



INTISARI

Escherichia coli LMUGM-D diketahui dapat menghasilkan asilase penisilin yang memecah benzilpenisilin menjadi asam 6-aminopenisilanat (6-APA). Senyawa 6-APA ini merupakan bahan baku dalam pembuatan turunan penisilin semisintetik, dibutuhkan dalam jumlah yang relatif besar karena sampai saat ini turunan penisilin semisintetik masih digunakan sebagai obat pilihan untuk berbagai infeksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan memurnikan asilase penisilin dari *E. coli* LMUGM-D serta menguji aktivitasnya dalam mengubah benzilpenisilin menjadi 6-APA, kemudian menentukan sifat-sifatnya.

Isolasi asilase penisilin *E. coli* LMUGM-D dilakukan dengan memisahkan sel mikroba dari cairan medium dengan sentrifus, kemudian dipecah dengan ultrasonikator. Pemurniannya dilakukan dengan pengendapan dengan amonium sulfat jenuh secara bertahap, yaitu dengan kadar akhir amonium sulfat 30% dan 60%, dilanjutkan dengan kolom dietilaminoetil (DEAE) selulose. Adanya enzim diketahui dari adanya aktivitas, maka penetapan aktivitas dilakukan dengan mengukur kadar 6-APA secara kuantitatif dengan metode kolorimetri. Adanya gugus amina pada 6-APA dapat bereaksi dengan para-dimetilaminobenzaldehid (p-DAB) sehingga membentuk kompleks berwarna kuning yang mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 414,1 nm. Dengan mengetahui aktivitas spesifik, kita dapat mengetahui gambaran mengenai keberhasilan cara isolasi yang dilakukan. Untuk menghitung aktivitas spesifik, harus diketahui aktivitas dan kadar protein enzim tersebut. Kadar protein dari asilase penisilin ditetapkan dengan cara *Lowry* atau spektrofotometri pada panjang gelombang 280 nm. Asilase penisilin di dalam *E. coli* LMUGM-D maupun ekstrak hasil isolasi kemudian ditetapkan sifat-sifatnya antara lain tetapan *Michaelis-Menten* (K_m), serta pengaruh pH dan suhu terhadap aktivitas asilase penisilin.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa telah berhasil diisolasi dan dimurnikan asilase penisilin *E. coli* LMUGM-D, yang mempunyai aktivitas spesifik yang tertinggi pada fraksi supernatan 60% dengan kemurnian 148 kali ekstrak kasarnya. Evaluasi data dengan uji t menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara aktivitas spesifik fraksi supernatan 60% bila dibandingkan dengan fraksi yang lain. Asilase penisilin LMUGM-D mempunyai pH optimum 8,5; suhu optimum 45°C dan harga K_m untuk substrat benzilpenisilin = 0,0155 mM untuk sel utuh *E. coli* LMUGM-D dan 0,0110 mM untuk asilase penisilin LMUGM-D hasil isolasi.