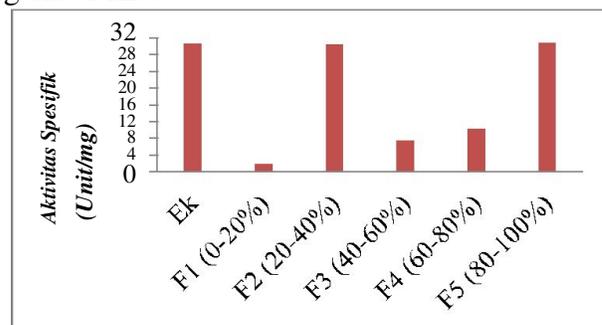
hasil fraksinasi amonium sulfat ditunjukkan pada gambar III.3:



Gambar III.3 Grafik aktifitas enzim L-asparaginase fraksi amonium sulfat

Pada gambar III.3 di atas menunjukkan profil aktifitas L-asparaginase dari ekstrak kasar dan fraksi-fraksi amonium sulfat. Dari gambar tersebut tampak bahwa fraksi yang memiliki aktifitas enzim tinggi adalah F₁ dan F₅ dengan aktifitas enzim lebih dari 25 unit/mL, sedangkan F₂ hingga F₄ memiliki aktifitas enzim ± 17 unit/mL. Pada ekstrak kasar memiliki aktifitas enzim sebesar 20,070 unit/mL.

Setelah kadar protein dan aktifitas enzim dari ekstrak kasar dan tiap fraksi hasil fraksinasi amonium sulfat diperoleh, aktifitas spesifik L-asparaginase dapat ditentukan. aktifitas spesifik pada fraksi amonium sulfat diperoleh dari hasil bagi antara aktifitas enzim dengan kadar protein pada fraksi amonium sulfat. Hasil penentuan aktifitas spesifik dari ekstrak kasar dan hasil fraksinasi amonium sulfat ditunjukkan pada gambar III.4:



Gambar III.4 Grafik aktifitas spesifik L-asparaginase fraksi amonium sulfat

Pada gambar III.4 tampak aktifitas spesifik pada ekstrak kasar dan fraksi-fraksi amonium sulfat. Aktifitas spesifik tertinggi berada pada fraksi ke-5 sebesar 30,831 unit/mg

protein. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Widuri (2009) yang aktifitas spesifik tertingginya juga diperoleh pada F₅. Tetapi aktifitas spesifik tertinggi yang diperoleh Widuri (2009) lebih tinggi, yaitu sebesar 2529,879 unit/mg protein. Perbedaan besarnya aktifitas spesifik tersebut dikarenakan bawang bombay yang digunakan sejenis tapi mungkin berbeda dari tingkat kematangan, usia dari bawang bombay, serta asal diperolehnya bawang bombay yang akan digunakan.

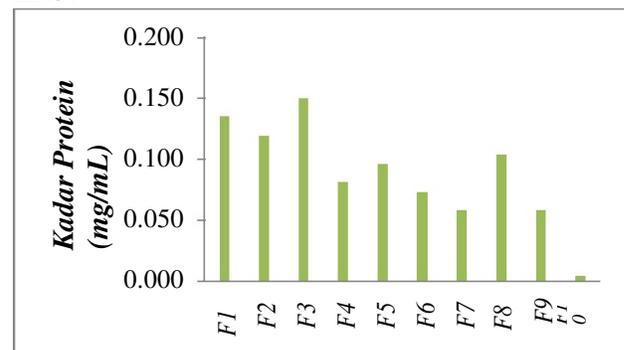
Jika dilihat pada gambar di atas, F₂ memiliki aktifitas spesifik yang tidak jauh berbeda dengan F₅, yaitu sebesar 30,533 unit/mg protein, sehingga seolah-olah L-asparaginase yang diperoleh memiliki dua karakter yang berbeda. F₂ bersifat lebih hidrofobik sedangkan F₅ bersifat lebih hidrofilik. Hal tersebut mungkin dikarenakan ada L-asparaginase yang terletak di lapisan membran plasma pada sel bawang bombay sehingga L-asparaginase tersebut bersifat hidrofobik dan terendapkan pada tingkat kejenuhan garam 20-40% (F₂).

Aktifitas spesifik F₅ dan ekstrak kasar tidak berbeda secara signifikan. Hal tersebut berarti proses fraksinasi amonium sulfat tidak terlalu efektif dalam memurnikan suatu protein dalam hal ini adalah L-asparaginase. Penelitian ini merujuk pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Widuri (2009) yang sama-sama menunjukkan aktifitas spesifik tertinggi berada pada F₅, sehingga penelitian ini dapat dilanjutkan ke tahap selanjutnya menggunakan F₅. F₅ yang diperoleh pada tahap ini selanjutnya dilakukan pemurnian lebih lanjut menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100.

3.2 L-asparaginase Hasil Kromatografi Filtrasi Gel *Sephadex* G-100

Hasil yang telah diperoleh pada tahap sebelumnya adalah F₅ (80-100%) dari fraksi amonium sulfat yang memiliki aktifitas spesifik tertinggi, namun karena L-asparaginase yang terkandung dalam F₅ belum terlalu murni maka dilakukan pemurnian lebih lanjut menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100. Proses

pemurnian dengan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 ini menghasilkan fraksi-fraksi yang selanjutnya diukur kadar protein dan diuji aktifitas enzim sehingga diperoleh aktivitas spesifik L-asparaginase. Hasil penentuan kadar protein dari tiap fraksi hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 ditunjukkan pada gambar III.5:



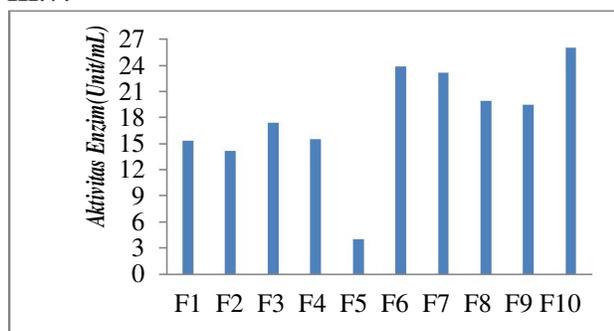
Gambar III.5 Grafik kadar protein hasil kromatografi

Pada gambar III.5 menunjukkan profil kadar protein hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100. Kadar protein yang tertinggi berada pada fraksi 3, yaitu sebesar 0,150 mg/mL. Kadar protein yang terendah berada pada fraksi 10, yaitu sebesar 0,004 mg/mL. Hal ini berarti fraksi 10 mengandung molekul protein lebih kecil dibandingkan dengan fraksi-fraksi sebelumnya. Fraksi ke-1 hingga ke-3 menunjukkan kadar protein yang lebih tinggi dibandingkan fraksi-fraksi sesudahnya.

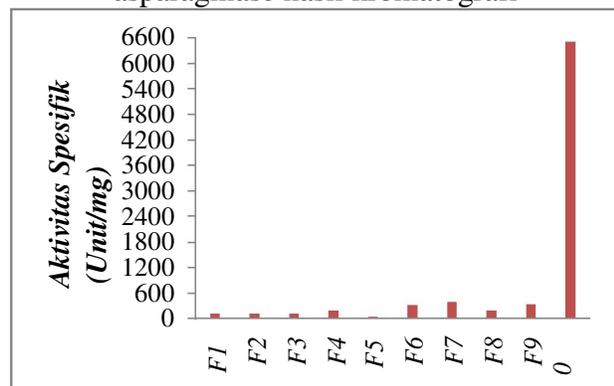
Kromatografi filtrasi gel yaitu metode pemisahan protein yang berdasarkan perbedaan ukuran molekul dari suatu protein. Proses pemisahan menggunakan matriks gel berpori yang dipak di dalam kolom dan dikelilingi oleh solven. Sampel yang mengandung campuran molekul besar dan kecil dilewatkan ke dalam kolom. Molekul protein yang lebih kecil dapat menembus ke dalam pori-pori butiran dan karenanya tertahan selama aliran ke bawah kolom. Molekul protein yang besar tidak dapat menembus ke dalam pori-pori butiran dan melewati kolom lebih cepat. Molekul protein yang berukuran menengah akan mengalir ke bawah pada kecepatan antara tergantung pada

kemampuannya menembus butiran (Lehninger, 1982).

Setelah kadar protein ditentukan, maka selanjutnya dilakukan penentuan aktifitas enzim L-asparaginase hasil kromatografi. Jika kadar protein dan aktifitas enzim telah diketahui, maka aktifitas spesifik hasil kromatografi dapat ditentukan. Hasil penentuan aktifitas enzim dan aktifitas spesifik L-asparaginase dari tiap fraksi hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 berturut-turut ditunjukkan pada gambar III.6 dan III.7:



Gambar III.6 Grafik aktifitas enzim L-asparaginase hasil kromatografi



Gambar III.7 Grafik aktifitas spesifik L-asparaginase hasil kromatografi

Pada gambar IV.8 menunjukkan profil aktifitas enzim L-asparaginase yang diperoleh hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100. Dari data tersebut tampak bahwa tiap-tiap fraksi hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 terdapat L-asparaginase meskipun besar aktifitas enzimnya berbeda-beda. Hal ini bukan berarti tiap fraksi mengandung L-asparaginase dengan ukuran molekul yang berbeda-beda. Tiap-tiap fraksi mengandung L-asparaginase mungkin dikarenakan molekul L-asparaginase menempel

pada molekul-molekul protein lainnya yang memiliki ukuran molekul lebih besar daripada ukuran molekul dari L-asparaginase, sehingga aktifitas enzim L-asparaginase terukur di tiap fraksi. Hal ini dibuktikan dari gambar III.6 dan III.7 yang menunjukkan fraksi 1 hingga fraksi 9 memiliki aktifitas enzim yang cukup tinggi, tetapi memiliki aktifitas spesifik yang sangat rendah dibandingkan dengan aktifitas spesifik fraksi 10. Hal ini dikarenakan fraksi 1 hingga fraksi 9 mengandung molekul-molekul protein selain L-asparaginase yang telah ditunjukkan oleh profil kadar protein pada gambar III.5.

Frakasi 10 memiliki aktifitas enzim yang tertinggi, yaitu sebesar 26,033 unit/mL, dengan kadar protein terendah sebesar 0,004 mg/mL, sehingga aktifitas spesifiknya sangat tinggi, yaitu sebesar 6508,250 unit/mg protein. Hal ini berarti fraksi 10 mengandung L-asparaginase dengan kemurnian lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi-fraksi sebelumnya. L-asparaginase pada fraksi 10 mengalami peningkatan kemurnian lebih dari 200 kali dibandingkan dengan data aktifitas spesifik ekstrak kasar 30,502 unit/mg protein. Hal tersebut berarti hasil pemurnian L-asparaginase menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 lebih efektif dibandingkan dengan hasil pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat.

Penelitian isolasi L-asparaginase yang lain juga melakukan pemurnian L-asparaginase menggunakan fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100. L-asparaginase *Streptomyces spp.* menghasilkan ekstrak kasar yang memiliki aktivitas spesifik sebesar 384.6 unit/mg protein. Hasil fraksinasi amonium sulfat menunjukkan aktivitas spesifik sebesar 536,6 unit/mg protein, sedangkan hasil dari kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 menunjukkan aktivitas spesifik sebesar 662,6 unit/mg protein yang mengalami peningkatan kemurnian dua kali dari ekstrak kasarnya (Basha dkk., 2009). Aktivitas spesifik L-asparaginase dari ekstrak kasar *Erwinia carotovora* sebesar 1,36 unit/mg protein, namun setelah difraksinasi amonium sulfat sebesar 3,57 unit/mg protein,

dan hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 sebesar 16,4 unit/mg protein dengan tingkat kemurnian 12,11 kali dari ekstrak kasarnya (Warangkar dan Khobgrade, 2010). Ekstrak kasar hati ayam memiliki aktivitas spesifik sebesar 1,23 unit/mg protein, hasil fraksinasi amonium sulfat sebesar 2,47 unit/mg protein, dan hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 sebesar 18,2 unit/mg protein dengan tingkat kemurnian 14,8 kali dari ekstrak kasarnya (El-Sayed dkk., 2011).

Data di atas menunjukkan perbedaan besarnya aktifitas spesifik L-asparaginase dari berbagai sumber. Hal tersebut berarti L-asparaginase yang diperoleh dari suatu sumber memiliki aktifitas spesifik yang berbeda dengan sumber yang lainnya. Hasil pemurnian dengan fraksinasi amonium sulfat dan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 yang telah dilakukan menunjukkan peningkatan kemurnian dari L-asparaginase yang berbeda dari tiap sumber. Pemurnian L-asparaginase dengan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 bisa dimurnikan lagi menggunakan metode pemurnian yang lain. El-Sayed dkk. (2011) memurnikan L-asparaginase hasil kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 yang menunjukkan tingkat kemurnian sebesar 128,5 kali dari ekstrak kasarnya. Warangkar dan Khobgrade (2010) telah berhasil memurnikan L-asparaginase menggunakan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 dan dengan kromatografi pertukaran ion CM Cellulose serta DEAE *sephadex* yang masing-masing menunjukkan peningkatan kemurnian sebesar 228,6 kali dan 752,9 kali dari ekstrak kasarnya.

IV. KESIMPULAN

L-asparaginase ekstrak bawang bombay (*Allium cepa* L.) difraksinasi dengan amonium sulfat menghasilkan fraksi dengan aktifitas spesifik tertinggi berada pada F₅ (80-100%) sebesar 30,831 unit/mg protein. Hasil tersebut selanjutnya dimurnikan dengan kromatografi filtrasi gel *sephadex* G-100 sehingga didapat aktifitas spesifik tertinggi berada pada fraksi 10

yaitu sebesar 6508,250 unit/mg protein dengan tingkat kemurnian lebih dari 200 kali jika dibandingkan ekstrak kasar.

V. DAFTAR PUSTAKA

- Basha, N.S., Rekha, R., Komala, M., dan Ruby, S., 2009, Production of Extracellular Anti-leukaemic Enzyme L-asparaginase from Marine Actinomycetes by Solid-state and Submerged Fermentation: Purification and Characterisation, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 8 (4), 358
- Chaplin, M.F., Bucke C., 1990, *Enzyme Technology*, 85-86, Cambridge Univ. Pr., New York
- Devlin, Thomas M., 1993, *Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations*, edisi ke-3, 358, A John Wiley and Sons Inc., New York
- El-Sayed, El-Sayed, M., El-Sayed, S.T., Wafaa, Shousa, G., Shehata A.N., dan Hanafy, S.S., 2011, Purification, Characterization and Antitumor Activity of L-asparaginase from Chicken Liver, *Journal of American Science*, 7 (1), 442
- Handler, P., Hill, R.L., 1978, *Principles of Biochemistry*, edisi ke-6, 729-730, McGraw-Hill Kogakusha, LTD., New York
- Končena, P., Klejdus, B., Hrstkovič, H., 2004, Monitoring The Asparaginase Activity and Asparagine Levels in Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia Treated with Different Asparaginase Preparations, *Scripta Medica (BRNO)*, 77 (2), 55
- Lehninger, A.L., 1982, *Dasar-Dasar Biokimia, Jilid 1*, 248-249, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Scopes, R.K., 1987, *Protein Purification, Principles, and Practice*, edisi ke-2, 51-58, 87, Springer Verlag, New York
- Warangkar, S.C., dan Khobgrade, C.N., 2009, Purification, Characterization, and Effect of Thiol Compounds on Activity of the *Erwinia carotovora* L-Asparaginase, *Enzyme Research*, 4

Widuri, A.S.S., 2009, *Isolasi dan Karakterisasi
L-asparaginase dari Bawang Bombay
(Allium cepa L)*, Skripsi, UNDIP, Semarang

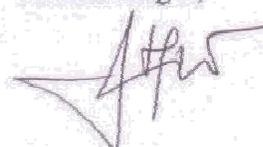
Mengetahui,

Pembimbing I,



Dra. Wuryanti, M.Si
NIP 19570511 198703 2 001

Pembimbing II,



Dr. Agustina L.N.A.
NIP 19700801 199903 2 001