

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Asparagus (*Asparagus officinalis*)

Asparagus (*Asparagus officinalis*) termasuk famili *Liliaceae* yang memiliki 150 spesies yang tersebar di Eropa, Asia dan Afrika, sebagian berbentuk herba dan sebagian berkayu. Tanaman ini tumbuh tegak atau merambat. Beberapa spesies berfungsi sebagai tanaman hias dan sebagian lain sebagai tanaman sayuran^[5]. Asparagus termasuk tanaman sayuran tahunan yang dapat mencapai umur produktif 30 tahun, sehingga memiliki efisiensi dan produktivitas tinggi dan bahkan secara ekonomi layak untuk dikembangkan.

Sistematik atau taksonomi tanaman asparagus secara lengkap adalah sebagai berikut :

Kingdom	:	<i>Plantae</i>
Divisi	:	<i>Spermatophyta</i>
Sub divisi	:	<i>Angiospermae</i>
Kelas	:	<i>Monocotyledonea</i>
Ordo	:	<i>Liliales</i>
Famili	:	<i>Liliaceae</i>
Genus	:	<i>Asparagus</i>
Spesies	:	<i>Asparagus officinalis</i> ^[4]

Selama siklus hidupnya tanaman asparagus menghasilkan dua macam batang yaitu batang yang umumnya tumbuh ke atas tanah dan batang di bawah tanah (*rhizoma*) yang umumnya disebut rebung, yang digunakan sebagai sayuran. Tunas asparagus muncul di permukaan tanah berwarna putih bersih, tetapi lambat laun berubah menjadi kuning violet, bila dibiarkan tumbuh terus rebung akan menghasilkan daun dan menjadi tanaman dewasa^[4].

Rebung asparagus mengandung banyak zat yang berkhasiat untuk kesehatan. Rebung ini digunakan oleh sebagian masyarakat yang tinggal di beberapa daerah di Indonesia sebagai sayuran dan obat kanker tradisional. Kemungkinan ini disebabkan karena adanya enzim asparaginase yang terdapat dalam rebung asparagus. Enzim Asparaginase menyebabkan pengurangan secara cepat persediaan asparagin serum yang diperlukan untuk pertumbuhan kanker tertentu, dengan demikian pertumbuhan kanker dapat dihambat.

2.2. Asparagin

Asparagin adalah salah satu asam amino non esensial yaitu asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh dan tubuh sendiri dapat mensintesisnya melalui reaksi biokimia yang rumit.

Pada manusia, asam amino non esensial ini dapat disintesis dalam jumlah yang cukup untuk menjamin pertumbuhan yang optimum pada anak-anak dan mempertahankan keseimbangan nitrogen pada orang dewasa. Bila enzim yang diperlukan untuk biosintesis salah satu dari asam-asam amino ini mengalami cacat, asam amino yang bersangkutan tidak dapat disintesis dan dengan demikian menjadi asam amino yang esensial. Umumnya biosintesis asam-asam amino non esensial ini

diatur oleh tersedia atau tidaknya asam amino tersebut dalam makanan^[5]. Reaksi pembentukan asparagin dikatalisis oleh asparagin sintetase. Asparagin dapat ditemukan dalam beberapa jaringan tetapi dalam jumlah yang kecil terdapat dalam sel kanker. Tetapi bila asparagin dalam sel kanker berlebih (abnormal) maka akan dimanfaatkan oleh sel kanker ini sebagai makanan, sehingga sel ini berkembang semakin cepat dan sangat membahayakan^[6].

2.3. Enzim

Enzim merupakan suatu katalisator protein yang mempercepat reaksi kimia dalam makhluk hidup atau dalam sistem biologik. Menurut literatur diperkirakan terdapat 3000 macam enzim di dalam sel. Tanpa enzim maka reaksi seluler berlangsung sangat lambat, bahkan mungkin tidak terjadi reaksi^[7].

2.3.1. Tata Nama dan Kekhasan Enzim

Secara umum nama tiap enzim disesuaikan dengan nama substratnya dengan penambahan 'ase' di belakangnya, sedangkan oleh *Comision on Enzymes of The International Union Biochemistry* enzim dibagi dalam enam golongan besar. Penggabungan berdasarkan atas tipe reaksi yang dikatalisis oleh enzim, sehingga dikelompokkan menjadi enam golongan, yaitu *oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, dan ligase*.

Suatu enzim bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu. Substrat adalah senyawa yang reaksinya dikatalisis oleh enzim. Satu enzim hanya dapat mengkatalisis reaksi dari beberapa substrat yang berbeda. Boleh juga dikatakan bahwa hanya beberapa senyawa yang mampu bertindak sebagai substrat bagi suatu enzim^[7].

2.3.2. Komponen Enzim

Berdasarkan hasil penelitian para ahli Biokimia ternyata banyak enzim yang mempunyai gugus bukan protein sehingga dapat dikatakan enzim merupakan protein majemuk. Enzim seperti ini terdiri atas protein (*apoenzim*) dan suatu gugus bukan protein (*kofaktor*). Kofaktor ada yang terikat kuat pada protein ada pula yang tidak begitu kuat ikatannya. Gugus yang terikat kuat pada bagian protein, artinya yang sukar terurai dalam larutan disebut *gugus prostetik*, sedangkan yang tidak kuat ikatannya atau yang mudah dipisahkan secara dialisis disebut *koenzim*. Baik gugus prostetik maupun koenzim merupakan bagian enzim yang memungkinkan enzim bekerja terhadap substrat^[9].

2.3.3. Satuan Enzim

Komposisi kimia suatu enzim, baik yang masih aktif maupun yang tidak aktif adalah sama. Karena itu keaktifan enzim tidak dapat ditentukan hanya dengan analisa atau penentuan komposisi kimia saja. Keaktifan enzim dapat ditentukan secara kualitatif dengan reaksi kimia yaitu dengan substrat yang dapat dikatalisis oleh enzim tersebut dan secara kuantitatif ditentukan dengan mengukur laju reaksi tersebut. Karena itulah jumlah enzim lebih banyak dinyatakan dalam bentuk keaktifan enzim dan dinyatakan dalam satuan atau unit aktivitas enzim. Satu unit aktivitas enzim adalah aktivitas enzim yang menyebabkan perubahan 1 μmol substrat atau produk per satuan waktu inkubasi pada kondisi tertentu^[10].

Konsentrasi enzim biasa dinyatakan sebagai aktivitas (U.mL^{-1}) atau aktivitas spesifik (U.mg^{-1} protein). Aktivitas spesifik enzim dipengaruhi oleh proses pemurnian enzim. Enzim yang masih bersifat sebagai enzim kasar mempunyai

aktivitas spesifik yang rendah. Dengan berbagai metode pemurnian protein, enzim dapat lebih dimurnikan dengan cara memisahkannya dari protein-protein non enzim, sehingga aktivitas spesifiknya akan semakin tinggi. Jadi aktivitas spesifik enzim menunjukkan tingkat kemurnian suatu enzim^[11].

2.3.4. Mekanisme Kerja Enzim

Suatu enzim mempunyai kekhasan yaitu hanya bekerja pada satu reaksi saja. Untuk dapat bekerja terhadap suatu zat atau substrat harus ada hubungan atau kontak antara enzim dengan substrat. Suatu enzim mempunyai ukuran yang lebih besar daripada substrat. Oleh karena itu tidak seluruh bagian enzim dapat berhubungan dengan substrat. Tempat atau bagaimana enzim yang mengadakan hubungan atau kontak dengan substrat disebut bagian aktif (*active site*). Hubungan hanya mungkin terjadi apabila bagian aktif mempunyai ruang yang tepat yang dapat menampung substrat. Apabila substrat mempunyai bentuk atau konformasi lain, maka tidak dapat ditampung pada bagian aktif suatu enzim^[9].

Hubungan atau kontak antara enzim dengan substrat menyebabkan terjadinya kompleks enzim-substrat. Kompleks ini merupakan kompleks yang aktif bersifat sementara dan akan terurai lagi apabila reaksi yang diinginkan telah terjadi. Mekanisme pembentukan dan peruraian kompleks dapat digambarkan sebagai berikut:



Di mana E = enzim

ES = kompleks enzim

S = substrat

P = produk

2.3.5. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

Konsentrasi Enzim

Kecepatan reaksi berbanding lurus dengan meningkatnya konsentrasi enzim sehingga kecepatan reaksi akan meningkat dengan bertambahnya jumlah enzim sebagai katalis pada suatu substrat^[9].

Konsentrasi Substrat

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Seluruh sisi aktif enzim telah terjenuhi oleh substrat sehingga penambahan substrat tidak berpengaruh terhadap kecepatan reaksi^[9].

Pengaruh Temperatur

Reaksi suatu substrat secara enzimatis juga dipengaruhi oleh kondisi temperatur. Pada temperatur yang rendah reaksi berlangsung sangat lambat, sedangkan pada temperatur yang tinggi reaksi berlangsung lebih cepat. Namun karena enzim adalah suatu protein maka kenaikan temperatur dapat menyebabkan terjadinya proses denaturasi. Apabila terjadi denaturasi protein maka bagian aktif enzim akan terganggu. Pada temperatur yang tinggi aktivitasnya tinggi tetapi kemantapannya rendah. Daerah temperatur saat kemantapan dan aktivitas enzim cukup besar disebut temperatur optimum untuk enzim tersebut^[9].

Pengaruh pH

Enzim dapat berbentuk ion positif, ion negatif, atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Dengan perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk enzim-substrat. Di samping

pengaruh terhadap struktur ion pada enzim, pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Pada suatu pH tertentu yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi, pH tersebut dinamakan pH optimum^[9].

2.4. Enzim Asparaginase

Asparaginase mempunyai beberapa nama lain seperti *asparagin amidohydrolase*, *colapase*, *elspar*, *leunase*, *crasnitin*, dan *alpha asparaginase*^[12]. Enzim asparaginase termasuk enzim hidrolase yang bekerja mengkatalisis reaksi hidrolisis yaitu asparagin menjadi asam aspartat dan amoniak^[13]. Enzim ini telah dapat dikristalkan berupa kristal atau serbuk putih, larut dalam air, tampak seperti buih atau gelembung, aktif pada pH 5-9, rotasi spesifik 30°-32° dan praktis tidak larut dalam metanol, aseton dan kloroform. Monomernya mempunyai empat sub unit. Masing-masing berat molekulnya kurang lebih 33000. Berat molekul secara keseluruhan 133000^[2,3].

Asparaginase ditemukan dalam berbagai macam sumber bahan alam termasuk *mycobakteri*, *ragi* atau *yeast*, *mold*, *bacillus coagulans*, *aspergillus niger*, *jaringan tumbuhan* dan *vertebrata*. Tahun 1922 Clementi melaporkan bahwa dari semua uji sera mamalia hanya serum babi guinea yang mampu dengan baik untuk menghidrolisa asparagin. Sedangkan pada tahun 1964 Masburn dan Wriston menunjukkan bahwa asparaginase yang diperoleh dari serum *E. coli* efektif sebagai agen anti kanker sebagaimana yang diperoleh dari serum *babi guinea*, jadi kemudahan untuk memproduksi enzim dalam jumlah lebih besar perlu dipelajari lebih

jauh. Percobaan klinik kemudian menunjukkan aktivitas yang signifikan untuk melawan leukemia lymphoblastis akut (pada masa kanak-kanak)^[3,14].

Asparaginase yang dipreparasi dari *E. coli* sangat bernilai komersial. Aktivitas enzim stabil dalam keadaan kering selama 2 tahun pada suhu 5 °C. Meskipun pada temperatur kamar tidak ada aktivitas yang hilang, tapi terjadi inaktivasi enzim saat disimpan pada suhu 37-50 °C selama 3 bulan^[3].

2.5. Karakterisasi Enzim Asparaginase

Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum enzim asparaginase dalam mengkatalisis substratnya, di mana meliputi pH, temperatur dan waktu inkubasi enzim. Asparaginase yang ditemukan dalam berbagai macam sumber di alam memiliki karakteristik yang berbeda-beda.

Pada penelitian yang telah dilakukan, yaitu deteksi aktivitas asparaginase dalam daun *Loranthus Globasus Roxb* (benalu teh) diketahui bahwa aktivitas spesifik asparaginase sebesar 1,370 U.mg protein⁻¹, protein total sampel enzim 1,5079 mg.mL⁻¹, sedangkan kondisi optimum enzim dalam mengkatalisis substratnya adalah pada pH = 8,5; temperatur 37 °C dan waktu inkubasi 30 menit. Untuk itu perlu dilakukan karakterisasi dari enzim asparaginase dari sumber lain^[6].

2.6. Penentuan Aktivitas Enzim Asparaginase

Metode yang digunakan dalam mengukur aktivitas enzim asparaginase dalam penelitian ini adalah metode spektrofotometri. Prosedurnya berupa penentuan produk (amonias) dengan analisa serapan sinar. Sesuai hukum Lambert-Beer diperoleh:

$$-\log T = A = \epsilon b c$$

maka
$$c = \frac{A}{\epsilon b}$$

dimana T = transmittan

A = absorbansi

ϵ = koefisien ekstingsi molar produk

b = tebal kuvet

c = konsentrasi

Pada pengukuran ini ϵ dan b dianggap konstan dan konsentrasi berbanding lurus dengan absorbansi^[15].

Untuk menentukan banyaknya produk amoniak yang terbentuk dari reaksi enzimatis, maka dipergunakan kurva standar amonium sulfat. Produk dinyatakan dalam satuan unit aktivitas yang didefinisikan sebagai banyaknya 1 μmol amoniak yang terbentuk dari asparagin per satuan waktu inkubasi dalam keadaan optimal sistem tersebut.

Metode yang sama juga digunakan dalam penentuan kadar protein enzim. Kadar protein enzim dihitung berdasarkan rumus persamaan garis dari kurva standar kasein. Nilai kadar protein digunakan dalam penentuan aktivitas spesifik enzim menunjukkan jumlah unit aktivitas per miligram protein yang menggambarkan tingkat kemurnian enzim tersebut.