



INTISARI

Kebutuhan antibiotik di Indonesia sampai saat ini masih cukup besar dibanding obat lain, berkaitan dengan masih tingginya prevalensi penyakit infeksi. Dan antibiotik penisilin ternyata masih dominan sebagai obat pilihan untuk berbagai penyakit infeksi. Oleh karena itu senyawa asam 6-aminopenisilamat (6-APA) yang merupakan senyawa dasar pembuatan turunan penisilin semisintetik diperlukan dalam jumlah besar. *Escherichia coli* LMUGM-G telah diketahui dapat menghasilkan asilase penisilin yang memecah benzilpenisilin menjadi 6-APA.

Tujuan penelitian di sini adalah untuk mengisolasi, memurnikan dan menetapkan sifat-sifat asilase penisilin *E. coli* LMUGM-G.

Isolasi dan pemurnian asilase penisilin dilakukan dengan jalan memisahkan sel *E. coli* LMUGM-G dari medianya, kemudian dipecah dengan ultrasonikator. Setelah disentrifugasi, filtrat (ekstrak kasar) difraksionasi dengan amonium sulfat jenuh pada kondisi dingin sampai kadar akhir berturut-turut 30% dan 60%. Kemudian fraksi yang mempunyai aktivitas terbesar dimurnikan lebih lanjut melalui kolom dietilaminoetil selulosa dan fraksi yang teraktif digunakan untuk menetapkan sifat-sifat asilase penisilin, yaitu Km (dengan substrat benzilpenisilin), pengaruh pH dan suhu inkubasi terhadap aktivitasnya dalam memecah benzilpenisilin menjadi 6-APA.

Penetapan aktivitas asilase penisilin dilakukan secara kolorimetri dengan mengukur serapan hasil pemecahan benzilpenisilin dengan enzim tersebut setelah direaksikan dengan pereaksi para-dimetilaminobenzaldehid (pDAB) pada panjang gelombang 414,1 nm. Kadar protein ditetapkan dengan cara Lowry atau spektrofotometri pada panjang gelombang 280 nm. Aktivitas spesifik dihitung dari aktivitas total dibagi jumlah proteinnya.

Berdasarkan data hasil penelitian, diketahui bahwa aktivitas spesifik terbesar terdapat pada fraksi supernatan 60% dengan kemurnian 231 kali ekstrak kasarnya. Evaluasi data dengan uji F dan t menunjukkan bahwa ada perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$) antara aktivitas spesifik supernatan 60% bila dibandingkan dengan fraksi ekstrak kasar, endapan 30%, supernatan 30%, dan endapan 60%. Hasil penetapan sifatnya, asilase penisilin mempunyai pH optimum 8,5, suhu optimum 45°C dan harga Km = 0,014 mM untuk sel *E. coli* LMUGM-G dan 0,011 mM untuk asilase penisilin hasil isolasi untuk substrat benzilpenisilin.