

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI ENZIM L-ASPARAGINASE DARI
RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)
DALAM SEDIAAN UTUH DAN SERBUK**

Oleh :

**Didik Adika Haninda
J2C 002 121**

RINGKASAN

Enzim L-asparaginase merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi penguraian L-asparagin menjadi asam L-aspartat dan amonia. Pada sel leukimia limfoblastik akut, jumlah asparagin sintetase terbatas, sehingga ketersediaan asparagin bergantung pada asparagin dari luar sel. Dengan adanya L-asparaginase, maka akan terjadi penurunan konsentrasi asparagin darah, sehingga sel kanker yang hanya memiliki asparagin sintetase dalam jumlah sedikit tidak akan memperoleh asparagin dari luar sel (asparagin darah). Hal ini mengakibatkan sintesis protein pada sel kanker akan terganggu. Pada akhirnya akan menghambat pertumbuhan sel kanker. Aktivitas L-asparaginase tidak akan mengganggu sel normal, karena sel normal memiliki enzim asparagin sintetase untuk sintesis asparagin sendiri. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mendapatkan, menentukan karakter dan membandingkan aktivitas enzim L-asparaginase dari temulawak rimpang utuh dan serbuk, sehingga diperoleh sumber alternatif baru enzim L-asparaginase, yaitu temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Temulawak merupakan salah satu tanaman obat yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat.

Telah dilakukan isolasi dan karakterisasi enzim L-asparaginase dari rimpang temulawak dalam sediaan utuh dan serbuk. Isolasi dilakukan dengan metode ekstraksi. Hasil isolasi dimurnikan dengan fraksinasi bertingkat menggunakan garam amonium sulfat, sehingga diperoleh F1 0-20%, F2 20-40%, F3 40-60%, F4 60-80%, F5 80-100%. Kemudian dilanjutkan dengan proses dialisis menggunakan membran selofan. Uji aktivitas L-asparaginase dilakukan pada setiap fraksi. Uji aktivitas L-asparaginase menggunakan metode Nessler yaitu menentukan jumlah amonia yang terbentuk dari reaksi penguraian L-asparagin menjadi asam L-aspartat dan amonia dengan bantuan enzim L-asparaginase. Unit aktivitas adalah besarnya aktivitas enzim L-asparaginase yang menyebabkan terbentuknya μmol produk amonia dari substrat L-asparagin permenit pada kondisi optimum enzim tersebut. Sedangkan perbandingan antara unit aktivitas enzim dan kadar protein total disebut aktivitas spesifik. Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Lowry. Pengukuran absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa enzim L-asparaginase dapat diisolasi dari rimpang temulawak dalam sediaan utuh maupun serbuk. Hasil karakterisasi diperoleh bahwa kondisi optimum aktivitas spesifik enzim

L-asparaginase dari rimpang temulawak utuh dan serbuk dengan substrat L-asparagin pada suhu 37 °C, pH 8,6 dan waktu inkubasi 30 menit. Aktivitas spesifik tertinggi pada kondisi tersebut didapatkan pada fraksi F4 (60-80%), yaitu untuk rimpang temulawak utuh adalah 75,091 U/mg protein dan serbuk adalah 67,484 U/mg protein.

SUMMARY

L-asparaginase enzyme is an enzyme which catalyzes decomposition reaction of L-asparagine becoming L-aspartate acid and ammonia. In the lymphoblastic leukaemic blast, the amount of asparagine syntetase is limited, so that the stock asparagine depends on asparagine from the outside cells. With L-asparaginase, a decrease of blood asparagine concentration, so that cancer cell which only has asparagine syntetase in the few amount will not get asparagine from the outside cells (blood cells). It can cause protein syntesis in cancer cell disturbed. Therefore, the growth of cancer cell will stop. Activity of L-asparaginase will not disturb normal cells, because normal cells have asparagine syntetase enzyme for syntesis asparagin by itself. The purpose of this research is to get, determine character and compare enzyme activity of L-asparaginase, new alternative enzyme of L-asparaginase, is temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.). Temulawak is one of herbal medicine that is popular to many people.

L-asparaginase enzyme isolation and characterization from whole and powder of rimpang temulawak has been done. Isolation was done by extration method. The result has been purified by fractination using ammonium sulfate, the fractinations were it was F1 0-20%, F2 20-40%, F3 40-60%, F4 60-80%, and F5 80-100%. Then continued with dialysis proses using cellophane membrane. L-asparaginase activity assay had been done at each fraction. It was conducted by Nessler method to determine amonia which was formed from decomposition reaction of L-asparagine become L-aspartate acid and ammonia constructively L-Asparaginase enzyme. Unit activity is the level of L-asparaginase enzyme activity causing to be formed μmol product of amonia from substrate L-asparagin perminute at optimum condition of enzyme. While comparison between unit activity and concentration of total protein was specific activity. Determination of protein concentration conducted by Lowry methode. Measurement of its absorbance used spectrophotometer UV-Vis.

The result of research can be concluded that L-asparaginase enzyme could be isolated from whole and powder of rimpang temulawak. The characterization resulted the optimum of condition the specific activity L-asparaginase enzyme from whole and powder of rimpang temulawak with substrate L-asparagine at temperature of 37 °C, pH 8,6 and incubation time of 30 minutes. The higher specific activity in that condition was F4 (60-80%), with specific activity for whole rimpang temulawak was 75.091 U/mg protein and powder one is 67.484 U/mg protein.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E., dan Tim Lentera, 2004, "Khasiat & Manfaat Temulawak Rimpang Penyembuh Aneka Penyakit", Agromedia Pustaka, Jakarta, 1-14.
- Arjtonang, R. E., 1988, "Pengaruh Kurkuminoid Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Fungsi Empedu Darah Kelinci", Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD, Bandung.
- Bergmeyer, H. U., 1974, "Methods of Enzymatis", Volume 1, 2nd edition, Verlag Chemie Meinhein, Academic Press, inc New York and London, 434-435.
- Bregman, A., 1990, "Laboratory Investigation In Cells and Molecular Biology", 3rd edition., John Wiley & Sons, Inc, New York, 115.
- Budhidjaya, P., 1988, "Pengaruh Kurkuminoid dari Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Kolesterol Total, Trigliserida dan HDL-Kolesterol Darah Kelinci dalam Keadaan Hiperlipidemia", Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD, Bandung.
- Budiawan, T., 1988, "Pengaruh Kurkuminoid dari Temulawak terhadap Kadar SGOT, SGPT, dan Che Darah Kelinci pada Keadaan Hepatotoksik", Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD, Bandung.
- Clark, Jr., John, M., and Switzen, R.L., 1977, "Experimental Biochemistry", 2nd edition, H. Freeman and Company, San Fransisco, 76.
- Collowick, S. P., and Kaplan, N. O., 1995, "Methods of Enzymology", Academic Press inc., New York, 51-58, 87.
- Conn, E. E., and Stumpf, P. K., 1967, "Outlines of Biochemistry", 2nd edition, John Willey and Sons inc., USA, 116-123.
- Copeland, K. A., 1994, "Methods for Protein Analysis", Chapman & Hall, New York, 24-26, 43-44
- Decker, L.A., 1997, "Worthington Enzyme Manual, Enzyme Reagent Related Biochemicals", Biochem Corporation, New Jersey, 251-254.
- Devlin, Thomas M., 1993, "Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations", 3rd edition, A John Wiley and Sons Inc., New York, 358.
- Dhoroty, E., Schum, 1992, "Intisari Biokimia", Binarupa Aksara, Jakarta, 109-117.
- Djamhuri, A., 1979, "Penelitian Pendahuluan tentang Khasiat Rhizoma Temulawak (*Curcuma javanica*) terhadap Kadar Kolesterol Darah", Fakultas Kedokteran UNIBRA, Malang.
- Eisenthal, R., and Danson, M., J., 1993, "Enzyme Assay A Practical Approach", Oxford University Press Inc., New York, 208.
- El-Bessoumy, A., Sarhan, M., and Mansour, J., 2003, "Production, Isolation, and Purification of L-Asparaginase from *Pseudomonas aeruginosa* 50071

- Using Solid-state Fermentation”, *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 37, Egypt, 387-393.
- Firman, A. P., Soemitro, S., Sindumarta, M., Padmawinata, K., _____, “Isolasi, Pemurnian dan Modifikasi secara Kimia L-Asparaginase *Erwinia carotovora* ECC 9601 Galur Lokal”, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, ITB, Bandung.
- Gilvery, R., W., Mc., and Goldstein, G., W., 1996, “Biokimia Suatu Pendekatan Fungsional”, Airlangga University Press, Surabaya, 694.
- Handler, P., Hill, R.L., 1978, “Principles of Biochemistry”, Sixth edition, McGraw-Hill Kogakusha, LTD., New York, 729-730.
- Hartini, S., 2001, “Isolasi dan Penentuan Tingkat Kemurnian Fraksi Amonium Sulfat Asparaginase dari Benalu Mangga Kuweni”, Skripsi Kimia FMIPA UNDIP, Semarang.
- Hastuti, M. S., 1986, “Uji Daya Anti Bakteri Ekstrak Temulawak Hasil Fraksinasi dengan Eter Minyak Tanah, Kloroform dan Metanol terhadap *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*”, *Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD*, Bandung.
- Hendayana, S., Kadarohman, A., Sumarna, A.A., dan Supriatna, A., 1994, “Kimia Analitik Instrumen”, Edisi 1, IKIP Semarang Press, Semarang, 56-57.
- Herawati, A., 2001, “Isolasi dan Karakterisasi Enzim Asparaginase dari *Aspergillus niger*”, Skripsi Kimia FMIPA UNDIP, Semarang.
- Holum, J.R., 1969, “Principles of Physical, Organic and Biological Chemistry”, John Wiley & Sons Inc, New York, 343-344.
- Hudayanti, M., 2004, “Aktivitas Antibakteri Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)”, Skripsi, Jurusan Kimia FMIPA IPB, Bogor.
- Hutapea, Johnny R dan Syamsuhidayat, Sugiati., 2001, “Inventaris Tanaman Obat Indonesia”, Departemen Kesehatan RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan : Jakarta, 85-86.
- Innarni, S. I, 2003, “Isolasi dan Uji Aktivitas Asparaginase dari Daun Benalu Petai”, Skripsi Kimia FMIPA UNDIP, Semarang.
- John, E. S., 1990, “Prinsip Bioteknologi”, PT Gramedia, Jakarta, 132-134.
- Kamelia, R., Sindumarta, M., Natalia, D., 2005, “Isolasi dan Karakterisasi Protease Intraselular Termotabil dari Bakteri *Bacillus stearothermophilus* RP1”, J. Seminar Nasional MIPA-UI, Jakarta, 2.
- Ketaren, S., 1988, “Penentuan Komponen Utama Minyak Atsiri Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.)”, *Jurnal Kimia FMIPA ITB*, Bandung.
- Konečná, P., Klejdus, B., Hrstková, H., 2004, “Monitoring The Asparaginase Levels in Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia Treated with Different Asparaginase Preparations”, *Scripta Medica*, Brno, 55-62.
- Lehninger, A. L., 1995, “Dasar-dasar Biokimia”, Alih bahasa: Maggy, T., Erlangga, Jakarta, 118, 235-236, 247.

- Lehninger, A. L., 1994, "Dasar-dasar Biokimia", Jilid 2, Alih bahasa: Maggy, T., Erlangga, Jakarta, 314.
- Mahmood, M. K. H., Bachar, S. C., Islam, Md. S., Ali, M. S., 2004, "Analgesic and Diuretic Activity of *Curcuma xanthorrhiza*", Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences, Bangladesh.
- Mangan, Yellia, 2004, "Cara Bijak Menaklukkan Kanker", Agromedia Pustaka, Jakarta 40.
- Mulyadi, 1990, "Kanker karsinoge, Karsinogenesis dan Anti kanker", Tiara Wacana, Yogyakarta, 143.
- Naser, A., 1987, "Pengaruh Ekstrak Air Temulawak terhadap HDL-Kolesterol, Kolesterol Total dan Trigliserida Darah Kelinci dalam Keadaan Hiperlipidemia", Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD, Bandung.
- Nuraeni, U., 1990, "Deteksi Aktivitas Asparaginase dalam Daun *Loranthus globasus* Roxb.", Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Poedjiadi, A., 1994, "Dasar-dasar Biokimia", UI Press, Jakarta, 158-163.
- Price, N., C., and Stevens, L., 1984, "Fundamentals of Enzymology", Oxford University Press, New York, 109.
- Scopes, R. K., 1987, "Protein Purification, Principles and Practice", 3rd edition, Springer Verlag, New York, 51-58, 87.
- Silverstein, R., M., 1986, "Penyelidikan Spektrofotometrik Senyawa Organik", alih bahasa A.J. Hartono, Erlangga, Jakarta, 305.
- Underwood, A. L. and Day, R. A., 1996, "Analisis Kimia Kuantitatif", Edisi-4 Penerbit Erlangga, Jakarta, 392-395.
- Winarno, F. G., 1983, "Enzim Pangan", PT. Gramedia, Jakarta, 2, 12.
- Yuningsih, S., 1987, "Pengaruh Ekstrak Air Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Kadar SGOT, SGPT dan Uji Kualitatif Darah Kelinci pada Keadaan Terinfeksi Hepatitis B", Jurnal Farmasi FMIPA UNPAD, Bandung.