

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pohon Mangga Kuweni ^[4]

Pohon mangga kuweni dapat tumbuh sampai 1000 m di atas permukaan laut, dengan berdaun lebat. Tinggi pohon dapat mencapai 20 - 30 m, dan mahkota pohon \pm 10m. Taksonomi tanaman mangga kuweni :

Kingdom : *Plantae*
Devisi : *Spermatophyta*
Sub-divisi : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledoneae*
Ordo : *Sapindales*
Famili : *Anacardiaceae*
Genus : *Mangifera*
Spesies : *Mangifera odorata* Griff

2.2. Benalu Mangga Kuweni ^[1]

Tanaman benalu tidak diketahui dengan pasti dari mana asalnya. Tanaman ini dapat tumbuh didaerah tropis dan subtropis. Benalu adalah tanaman membentuk milliu yang memberi kesan rimbun tidak teratur, serta tidak terawat yang hidup sebagai parasit pada tanaman yang ditumpanginya. Tanaman benalu ditemukan di Indonesia sebelum tahun 1887, antara lain di Sumatera, Jawa, dan Kalimantan. Tanaman benalu yang ditemukan di berbagai daerah kebanyakan termasuk jenis *Loranthus*.

Benalu mangga kuweni adalah benalu yang hidup sebagai parasit pada tanaman mangga kuweni. Benalu yang hidup sebagai parasit pada tanaman mangga antara lain : *Dendrophthoe*, *Elytronthe*, *Microsolen*, *Scurrula*, dan *Viscum*. Empat benalu pertama biasanya hadir sebagai parasit primer, sedangkan *Viscum* sering ditemukan sebagai hiperparasit. Kesemuanya dapat tumbuh dengan subur dan rimbun pada tanaman mangga tua yang tidak terawat dengan baik. Kerugian yang ditimbulkan benalu dapat berupa penurunan produksi buah sebagai akibat terganggunya pembentukan bunga serta matinya ranting tanaman mangga.

Di Indonesia tanaman benalu dapat dimanfaatkan sebagai obat kanker. Kandungan kimia dari daun tanaman benalu *Viscum album* adalah arginin, asparagin, prolin, asam sistin, dan hidroksilisin.

2.3. Enzim ^[5]

Pada tahun 1850, Louis Pasteur, menyimpulkan bahwa fermentasi gula menjadi alkohol oleh ragi dikatalisis "fermen". Fermentasi ini yang kemudian dinamakan enzim ("di dalam ragi") tidak dapat dipisahkan dari struktur sel ragi hidup. Enzim merupakan unit fungsional dari metabolisme sel. Bekerja dengan urutan yang teratur, enzim mengkatalisis reaksi, yang menguraikan molekul nutrien, reaksi yang menyimpan dan mengubah energi kimia, dan yang membuat makromolekul dari prekursor sederhana.

Melalui aktivitasnya, sistem enzim terkoordinasi dengan baik, menghasilkan suatu hubungan yang harmonis di antara sejumlah aktivitas metabolik yang berbeda, yang diperlukan untuk menunjang kehidupan. Enzim mempunyai tenaga katalitik

yang besar, yang biasanya jauh lebih besar dari katalisator sintetik. Sensifisitas enzim sangat tinggi terhadap substratnya, enzim mempercepat reaksi kimia spesifik tanpa pembentukan produk samping, dan molekul ini berfungsi dalam larutan encer pada keadaan temperatur dan pH normal.

2.4. Klasifikasi Enzim ^[6]

Oleh *Commision on Enzymes of the International Union of Biochemistry*, enzim dibagi dalam enam golongan besar. Golongan ini didasarkan atas reaksi kimia dimana enzim memegang peranan. Enam golongan tersebut adalah :

- a. Oksidoreduktase, mengkatalisis reaksi oksidasi reduksi.
- b. Transferase, mengkatalisis pemindahan gugus tertentu.
- c. Hidrolase, meningkatkan pemecahan ikatan antara karbon dengan atom lainnya dengan penambahan air.
- d. Liase, mengkatalis pemecahan karbon-karbon, karbon-sulfur, dan karbon-nitrogen.
- e. Isomerase, mengkatalisis raseminasi optik atau isomer geometrik dan reaksi oksidasi reduksi intramolekuler tertentu.
- f. Ligase, mengkatalisis pembentukan ikatan antara karbon-karbon, karbon-sulfur, karbon-nitrogen, dan karbon-oksigen. Untuk pembentukan ikatan tersebut diperlukan energi yang berasal dari ATP.

2.5. Satuan Enzim

Menurut perjanjian internasional, satu unit aktivitas enzim adalah jumlah enzim yang menyebabkan pembentukan 1 μ mol produk per menit dalam keadaan optimum sistem tersebut^[7]. Aktivitas spesifik adalah jumlah unit aktivitas enzim per miligram protein. Aktivitas spesifik enzim dipengaruhi oleh proses pemurnian enzim. Enzim yang masih bersifat sebagai *crude ekstrak* mempunyai aktivitas spesifik yang rendah. Dengan berbagai metode pemurnian protein, enzim dapat dimurnikan dari protein non-enzim, sehingga aktivitas spesifiknya akan semakin tinggi. Aktivitas spesifik enzim dapat menjadi ukuran tingkat kemurnian enzim^[5].

2.6. Aktivitas Enzim ^[7]

Suatu reaksi kimia dapat berlangsung karena molekul-molekul reaktan pada waktu tertentu mengalami keadaan aktif, yaitu apabila energi molekul tersebut dalam keadaan energi pengaktifan. Dalam keadaan demikian ikatan kimia dalam molekul itu dapat pecah sehingga memungkinkan terbentuknya produk. Keadaan ketika molekul reaktan dalam keadaan aktif disebut keadaan transisi, dan energi pengaktifan diartikan sebagai jumlah energi dalam kalori yang dibentuk oleh satu mol zat pada temperatur tertentu, untuk membawa semua molekul (dari satu mol zat) ke keadaan aktif.

Fungsi katalisator adalah mempercepat reaksi kimia dengan cara menurunkan energi bebas pengaktifan. Dalam hal ini, katalisator bergabung dengan reaktan, sedemikian rupa sehingga dihasilkan keadaan transisi yang mempunyai energi bebas lebih rendah dari pada keadaan transisi tanpa katalisator. Setelah hasil reaksi terbentuk (produk), katalisator dibebaskan kembali ke keadaan semula.

2.7. Lokasi Aktif Enzim ^[6]

Teori yang menerangkan interaksi antara substrat dengan enzim dikemukakan oleh Emil Fischer yang dinamakan *lock and key* (kunci dan anak kunci). Pada teori ini molekul substrat yang spesifik terikat pada daerah spesifik dalam molekul enzim. Tempat ini disebut tempat aktif. Tempat aktif suatu enzim dibentuk oleh residu asam amino yang mempunyai dua fungsi yaitu :

- a. Menarik dan mengorientasikan substrat kepada gugus spesifik pada molekul enzim yang disebut gugus kontak dengan cara yang spesifik pula.
- b. Ikut membentuk ikatan sementara dengan molekul substrat, yang selanjutnya terjadi polarisasi dan terjadi regangan pada ikatan di dalam molekul substrat, sehingga mudah dipecah. Asam amino yang bertindak demikian yang terletak pada tempat aktif disebut residu katalitik.

2.8. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Enzim

2.8.1. Konsentrasi Enzim ^[8]

Seperti pada katalisis lain, kecepatan reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim.

2.8.2. Konsentrasi Substrat ^[8]

Pada konsentrasi enzim tetap, maka pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu, tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi, walaupun konsentrasi substrat diperbesar. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim hanya menampung sedikit substrat.

Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan bagian aktif tersebut. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar dan hal ini yang menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Pada suatu batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif telah dipenuhi oleh substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam keadaan ini, bertambah besarnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi enzim substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya tidak bertambah besar.

2.8.3. Temperatur^[8]

Reaksi kimia dapat dipengaruhi oleh temperatur, maka reaksi yang menggunakan katalis enzim juga dipengaruhi oleh temperatur. Pada temperatur rendah reaksi kimia lambat dan pada temperatur yang lebih tinggi reaksi lebih cepat. Karena enzim adalah suatu protein, maka kenaikan temperatur akan menyebabkan denaturasi. Jika terjadi denaturasi, maka bagian aktif enzim akan terganggu, sehingga konsentrasi efektif enzim menjadi berkurang dan kecepatan reaksinya menurun. Kenaikan temperatur sebelum terjadinya proses denaturasi dapat menaikkan kecepatan reaksi. Kenaikkan temperatur pada saat mulai terjadinya proses denaturasi akan mengurangi kecepatan reaksi. Maka temperatur yang paling tepat bagi suatu reaksi yang menggunakan enzim disebut temperatur optimum.

2.8.4. Pengaruh pH^[8]

Seperti protein pada umumnya, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungan. Enzim dapat bermuatan positif, negatif, atau ion bermuatan ganda (*zwitter ion*). Perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas

bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim-substrat. Pada pH rendah atau pH tinggi dapat pula menyebabkan terjadinya proses denaturasi, dan ini akan mengakibatkan menurunnya aktivitas enzim. Suatu pH tertentu yang dapat menyebabkan kecepatan reaksi paling tinggi disebut pH optimum

2.9. Asparagin

Asparagin adalah salah satu asam amino non esensial yaitu asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh dan tubuh dapat mensintesisnya^[8].

Pada manusia, asam amino non esensial dapat disintesis dalam jumlah yang cukup untuk menjamin pertumbuhan optimum pada anak-anak dan mempertahankan keseimbangan nitrogen pada orang dewasa. Umumnya biosintesis asam amino non esensial ini diatur oleh tersedianya asam amino tersebut dalam makanan^[9].

Biosintesis asparagin dikatalisis oleh asparagin sintetase, sintesis ikatan amida memerlukan asam bebas yakni aspartat sebagai donor amino dan Mg ATP sebagai sumber fosfat. Pada sistem mamalia donor amino adalah glutamin, sedang pada bakteri donor amino adalah amonia^[11].

Asparagin dapat ditemukan dalam beberapa jaringan tetapi dalam jumlah kecil terdapat dalam sel kanker. Tetapi apabila asparagin dalam sel kanker berlebihan maka akan dimanfaatkan oleh sel kanker sebagai makanan, sehingga sel kanker berkembang semakin cepat dan membahayakan kesehatan^[9].

2.10. Enzim Asparaginase

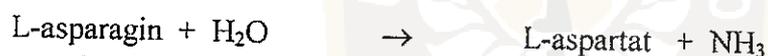
Enzim asparaginase termasuk enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis yaitu asparagin menjadi asam aspartat dan amonia. Enzim ini berupa kristal

atau serbuk putih, larut dalam air, tampak seperti buih, atau gelembung, aktif pada pH 5 - 9, rotasi spesifik 30 - 32 °, praktis tidak larut dalam metanol, aseton dan kloroform ^[11].

Asparaginase ditemukan dalam berbagai macam sumber di alam termasuk mikro bakteri, ragi/yeast, mold, *Bacillus coagulans*, *Aspergillus niger*, jaringan tumbuhan dan vertebrata. Tahun 1964 Mashburg dan Winston menunjukkan bahwa asparaginase dari *E. Coli* efektif sebagai agen antikanker sebagaimana yang diperoleh dari babi guinea. Asparaginase yang diperoleh dari *E.Coli* sangat bernilai komersial. Aktivitas enzim stabil dalam keadaan kering selama 2 tahun pada temperatur 5 °C. Meskipun dalam temperatur kamar tidak ada aktivitas yang hilang, tetapi terjadi inaktivasi enzim saat disimpan pada temperatur 37 - 50 °C selama 3 bulan ^[3].

Asparaginase mengkatalisis reaksi hidrolisis yaitu:

L-asparaginase



Asparaginase yang diisolasi dari *E. Coli* mempunyai karakteristik: berat molekul 133.000, titik isoelektrik pH 5,2 dan pH optimum 7,5 ^[12].

L-asparaginase yang berasal dari serum babi guinea dapat menghambat pertumbuhan tumor. Asparaginase terdistribusi luas di alam, terdapat dalam jaringan binatang, tanaman, dan mikro organisme. L-asparaginase dari serum babi guinea mempunyai pH optimum 8,2 - 9,2 ^[13].

Enzim asparaginase dari daun *Loranthus globasus Roxb* (benalu teh) mempunyai pH optimum 8,5, waktu inkubasi 30 menit dan temperatur optimum 37 °C ^[2].

Asparaginase dan glutaminase keduanya telah diselidiki sebagai zat anti tumor. Karena tumor-tumor tertentu menunjukkan kebutuhan abnormal yang tinggi akan glutamin dan asparagin. L-asparaginase terdapat dalam hewan, tumbuhan dan jasad renik^[14].

L-asparaginase yang diisolasi dari *E. Coli*, di klinik L-asparaginase digunakan terutama untuk pengobatan leukimia limfositik akut. Sel kanker tertentu kekurangan asparagin sintetase, yaitu enzim yang mensintesis asparagin dari asam aspartat dan glutamin, sehingga tergantung pada sumber asparagin dari darah. L-asparaginase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis asparaginase menjadi asam aspartat dan amonia. Pemberian L-asparaginase dalam dosis besar menyebabkan kekosongan asparagin dalam sel tumor tertentu, mencegah pembentukan protein sel tumor sehingga sel tumor mengalami kematian^[15].

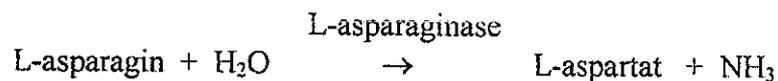
2.11. Karakterisasi Enzim Asparaginase

Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum enzim asparaginase hasil isolasi, yang meliputi temperatur, pH dan waktu inkubasi enzim. Asparaginase yang ditemukan dalam berbagai 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 didapatkan sebesar $1,370 \pm 0,15 \text{ U.mg}^{-1}$ protein, temperatur optimum 37°C , waktu inkubasi 30 menit dan pH optimum 8,5^[2].

2.12. Penentuan Aktivitas Enzim Asparaginase

Setiap tahap isolasi perlu disertai uji aktivitas dan penentuan protein agar dapat mengikuti penambahan atau pengurangan aktivitas dan aktivitas spesifik enzim asparaginase. Asparaginase mengkatalisis reaksi hidrolisis yaitu :



Prinsip penentuan aktivitas asparaginase adalah asparaginase akan menguraikan asparagin menjadi asam aspartat dan amonia. Selanjutnya amonia yang terbentuk menunjukkan besarnya aktivitas asparaginase ^[16].

Pereaksi Nessler spesifik untuk penetapan kadar amonia, pada akhir reaksi terbentuk warna coklat kekuningan, selanjutnya warna yang terbentuk dibaca absorbansinya pada panjang gelombang optimum. Sesuai dengan perjanjian Internasional, satu unit aktivitas enzim asparaginase dapat didefinisikan sebagai banyaknya μmol produk amonia yang terbentuk dari substrat asparagin persatuan waktu inkubasi pada kondisi optimum sistem tersebut. Karena yang terbentuk adalah amonia maka banyaknya μmol amonia yang terbentuk dihitung berdasarkan rumus kurva standar larutan amonium sulfat.

Kadar protein ditentukan berdasarkan metode Lowry, di mana larutan protein ditambah reagen Lowry, menghasilkan warna biru kemudian ditentukan absorbansinya pada panjang gelombang optimum, dan kadar protein dihitung berdasarkan rumus kurva standar kasein ^[18].

Untuk menentukan aktivitas dan kadar protein dilakukan dengan metode spektrofotometri. Dengan bantuan alat spektrofotometer dapat digunakan untuk

mengukur absorbansi sampel. Hukum yang digunakan untuk mengukur absorbansi suatu cuplikan adalah hukum Lambert-Beer yaitu

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

dimana :

T = transmitansi

A = absorbansi

ϵ = koefisien ekstingsi molar

b = tebal kuvet

c = konsentrasi

Berdasarkan hukum Lambert-Beer dapat dibuat kurva standar A vs c. dengan cara mengukur absorbansi larutan standar dengan variasi konsentrasi yang sudah diketahui, sehingga dari kurva tersebut dapat dihitung konsentrasi sampel yang telah diukur absorbansinya ^[18].

