



## Isolasi dan Uji Potensi L-Asparaginase dari Rimpang Kunyit Putih (*Curcuma mangga Vall*) terhadap Leukimia Tipe K562

Agustina Arpintasari<sup>a</sup>, Wuryanti<sup>a</sup>, W.H. Rahmanto<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275, Telepon (024) 7474754

\* Corresponding author: [wh.rahmanto@live.undip.ac.id](mailto:wh.rahmanto@live.undip.ac.id)

### Article Info

**Keywords:**  
Anticancer, L-  
asparaginase, Specific  
activity, LC<sub>50</sub>

**Kata kunci:**  
Antikanker, L-  
asparaginase,  
Aktivitas spesifik,  
LC<sub>50</sub>

### Abstract

A study on the isolation of L-asparaginase enzyme derived from white turmeric (*Curcuma mangga Vall*) and activity test on leukemia K562 type has been conducted. L-asparaginase is a hydrolase enzyme that catalyzes the hydrolysis of asparagine into aspartic acid and ammonia. This research was conducted through several major stages which were enzyme isolation, activity test and anticancer potency test. Isolation of L-asparaginase through two stages of stratified extraction and fractionation using ammonium sulphate salt so that it will produce pure L-asparaginase enzyme from protein. Specific activity test of L-asparaginase was carried out at optimum condition at 37 °C, pH 8,5, and incubation time 30 min by counting the amount of ammonia formed by Nessler reagent and calculating protein level by Lowry method from each fraction. The results of L-asparaginase obtained from white turmeric (*Curcuma mangga Vall*) with a large specific activity when compared to other sources such as parasite, onion, garlic and onion. The specific activity of white turmeric L-asparaginase enzyme is 2195,715 units / mg protein at the fifth fraction (80-100%). The third stage is anticancer potency test on cell culture Leukimia type K562 by using cell viability method with addition of MTT and measured by ELISA Reader. Tests were performed with 15 concentration variations and it was found that L-asparaginase enzyme had good potential as anticancer with LC<sub>50</sub> value at L-asparaginase addition concentration of 9,419 ppm.

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi enzim L-asparaginase yang berasal dari kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) dan uji aktifitas pada leukimia tipe K562. L-asparaginase adalah enzim hidrolase yang mengkatalisis hidrolisis asparagin menjadi asam aspartat dan amonia. Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan utama yaitu isolasi enzim, uji aktivitas dan uji potensi antikanker. Isolasi L-asparaginase melalui dua tahap yaitu ekstraksi dan fraksinasi bertingkat menggunakan garam amonium sulfat sehingga akan dihasilkan enzim L-asparaginase yang murni dari protein. Uji aktivitas spesifik L-asparaginase dilakukan pada kondisi optimum yaitu pada suhu 37 °C, pH 8,5, dan waktu inkubasi 30 menit dengan cara menghitung jumlah amonia yang terbentuk dengan pereaksi Nessler dan menghitung kadar protein dengan metode Lowry dari masing-masing fraksi. Dari hasil penelitian diperoleh L-asparaginase dari rimpang kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) dengan aktivitas spesifik yang besar bila dibandingkan dari sumber yang lain seperti benalu, bawang merah, bawang putih dan bawang bombay. Aktivitas spesifik enzim L-asparaginase kunyit putih sebesar 2195,715 unit/mg protein pada fraksi kelima (80-100%). Tahapan yang ketiga yaitu uji potensi antikanker pada kultur sel Leukimia tipe K562 dengan menggunakan metode viabilitas sel dengan penambahan MTT dan diukur dengan *ELISA Reader*. Pengujian dilakukan dengan 15 variasi konsentrasi dan diketahui bahwa enzim L-asparaginase mempunyai potensi yang baik sebagai antikanker dengan nilai LC<sub>50</sub> pada konsentrasi penambahan L-asparaginase sebesar 9,419 ppm.

## 1. Pendahuluan

Kanker adalah salah satu golongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (invasi) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (metastasis). Kanker merupakan penyakit yang menempati peringkat kedua di dunia sebagai penyebab kematian. Sampai saat ini telah banyak usaha yang dilakukan untuk menyembuhkan penyakit kanker. Umumnya, pengobatan kanker dilakukan dengan terapi menggunakan obat-obat sintesis dan radiasi, tetapi terapi yang digunakan tersebut banyak menimbulkan efek samping yang merugikan penderita dan mahal [1]. Sampai saat ini belum ditemukan pengobatan yang efektif untuk kanker, oleh karena itu dilakukan penelitian untuk mencoba menambah alternatif obat antikanker, salah satu cara yang dilakukan adalah dengan mengembangkan pengobatan dari bahan alam yang berasal dari tumbuhan. Pengobatan dari bahan alam yang berasal dari tumbuhan menjadi salah satu alternatif karena harganya lebih murah, efektif dan tanpa efek samping [2].

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki keanekaragaman hayati, sehingga berpotensi besar dalam memperoleh obat alternatif sebagai antikanker dari tumbuhan. Salah satu tumbuhan yang diketahui dapat berfungsi sebagai antikanker adalah kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*). Berdasarkan penelitian terdahulu kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) mengandung enzim L-asparaginase dengan aktifitas spesifik yang tinggi jika dibandingkan sumber lain seperti benalu mangga, bawang merah, temulawak, bawang bombay, dan bawang putih sehingga diharapkan bisa digunakan sebagai antikanker.

Enzim L-asparaginase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia [3]. L-asparagin merupakan asam amino non-esensial [4] yang dibutuhkan oleh sel untuk sintesis protein dan pertumbuhan. Jumlah asparagin sintetase pada sel penderita leukemia terbatas, sehingga ketersediaan Asparagin bergantung dari luar sel [3]. Sedangkan pada sel normal asparagin sintetase dapat bekerja secara normal menghasilkan asparagin. Adanya L-asparaginase dalam tubuh akan mengakibatkan penurunan konsentrasi asparagin dalam darah sehingga asupan asparagin bagi sel kanker tersebut menjadi sangat terbatas dan sintesis protein pada sel tersebut akan terganggu yang pada akhirnya akan menghambat pertumbuhan sel kanker, dan mengakibatkan kematian sel kanker tersebut. Aktivitas L-asparaginase tidak akan mengganggu sel normal, karena sel normal memiliki enzim asparagin sintetase dalam jumlah yang semestinya, sehingga kebutuhan asparagin akan dapat dipenuhi oleh sel normal itu sendiri [4].

Telah dilakukan penelitian dan diketahui bahwa L-asparaginase fraksi ke-5 (80-100%) dari rimpang kunyit putih memiliki aktivitas spesifik yang besar sehingga diharapkan mempunyai potensi yang besar sebagai

antikanker [5]. Enzim L-asparaginase dari *E coli* telah diujikan pada sel kanker leukemia K562 dan telah dapat menghambat pertumbuhan sel kanker leukemia K562 [6].

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan potensi antikanker enzim L-asparaginase dari rimpang kunyit putih pada sel kanker leukemia K562. Potensi antikanker dapat diketahui dengan menghitung besarnya nilai  $LC_{50}$ . Nilai  $LC_{50}$  menunjukkan besarnya sel kanker leukemia K562 yang terhambat pertumbuhannya oleh adanya penambahan enzim L-asparaginase fraksi ke-5 dari rimpang kunyit putih.

## 2. Metode Penelitian

### 2.1 Isolasi Enzim

Serbuk kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) sebanyak 1000 g ditambahkan 500 mL bufer Tris-hidroksimetil-aminometan 0,2 M pH = 8,6 dan diblender selama 20 menit. Campuran kemudian dibiarkan selama 1,5 jam pada suhu 5°C lalu disaring. Filtrat kemudian disentrifugasi pada 3400 rpm selama 10 menit. Filtrat yang diperoleh dari sentrifugasi pada 3400 rpm disebut ekstrak kasar (EK).

### 2.2 Fraksinasi Enzim

Fraksinasi enzim dilakukan dengan menggunakan amonium sulfat secara bertingkat dengan tingkat kejenuhan 0 - 20% ( $F_1$ ), 20 - 40% ( $F_2$ ), 40 - 60% ( $F_3$ ), 60 - 80% ( $F_4$ ), 80 - 100% ( $F_5$ ). Amonium sulfat ditimbang sesuai fraksi yang dikehendaki agar diperoleh konsentrasi yang diinginkan, lalu dimasukkan ke dalam filtrat hasil akhir tahap isolasi enzim sedikit demi sedikit sambil diaduk dengan *magnetic stirer* dalam penangas es. Campuran kemudian didiamkan selama 1 malam dalam keadaan dingin (dimasukkan dalam lemari es), kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 50 menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dari filtratnya dan disuspensi dengan 3 mL bufer Tris-hidroksimetil-aminometan 0,2 M pH = 8,6. Endapan yang disuspensi tersebut merupakan EK,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$ .

### 2.3 Dialisis Enzim

Dialisis dilakukan dengan menggunakan membran selofan yang telah direbus selama 30 menit dan dicuci dengan akuades. Selofan yang berisi suspensi hasil akhir fraksinasi enzim direndam dalam bufer Tris-hidroksimetil-aminometan 0,002 M pH = 8,6 dalam keadaan dingin dan tiap 2 jam bufer diganti serta diuji kandungan amonium sulfat pada larutan diluar selofan dengan  $BaCl_2$  0,01 M hingga tidak terbentuk endapan putih. Fraksi yang diujikan pada sel kanker dikeringkan dengan menggunakan *Freeze dryer*.

### 2.4 Penentuan Unit Aktivitas Enzim

Sebanyak 6 tabung yang masing-masing diisi dengan 1 mL larutan substrat L-asparagin 0,1665 M, 0,1 endapan yang disuspensi (EK,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_3$ ,  $F_4$ ,  $F_5$ ), dan 0,4 mL bufer Tris-hidroksimetil-aminometan 0,2 M pH = 8,5 disiapkan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian ditambah 1 mL larutan TCA 1,5 M dan disentrifugasi pada kecepatan 3400 rpm selama 15 menit untuk memisahkan endapannya. Sebanyak 0,25 mL

filtrat diambil lalu ditambah dengan 4,25 mL akuades dan 0,5 mL pereaksi Nessler, kemudian absorbansi larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis. Sebagai kontrol adalah 0,1 mL endapan yang disuspensi, yang telah dihilangkan aktifitasnya (dengan dipanaskan), ditambah 0,4 mL bufer Tris-hidroksimetilaminometan 0,2 M pH = 8,5 dan 0,5 mL larutan L-asparagin 0,1665 M. Aktivitas enzim ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar amonium sulfat.

## 2.5 Penentuan Kadar Protein

Sebanyak 0,1 mL larutan protein hasil fraksinasi (EK, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub>, F<sub>5</sub>) ditambah dengan 2 mL larutan Lowry C, diinkubasi pada suhu optimum (37°C) selama 30 menit sambil sesekali dikocok. Selanjutnya ditambah dengan 0,2 mL Lowry D dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu kamar dengan sesekali dikocok, kemudian diukur absorbansinya. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) optimum BSA dengan spektrofotometer UV-Vis. Kadar protein ditentukan secara regresi linier terhadap kurva standar BSA.

## 2.6 Kultur Sel Kanker Leukimia K562

Sel kanker leukimia K562, FBS serum dan media IMDM yang ketiganya diperoleh dari LPPT UGM Yogyakarta disiapkan. Proses selanjutnya dikerjakan dengan teknik aseptik di bawah *Laminair Air Flow Cabinet* (LAFC).

## 2.7 Proses *Thawing* Sel Kanker Leukimia K562

Sel kanker leukimia K562 disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama lima menit pada suhu 4°C. Endapan sel ditanam pada botol kultur yang berisi media yang mengandung 10% serum. Selanjutnya kultur disimpan dalam inkubator yang mengandung 95% CO<sub>2</sub> dan 5% O<sub>2</sub> pada suhu 37°C selama 24 jam.

## 2.8 Inisiasi Kultur Sel Kanker Leukimia K562

Botol kultur steril bertutup disiapkan. Selanjutnya sel kanker leukimia K562 hasil *thawing* dihomogenkan dan dituangkan ke masing-masing botol kultur sebanyak 2 mL. sel diinkubasi dalam inkubator yang mengandung 95% CO<sub>2</sub> dan 5% O<sub>2</sub> pada suhu 37°C selama 24 jam. Hitung jumlah sel/mL  $\geq 10^4$  sel/mL.

## 2.9 Uji Hambatan Pertumbuhan Sel Kanker Leukimia K562

Larutan uji yang telah dibuat disiapkan. Kultur hasil inisiasi dihomogenkan. Kontrol terdiri dari sel, medium IMDM, dan larutan dapar natrium fosfat 5 mM pH = 7,2. Blanko terdiri dari medium IMDM, larutan dapar natrium fosfat 5 mM pH = 7,2. Perlakuan untuk uji sitotoksitas terdiri dari sel, medium IMDM, larutan dapar natrium fosfat 5 mM pH = 7,2 dan variasi konsentrasi sampel enzim L-asparaginase. Sampel yang diuji adalah larutan yang dibuat dari serbuk hasil fraksinasi enzim L-asparaginase dengan aktivitas spesifik tertinggi pada beberapa variasi konsentrasi.

## 2.10 Penghitungan Persen Kematian Sel Menggunakan Metode MTT

Larutan MTT dimasukkan kedalam sumuran. Sel yang hidup akan membentuk kristal formazan berwarna ungu yang intensitasnya dapat diukur dengan ELISA Reader. Absorbansi yang terbaca sebanding dengan jumlah sel hidup.

## 2.11 Analisis Hasil

Sitotoksitas variasi konsentrasi sampel enzim L-asparaginase dianalisa dengan menghitung prosentase kematian sel yang diperoleh dari perhitungan menggunakan modifikasi rumus *Abbot* [7]:

$$\text{Persen kematian} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A = Nilai rata-rata absorbansi dari beberapa kontrol

B = Nilai rata-rata absorbansi dari beberapa perlakuan

Efek toksisitas dianalisis dari pengamatan dengan persen kematian. Dengan mengetahui kematian sel kanker, kemudian dicari angka probit melalui tabel dan dibuat persamaan garis :

$$Y = BX + A$$

di mana

Y = log konsentrasi

X = Angka probit

Dari persamaan tersebut kemudian dihitung LC50 dengan memasukkan nilai probit (50% kematian) [7].

## 3. Hasil dan Pembahasan

Salah satu senyawa yang bisa digunakan sebagai antikanker adalah enzim L-asparaginase. L-asparaginase bisa diperoleh dari berbagai sumber salah satunya adalah dari kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*). Untuk mendapatkan enzim L-asparaginase maka dilakukan isolasi dan pemurnian. Enzim L-asparaginase selanjutnya diujikan terhadap sel kanker leukimia tipe K562 dengan metode MTT untuk mengetahui potensi antikanker.

### 3.1 Isolasi Enzim L-asparaginase dari Kunyit Putih (*Curcuma mangga Vall*)

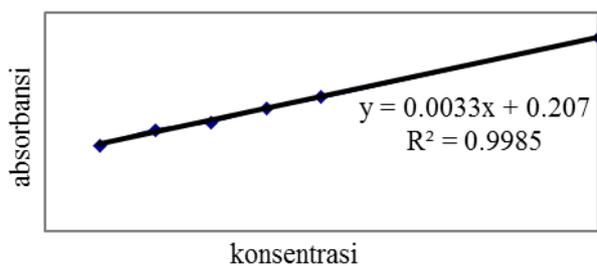
Enzim L-asparaginase dapat diekstrak dari jaringan kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) dengan jalan memecah jaringan tersebut secara mekanik, yaitu dengan cara diblender dan sentrifugasi. Campuran protein enzim dan protein non enzim yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar enzim (756 mL), sehingga perlu dilakukan pemurnian. Salah satu cara pemurnian enzim adalah fraksinasi bertingkat dengan menggunakan garam amonium sulfat. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu sebagian besar protein enzim tahan terhadap garam tersebut, kelarutannya besar dalam air, mempunyai efek menstabilkan terhadap sebagian besar enzim dan merupakan garam divalen yang mempunyai kekuatan ion yang lebih besar dari pada garam monovalen [8]. Fraksinasi diikuti dengan

sentrifugasi untuk memisahkan endapan dan supernatan. Endapan yang diperoleh merupakan protein enzim yang perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut.

Endapan protein hasil fraksinasi bertingkat masih mengandung amonium sulfat. Oleh karena itu, amonium sulfat dipisahkan dari protein dengan cara dialisis, menggunakan membran selofan [9]. Untuk enzim yang akan diujikan terhadap sel kanker dikeringkan dengan menggunakan freeze dryer. Setelah proses freeze dryer akan diperoleh enzim kering yang bisa diujikan pada sel kanker leukimia K562. Berat enzim fraksi 5 adalah 0,454 gram dari 1000 gram kunyit putih.

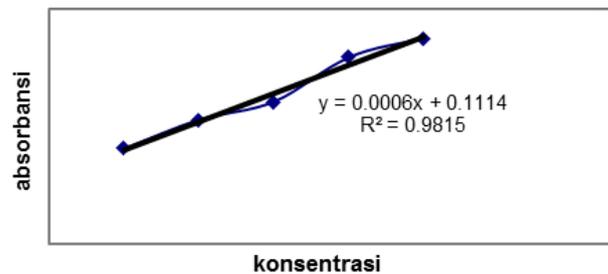
**3.2 Uji Aktivitas Spesifik Enzim L-asparaginase dari Kunyit Putih (*Curcuma mangga Vall*)**

Enzim L-asparaginase hasil isolasi ditentukan aktivitasnya dengan mereaksikan enzim tersebut menggunakan substrat L-asparagin. L-asparaginase akan mengkatalisis reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia. Aktivitas spesifik enzim L-asparaginase dapat dihitung dari unit aktivitas enzim per mg protein. Satu unit aktivitas enzim L-asparaginase dapat didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dapat membentuk 1 μmol NH<sub>4</sub><sup>+</sup> per menit pada kondisi optimum [10]. Pada penelitian ini, aktivitas enzim L-asparaginase diukur dari amonia yang dihasilkan, dan diuji dengan menggunakan pereaksi Nessler menghasilkan senyawa kompleks berwarna coklat kekuningan pada setiap fraksinya. Warna tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, dan nilai absorbansi yang terukur kemudian diplotkan pada kurva standar amonium sulfat untuk mengetahui besarnya unit aktivitas yang terdapat pada ekstrak kasar dan tiap-tiap fraksi.



**Gambar 1.** Grafik penentuan kurva standar larutan amonium sulfat pada λ = 420 nm

Kadar protein pada tiap-tiap fraksi diukur dengan menggunakan metode Lowry [10]. Melalui metode ini, protein dalam kunyit putih (*Curcuma mangga Vall*) akan bereaksi dengan pereaksi Lowry, menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru dan di plotkan pada kurva standar BSA.



**Gambar 2.** Grafik Penentuan Kurva Standar Larutan BSA pada λ = 750 nm

Nilai aktifitas spesifik diketahui dari pengukuran unit aktivitas dan kadar protein dari tiap fraksi. Besarnya aktifitas spesifik merupakan rasio dari unit aktivitas dan kadar protein. Nilai aktifitas spesifik dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

**Tabel 1.** Data penentuan aktivitas spesifik enzim L-asparaginase pada kunyit putih pada kondisi optimum (pH 8,5, waktu inkubasi 30 menit, suhu 37 °C)

Fraksi	Aktivitas Enzim (Unit/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)	Tingkat Kemurnian
EK	3712,192	38,600	96,171	1,000
F <sub>1</sub>	3052,101	25,275	120,756	1,256
F <sub>2</sub>	3048,834	6,900	441,860	4,595
F <sub>3</sub>	3189,348	5,108	624,342	6,492
F <sub>4</sub>	2686,111	2,327	1154,489	12,005
F <sub>5</sub>	3754,673	1,710	2195,715	22,831

Aktivitas enzim L-asparaginase setiap fraksi berbeda-beda, Hal ini disebabkan oleh dua faktor, yaitu unit aktivitas dan kadar protein. Pada penelitian ini diketahui bahwa aktivitas spesifik tertinggi diperoleh pada F<sub>5</sub> sebesar 2195,715 unit/mg protein dan terendah pada EK sebesar 96,171 unit/mg protein. Aktifitas spesifik tertinggi pada F<sub>5</sub> dan terendah pada EK menunjukkan bahwa kemurnian enzim tertinggi pada F<sub>5</sub> dan kemurnian terendah pada EK yang artinya bahwa kandungan protein enzim tertinggi pada fraksi ke lima. Hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian terdahulu oleh Kurnasih, 2006, yaitu bahwa fraksi dengan aktivitas spesifik tertinggi pada F<sub>5</sub> dengan nilai aktivitas spesifik sebesar 1995 Unit/ mg protein.

**3.3 Uji aktivitas enzim L-asparaginase pada Kultur Sel Kanker Leukimia Tipe K562**

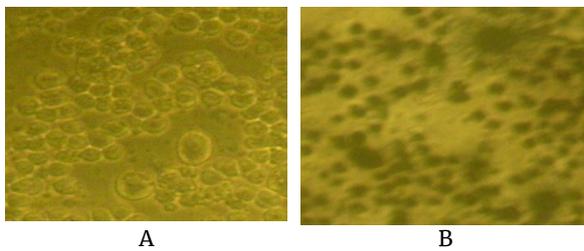
Setelah diketahui fraksi dengan nilai aktivitas tertinggi maka selanjutnya di uji terhadap sel kanker leukimia tipe K562 dengan menggunakan metode MTT yang mana pembacaan dilakukan dengan ELISA Reader. Metode MTT adalah suatu tes laboratorium dan suatu metode standar kolorimetri (suatu metode yang mengukur perubahan warna) untuk mengukur pertumbuhan sel. Metode ini juga digunakan untuk menentukan sitotoksisitas agen obat potensial dan senyawa toksik lainnya.

Uji aktivitas antikanker ini dilakukan dengan metode MTT untuk menentukan viabilitas sel sehingga bisa

digunakan untuk mengetahui efek sitotoksiknya. Prinsip dari metode MTT adalah adanya pemecahan garam tetrazolium MTT [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromida] oleh sistem enzim tetrazolium suksinat reduktase (atau suksinat dehidrogenase) yang terdapat di dalam mitokondria sel hidup sehingga terbentuklah kristal formazan berwarna ungu [11]. Semakin tinggi intensitas warna ungu yang terbentuk maka sel yang hidup semakin banyak. Intensitas warna ini selanjutnya dapat dibaca dengan ELISA Reader dan diperoleh data berupa absorbansi. Semakin banyak kristal formazan yang terbentuk maka semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh dan mengindikasikan kematian yang rendah.

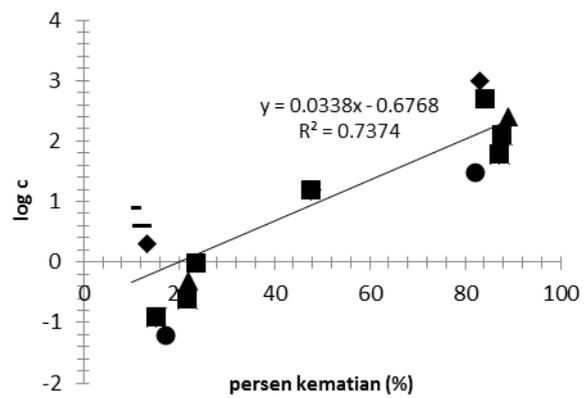
Sel yang masih hidup berarti masih aktif melakukan aktivitas metabolisme sehingga adanya MTT pada lingkungannya akan segera dipecah oleh enzim tetrazolium suksinat reduktase yang terdapat di dalam mitokondria sel tersebut membentuk kristal formazan berwarna ungu [11]. Reaksi tersebut melibatkan piridin nukleotida kofaktor NADH dan NADPH yang hanya dikatalis oleh sel hidup, sehingga jumlah formazan yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel yang hidup [12]. Reaksi MTT dihentikan dengan penambahan reagen stopper (10% SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) dalam 0,01 N HCl) yang berfungsi untuk melarutkan kristal formazan yang telah terbentuk. Pengukuran absorbansi dengan ELISA Reader dilakukan pada panjang gelombang 550 nm[13]

Gambar pengaruh sampel dan perlakuan terhadap sel kanker leukimia tipe K562 hasil penelitian dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



Gambar 3. A. Foto Sel kanker Leukimia Tipe K562; B. Sel+Ekstrak (telah mati)

Data dan grafik hasil uji sitotoksitas serbuk enzim L-asparaginase fraksi ke-5 dari kunyit putih terhadap sel kanker leukimia tipe K562 yang dinyatakan dalam persen kematian dapat dilihat pada gambar di bawah ini. Nilai x merupakan besarnya persen kematian dan nilai y merupakan besarnya logaritma konsentrasi.



Gambar 4. Grafik persentase kematian sel kanker Leukimia tipe K562 oleh adanya enzim L-asparaginase dari kunyit putih

Besarnya penghambatan oleh L-asparaginase pada sel kanker leukimia ditunjukkan oleh besarnya nilai LC<sub>50</sub>. Nilai LC<sub>50</sub> adalah konsentrasi yang digunakan untuk membunuh 50% atau setengah dari jumlah sel mula-mula.

Persamaan regresi linier yang diperoleh dari grafik yaitu  $y = 0,033 x - 0,676$  dapat dilihat pada gambar 4. Persamaan tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai LC<sub>50</sub> dengan memasukkan nilai 50 sebagai x sehingga didapatkan nilai y. Nilai y menunjukkan nilai log dari konsentrasi dari fraksi ke-5 enzim L-asparaginase. Konsentrasi fraksi ke-5 enzim L-asparaginase adalah antilog 0,974 yaitu 9,419 µg/ml. Hal ini berarti bahwa kematian dari sel kanker leukimia K562 mencapai 50% dengan adanya penambahan enzim L-asparaginase dengan konsentrasi 9,419 µg/ml.

Jika dilihat dari besarnya nilai LC<sub>50</sub> yang didapat bila dibandingkan dengan L-asparaginase dari temulawak maka dapat diketahui bahwa penghambatan oleh L-asparaginase kunyit putih menunjukkan potensi yang lebih baik. Menurut NCI (*National Cancer Institute*) jika suatu uji sitotoksik suatu senyawa menghasilkan harga LC<sub>50</sub> ≤ 20 µg/ml maka senyawa tersebut dinyatakan memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai senyawa antikanker. Karena nilai LC<sub>50</sub> enzim L-asparaginase fraksi ke-5 dari kunyit putih yang diuji kurang dari 20 µg/ml, maka senyawa bioaktif tersebut potensial untuk digunakan sebagai antikanker, khususnya terhadap sel kanker Leukimia K562.

#### 4. Kesimpulan

1. Enzim L-asparaginase dapat diisolasi dari rimpang kunyit putih dengan berat enzim fraksi 5 adalah 0,454 gram dari 1000 gram kunyit putih.
2. Enzim L-asparaginase dari rimpang kunyit putih memiliki aktivitas spesifik tertinggi pada kondisi optimum pada enzim fraksi ke-5 (80-100%) yaitu dengan aktivitas spesifik enzim L-asparaginase sebesar 2195,715 unit/mg protein.
3. Enzim L-asparaginase fraksi ke-5 rimpang kunyit putih mempunyai potensi yang baik sebagai antikanker dengan LC<sub>50</sub> pada konsentrasi penambahan enzim L-asparaginase 9,419 µg/ml.

## 5. Daftar Pustaka

- [1] G.S. Nafrialdi, D. Tirza, T. Handoko, Antikanker dan imunosupresan, Setiabudi R, Suyatma FD, Purwastyastuti, editors. Farmakologi dan terapi. Jakarta: Gaya Baru, (2003) 686-713.
- [2] M. Radji, A. Sumiati, N. Indani, Uji Mutagenisitas dan Anti Kanker Ekstrak Aseton dan N-Heksana Dari Kulit Batang Sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.), MajaIah Ilmu Kefarmasian, 1 (2004) 69-78.
- [3] P. Konečná, B. Klejdus, H. Hrstková, Monitoring The Asparaginase Levels in Children with Acute Lymphoblastic Leukaemia Treated with Different Asparaginase Preparations, Scripta Medica, (2004) 55-62.
- [4] A.L. Lehninger, Dasar-dasar biokimia, Erlangga, Jakarta, 2000.
- [5] E.F.D. Kurniasih, Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Spesifik L Asparaginase Dalam Variasi Waktu Penyimpanan Dari Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Vall) Pada Suhu Kamar, in: Jurusan Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang, 2006.
- [6] Q.-L. Guo, M.-S. Wu, Z. Chen, Comparison of antitumor effect of recombinant L-asparaginase with wild type one in vitro and in vivo, Acta Pharmacologica Sinica, 23 (2002) 946-951.
- [7] B.N. Meyer, N.R. Ferrigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobsen, D.E. Nachols, J.L. Mc Laughlin, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Convinient, Planta Medica, 45 (1982).
- [8] R.K. Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, 3rd edition ed., Srpinger, Newyork, 1987.
- [9] F. Franks, Characterization of Proteins, Humana Press, 2007.
- [10] J. Paul, Isolation and characterization of a Chlamydomonas L-asparaginase, Biochemical Journal, 203 (1982) 109-115.
- [11] R.I. Freshney, Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Application, Lissing, Newyork, 1986.
- [12] D. Hughes, H. Mehmet, Cell proliferation and apoptosis, Taylor & Francis, 2003.
- [13] T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, Journal of immunological methods, 65 (1983) 55-63.