

Uji Antikanker Isolat Bioaktif L-*asparaginase* dari Kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap Sel Kanker Serviks

Putri Puspita Wardani^a, Suprihati^b, Wuryanti^a

^a Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

^b Otolaryngology Department, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

Article Info

Keywords:

Cervical cancer, L-*asparaginase*, an anticancer, turmeric, LC₅₀ values

Kata kunci:

Kanker serviks, L-*asparaginase*, antikanker, kunyit, nilai LC₅₀

Abstract

Cervical cancer is the leading cause of death in women in developing countries. Various methods of therapy of this disease have been done, among others with the use of bioactive compounds as anticancer agents, one of which is turmeric (*Curcuma domestica* Val). This study aims to isolate, purify, determine the value of the highest specific activity, LC₅₀ value and potent anticancer potential of L-*asparaginase* from turmeric on cervical cancer cell culture (HeLa). The L-*asparaginase* enzyme was isolated by extraction method then purified by fractionation and dialysis. L-*asparaginase* activity was tested using Nessler method, while the determination of protein content was measured by Lowry method. Specific activity was determined through the ratio of activity units to protein content. The highest enzyme L-*asparaginase* enzyme fraction was tested for its cytotoxicity against HeLa cells by MTT method (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide) and its anticancer potential was determined by calculating the LC₅₀ value. The results concluded that L-*asparaginase* enzyme could be isolated and purified from turmeric with the highest specific activity at fraction 4 of 284.04 units/mg protein. The cytotoxicity test of HeLa cells showed LC₅₀ value of 91.833 µg/mL, hence the L-*asparaginase* fraction 4 enzyme from the turmeric was able to inhibit the growth of HeLa cells, however it was less potential as an anticancer agent based on NCI (National Cancer Institute) standard.

Abstrak

Kanker serviks merupakan penyebab kematian terbesar pada wanita di negara berkembang. Berbagai metode terapi penyakit ini telah dilakukan, di antaranya dengan penggunaan senyawa bioaktif sebagai agen antikanker, salah satunya adalah kunyit (*Curcuma domestica* Val). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, memurnikan, menentukan nilai aktivitas spesifik tertinggi, nilai LC₅₀ dan potensi antikanker enzim L-*asparaginase* dari kunyit pada kultur sel kanker serviks (HeLa). Enzim L-*asparaginase* diisolasi dengan metode ekstraksi kemudian dimurnikan dengan fraksinasi dan dialisis. Uji aktivitas L-*asparaginase* menggunakan metode Nessler, sedangkan penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Lowry. Aktivitas spesifik ditentukan melalui perbandingan unit aktivitas terhadap kadar protein. Fraksi enzim L-*asparaginase* yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi diuji sitotoksitasnya terhadap sel HeLa dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromida) dan potensi antikankernya ditentukan dengan menghitung nilai LC₅₀. Hasil penelitian disimpulkan bahwa enzim L-*asparaginase* dapat diisolasi dan dimurnikan dari kunyit dengan aktivitas spesifik tertinggi pada fraksi 4 sebesar 284,040 unit/mg protein. Uji sitotoksitas pada sel HeLa menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 91,833 µg/mL, sehingga isolat enzim L-*asparaginase* fraksi 4 dari kunyit mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa, tetapi kurang berpotensi sebagai agen antikanker berdasarkan standar NCI (National Cancer Institute).

1. Pendahuluan

Survei kesehatan nasional tahun 2001 dan sistem informasi rumah sakit tahun 2006 menunjukkan bahwa kanker merupakan penyebab kematian kelima di Indonesia. Kanker serviks (leher rahim) merupakan penyebab utama kematian akibat kanker pada wanita di negara berkembang [1]. Ada berbagai macam cara penyembuhan untuk mengobati kanker serviks yaitu dengan teknologi seperti kemoterapi [2] dan pengobatan bahan alam akan tetapi terdapat efek samping dari penggunaan kemoterapi sehingga merugikan penderita [3].

Pengobatan dengan bahan alam merupakan cara yang efektif sebab tidak ada efek samping yang ditimbulkan [4]. Ada berbagai macam tumbuhan obat bahan alam untuk kanker seperti benalu teh, temulawak, kunyit, dan benalu petai yang berfungsi sebagai bahan antikanker. Kunyit merupakan tumbuhan yang mempunyai kandungan *curcumin* yang cukup tinggi dan berpotensi menjadi obat kanker sehingga sekarang para peneliti mulai meneliti untuk mengobati kanker dari tumbuhan kunyit [5].

Enzim *L-asparaginase* terdapat di dalam kunyit dimana kinerjanya mampu menghambat kanker. Enzim tersebut termasuk salah satu enzim hidrolase yang mengkatalisis reaksi hidrolisis *L-asparagin* menjadi *L-aspartat* dan amonia sehingga kanker tidak dapat melakukan pembelahan sel [6], karena *L-asparagin* itu sendiri berfungsi sebagai sumber nutrisi telah diubah dalam bentuk senyawa lain oleh enzim tersebut [7].

Penelitian kali ini yaitu mengisolasi dan menguji enzim *L-asparaginase* dari kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap sel kanker serviks (sel HeLa) yang mengacu pada beberapa penelitian tentang isolasi enzim *L-asparaginase* dari tumbuhan temulawak dan kunyit putih. Enzim *L-asparaginase* diisolasi menggunakan metode ekstraksi selanjutnya dimurnikan dengan fraksinasi dan dialisis. Uji aktivitas enzim *L-asparaginase* dilakukan dalam kondisi optimum yaitu pada suhu 37°C, pH 8,5 dan waktu inkubasi 30 menit dengan metode Nessler sedangkan uji kadar protein dengan metode Lowry. Aktivitas spesifik ditentukan melalui perbandingan unit aktivitas terhadap kadar protein. Satu unit aktivitas *L-asparaginase* dapat didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang dapat membentuk 1 μmol amonia per menit pada kondisi optimum [8]. Fraksi enzim *L-asparaginase* yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi diuji sitotoksitasnya terhadap sel HeLa dengan metode MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromida) dan potensi antikankernya ditentukan dengan menghitung nilai LC_{50} .

2. Metodologi

Alat & Bahan

Alat-alat gelas laboratorium yang biasa digunakan untuk analisis, kertas saring, mikropipet, membran selofan, tabung sentrifus (Nunc), sentrifugator (*Centrif-228*), inkubator (*Memmert*), blender (*Philip*), neraca analitik (*Kern 870*), pHmeter (*Orain-420A*),

magnetic stirer (*Thermolyne Cimarec*), spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*), *freeze dryer*, *laminar air flow cabinet*, *microplate 96-wells* (Nunc), mikroskop fluoresens dan ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) Reader.

Kunyit, *L-asparagin*, amonium sulfat, BSA (*bovine serum albumin*), merkuri (II) iodida, *Folin-ciocalteu*, TCA (*Trichloroacetic acid*), barium (II) klorida, tris-hidroksimetil-aminometan, asam klorida, natrium karbonat, kalium-natrium tartrat, natrium hidroksida, kalium iodida, tembaga (II) sulfat, akuades, sel HeLa, tripsin, medium RPMI (*Roswell Park Memorial Institute*) 1640 (Sigma), FBS (*Fetal Bovine Serum*) 10% (Gibco), reagen SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) 10%, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromida).

Isolasi Enzim

Kunyit yang telah dipotong-potong diambil 1000 g ditambah 500 mL buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH = 8,6 dan diblender hingga tercampur semua. Campuran didiamkan selama 1,5 jam pada suhu 5°C kemudian disaring, dan filtratnya disentrifus pada 3400 rpm selama 10 menit. Filtrat yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar enzim *L-asparaginase* dari kunyit.

Fraksinasi Enzim dengan Garam Amonium sulfat

Garam amonium sulfat ditimbang untuk memperoleh kejenuhan secara berturut-turut 0-20%, 20-40%, 40-60%, 60-80%, dan 80-100%. Amonium sulfat ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam 416 mL ekstrak enzim sedikit demi sedikit sambil diaduk sampai larut. Pengadukan dengan menggunakan *magnetic stirer* di dalam penangas air berisi es. Campuran kemudian didiamkan selama 1 malam di dalam kulkas dan disentrifus pada 3500 rpm selama 50 menit. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan disuspensikan ke dalam 3 mL buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH = 8,6. Suspensi ini mempunyai kejenuhan 0-20% dan disebut sebagai fraksi 1.

Secara terpisah filtrat dari fraksi 1 ditambah garam amonium sulfat fraksi 20-40%. Endapan yang diperoleh diperlakukan sama seperti untuk mendapatkan fraksi 1 sehingga diperoleh fraksi 2, selanjutnya dilakukan secara berturut-turut hingga diperoleh fraksi 3, fraksi 4 dan fraksi 5.

Proses Dialisis

Membran selofan direbus selama 30 menit kemudian dicuci dengan akuades. Salah satu ujung selofan diikat dengan benang kemudian ke dalam selofan diisi enzim fraksi I setelah itu pada ujung lainnya diikat dengan benang. Selofan yang telah terisi enzim fraksi 1 direndam di dalam buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,002 M pH = 8,6 dan diaduk dengan pengaduk magnet pada keadaan dingin dan setiap 2 jam buffer diganti dan diuji kandungan amonium sulfatnya pada larutan di luar selofan dengan BaCl_2 0,01 M. Dialisis dihentikan setelah pengujian dengan BaCl_2 tidak membentuk endapan putih BaSO_4 lagi. Pada tahap ini diperoleh enzim *L-asparaginase* F1. Perlakuan yang sama diterapkan untuk mendapatkan enzim *L-asparaginase*

F2, F3, F4, dan F5. Fraksi yang akan diujikan pada sel kanker dikeringkan dengan menggunakan *Freeze dryer*.

Penentuan Aktivitas Enzim

Sebanyak 1 mL larutan L-asparagin, 0,1 mL enzim dan 0,4 mL buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH = 8,6 dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Campuran ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dan ditambah 1 mL TCA 1,5 M selanjutnya disentrifus dengan kecepatan 3400 rpm selama 15 menit.

Setelah itu diambil 0,5 mL filtrat ditambah akuades 8,5 mL dan pereaksi Nessler 1 mL. Campuran ini didiamkan beberapa menit kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum (420 nm). Sementara itu larutan kontrol dibuat dari enzim 0,2 mL yang telah dihilangkan aktivitasnya dengan menambahkan 0,8 mL buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH = 8,6 dan 1 mL L-asparagin. Aktivitas enzim ditentukan berdasarkan kurva standar amonium sulfat.

Uji Kadar Protein

Sebanyak 0,1 mL larutan protein hasil fraksinasi (EK, F1, F2, F3, F4, dan F5) ditambah dengan 2 mL larutan Lowry C dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Selanjutnya campuran ini ditambah dengan 0,2 mL Lowry D dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit dengan sesekali dikocok. Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum BSA (750 nm) kemudian ditentukan kadar protein berdasarkan kurva standar BSA.

Uji Sitotoksitas

Ekstrak dibuat dengan seri konsentrasi 1000 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62,5 µg/mL, 31,25 µg/mL, 15,625 µg/mL, 7,812 µg/mL, 3,906 µg/mL, dan 1,95 µg/mL dalam medium RPMI. Sel HeLa mula-mula dilakukan pensentrifusan selama 5 menit pada 1500 rpm, pellet sel tersebut disuspensikan dalam 4 mL FBS 10%, dihomogenkan, kemudian jumlah sel/mL dihitung menggunakan Hemocytometer di bawah mikroskop. Sel ditambah medium RPMI dimasukkan dalam plate sebanyak 100 µL/well dengan jumlah sel 2x10⁴ sel/well, diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Sel hasil inkubasi ditambah 100 µL/well enzim L-*asparaginase* dengan berbagai konsentrasi diinkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂, larutan MTT ditambahkan dalam plate hasil inkubasi sebanyak 10 µL/well dan diinkubasi kembali selama 4 jam. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µL/well reagen SDS 10%, didiamkan selama semalam kemudian diukur absorbansinya dengan ELISA Reader.

Hasil Analisis

Data absorbansi yang diperoleh dari uji sitotoksitas dianalisis dengan menghitung % kematian sel HeLa berdasarkan rumus:

$$\text{Persen kematian} = \frac{(A - B) - (C - D)}{A - B} \times 100\%$$

Data diplotkan dalam kurva linear yaitu log konsentrasi sebagai sumbu x versus persen kematian sebagai sumbu y, sehingga diperoleh persamaan garis:

$$y = mx + c$$

Nilai LC₅₀ ditentukan dengan mensubstitusi nilai 50 pada koefisien y sehingga diperoleh nilai x. Log konsentrasi adalah x maka konsentrasi adalah antilog x yang merupakan nilai LC₅₀.

3. Hasil dan Pembahasan

Isolasi Enzim L-*asparaginase* dari Kunyit

Isolasi enzim L-*asparaginase* ini melalui dua tahap, yaitu ekstraksi dan sentrifugasi. L-*asparaginase* ini diisolasi dari kunyit dengan cara pemblenderan. Sebelum diblender, dilakukan penambahan buffer tris-hidroksimetil aminometan 0,2 M pH = 8,6 untuk menjaga pH larutan enzim sehingga pada saat keluar dari jaringan, enzim tidak mengalami kerusakan. Tujuan ekstraksi adalah untuk memisahkan L-*asparaginase* dari sel. Hasil pemblenderan berupa campuran, yang terdiri dari bermacam-macam komponen, yaitu protein dan non-protein dari kunyit. Setelah pemblenderan, dilanjutkan pendiaman campuran pada suhu 5°C, pada suhu ini enzim akan menjadi tidak aktif, sehingga dalam proses selanjutnya enzim tidak mengalami kerusakan.

Tahap berikutnya adalah penyaringan, dilakukan untuk memisahkan residu dan filtrat, dimana komponen sel akan berada sebagai endapan, sedangkan molekul protein dan non-protein terdapat pada filtrat. Filtrat hasil pemblenderan disentrifuse untuk memisahkan komponen protein (enzim) dari komponen non-protein. Sentrifugasi bekerja dengan prinsip pengendapan berdasarkan gaya sentrifugal, pada kecepatan sentrifugasi sama, molekul dengan berat yang lebih besar akan mengendap terlebih dahulu. Pemisahan ini diperoleh endapan yang berisi sisa-sisa komponen sel dan filtrat yang berisi protein enzim dan protein non-enzim.

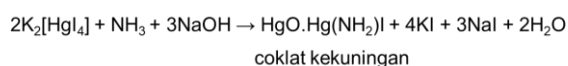
Enzim kasar merupakan campuran protein enzim dan protein non-enzim. Salah satu pemurnian enzim dengan cara fraksinasi bertingkat untuk memperoleh protein enzim. Fraksinasi yang dilakukan untuk memurnikan enzim menggunakan tingkat kejenuhan garam amonium sulfat yang berbeda sehingga diperoleh endapan protein enzim yang berbeda, yaitu F1, F2, F3, F4, dan F5. Proses fraksinasi terjadi penurunan kelarutan protein akibat naiknya konsentrasi garam amonium sulfat, peristiwa ini disebut *salting out*. Fraksinasi diikuti dengan sentrifugasi untuk memisahkan endapan dan filtrat.

Protein enzim hasil fraksinasi bertingkat masih mengandung amonium sulfat, maka dilakukan pemurnian lebih lanjut untuk memisahkan amonium sulfat dari protein enzim tersebut. Proses pemisahan tersebut dengan cara dialisis menggunakan membran selofan. Dialisis bertujuan untuk memisahkan partikel-partikel kecil dari partikel-partikel besar dengan menggunakan membran berdasarkan pada prinsip difusi. Pengujian dengan larutan BaCl₂ untuk mengetahui

kandungan amonium sulfat pada fraksi tersebut, jika dengan penambahan BaCl₂ pada larutan buffer di luar membran tidak menimbulkan endapan putih berarti enzim telah terbebas dari amonium sulfat dan diperoleh L-*asparaginase* lebih murni. Enzim yang akan diujikan terhadap sel kanker dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer* untuk mengeringkan enzim dan menjaga enzim agar tidak rusak.

Penentuan Unit Aktivitas, Kadar Protein, dan Aktivitas Spesifik Enzim L-*asparaginase*

Enzim L-*asparaginase* ditentukan aktivitasnya dengan mereaksikan enzim tersebut menggunakan substrat yang sesuai. Substrat yang digunakan pada reaksi enzimatis ini adalah L-asparagin. Pada reaksi enzimatis, L-asparagin akan terurai menjadi asam aspartat dan amonia. Aktivitas L-*asparaginase* diukur dari produk yang dihasilkan, yaitu amonia. Sesuai dengan definisi Paul [8] maka aktivitas spesifik menunjukkan banyaknya L-aspartat dan amonia yang terbentuk berbanding terhadap kadar protein. Uji aktivitas L-*asparaginase* menggunakan pereaksi Nessler yang menghasilkan senyawa kompleks berwarna coklat kekuningan pada tiap fraksinya, sesuai persamaan berikut



Warna tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (420 nm), dan nilai absorbansi yang terukur kemudian diplotkan terhadap kurva standar amonium sulfat untuk mengetahui besarnya unit aktivitas yang terdapat pada ekstrak kasar dan tiap fraksi.

Aktivitas spesifik L-*asparaginase* dapat dihitung dari unit aktivitas enzim per mg protein. Kadar protein dapat ditentukan dengan metode Lowry berdasarkan kurva standar BSA. Warna biru yang dihasilkan kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum BSA (750 nm). Absorbansi yang diperoleh kemudian diplotkan terhadap kurva standar BSA, sehingga didapatkan kadar protein pada ekstrak kasar dan tiap fraksi. Tingkat kemurnian L-*asparaginase* tiap fraksi dihitung dengan membandingkan aktivitas spesifik fraksi enzim tersebut dengan aktivitas spesifik ekstrak kasar. Hasil penentuan aktivitas spesifik L-*asparaginase* pada EK, F1, F2, F3, F4, dan F5 disajikan pada tabel 1.

Tabel di atas menunjukkan nilai aktivitas spesifik enzim L-*asparaginase* setiap fraksi berbeda-beda, hal ini disebabkan oleh dua faktor, yaitu unit aktivitas dan kadar protein. Suatu fraksi dengan nilai unit aktivitas besar belum tentu memiliki aktivitas spesifik besar, tergantung pada kadar proteinnya. Enzim merupakan protein, sehingga dengan mengetahui kadar protein keseluruhan maka dapat diketahui besarnya protein yang berfungsi sebagai enzim melalui kemampuannya dalam mengubah substrat menjadi produk yang diinginkan, jadi aktivitas spesifik ditentukan oleh perbandingan unit aktivitas

terhadap kadar protein. Nilai aktivitas spesifik tertinggi terdapat pada F4 dengan tingkat kemurnian yang tertinggi pula dibanding ekstrak kasar dan di antara fraksi-fraksi lainnya, oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa L-*asparaginase* sebagian besar terdapat pada F4.

Tabel 1. Hasil Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim L-*asparaginase* dari Kunyit

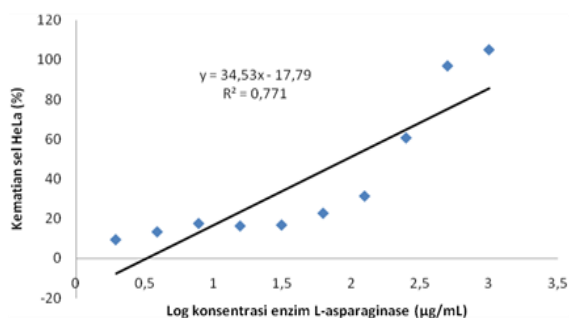
Fraksi	Unit Aktivitas (Unit/mL)	Kadar Protein (mg/mL)	Aktivitas Spesifik (Unit/mg protein)	Tingkat Kemurnian
EK	3437,428	13,717	250,596	1,000
F ₁	4692,979	99,433	47,197	0,188
F ₂	1985,077	25,550	77,694	0,310
F ₃	2480,346	12,300	201,654	0,805
F ₄	2594,134	9,133	284,040	1,133
F ₅	1871,846	7,240	258,542	1,032

Uji Sitotoksik Enzim L-*asparaginase* Terhadap Sel HeLa

Fraksi yang telah diketahui nilai aktivitas tertinggi, selanjutnya di uji terhadap sel HeLa dengan menggunakan metode MTT yang mana pembacaan dilakukan dengan ELISA Reader. Sel HeLa ditumbuhkan pada medium RPMI 1640 dan serum untuk memberikan nutrisi yang cukup pada sel agar tetap bertahan hidup dan memperbanyak diri (Freshney, 1986). Sampel enzim L-*asparaginase* fraksi 4 dari kunyit yang telah dibuat pada berbagai konsentrasi selanjutnya diujikan terhadap sel HeLa pada sumuran/*plate*. *Plate* diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24 jam dengan pengaturan suhu 37°C, 95% CO₂ dan 5% O₂ untuk mengetahui aktivitasnya, pengkondisian ini dilakukan sesuai dengan kondisi pada tubuh manusia.

Uji aktivitas antikanker ini dilakukan dengan metode MTT untuk menentukan viabilitas sel sehingga bisa digunakan untuk mengetahui efek sitotoksiknya. Prinsipnya adalah dengan adanya pemecahan garam tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoliumbromida) oleh sistem enzim tetrazolium suksinat reduktase (atau suksinat dehidrogenase) yang terdapat di dalam mitokondria sel hidup sehingga terbentuklah kristal formazan berwarna ungu (Freshney, 1986). Semakin tinggi intensitas warna ungu yang terbentuk maka sel yang hidup semakin banyak, 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.

Data hasil uji sitotoksitas enzim L-*asparaginase* terhadap sel HeLa diplotkan dalam kurva regresi linear yaitu log konsentrasi enzim L-*asparaginase* sebagai sumbu x versus kematian sel HeLa sebagai sumbu y dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 1: Grafik persentase kematian sel HeLa oleh adanya enzim L-*asparaginase* dari kunyit

Besarnya penghambatan oleh L-*asparaginase* pada sel HeLa ditunjukkan oleh besarnya nilai LC_{50} , adalah konsentrasi enzim L-*asparaginase* yang dapat menyebabkan kematian 50% populasi sel HeLa. Grafik di atas diperoleh suatu persamaan regresi linier yaitu $y = 34,53x - 17,79$, dari persamaan tersebut selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai LC_{50} dengan cara mensubstitusi nilai 50 (50% kematian sel) pada koefisien y sehingga didapatkan nilai x yang merupakan log konsentrasi, sedangkan antilog dari x adalah konsentrasi yang merupakan nilai LC_{50} . Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh nilai LC_{50} sebesar 91,833 µg/mL yang menunjukkan bahwa isolat enzim L-*asparaginase* pada konsentrasi tersebut mampu mematikan sel HeLa sebesar 50% dari populasi awal.

Berdasarkan standar NCI (National Cancer Institute), suatu senyawa dikatakan berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai antikanker apabila memiliki nilai $LC_{50} \leq 20$ µg/mL. Nilai LC_{50} enzim L-*asparaginase* fraksi 4 dari kunyit sebesar 91,833 µg/mL, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa isolat enzim L-*asparaginase* fraksi 4 dari kunyit mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa tetapi kurang berpotensi sebagai agen antikanker.

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Enzim L-*asparaginase* dapat diisolasi dan dimurnikan dari kunyit. Enzim L-*asparaginase* dari kunyit memiliki aktivitas spesifik tertinggi pada kondisi optimum terdapat pada fraksi 4 yaitu sebesar 284,040 unit/mg protein. Nilai LC_{50} isolat enzim L-*asparaginase* fraksi 4 dari kunyit sebesar 91,833 µg/mL mampu menghambat pertumbuhan sel HeLa tetapi kurang berpotensi sebagai agen antikanker berdasarkan standar NCI (National Cancer Institute).

5. Daftar Pustaka

- [1] Satmoko Budi Santoso, Buku pintar kanker, Yogyakarta: power books (Ihdina), (2009)
- [2] Idania Rodeiro, Yack Magarino, Omar Ocejó, Gabino Garrido, Rene Delgado, Use of natural products in anti-cancer alternative therapy: risk of interactions with conventional anti-cancer drugs, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 7, 6, (2008)

- [3] FR Carvalho, RC Vassão, MA Nicoletti, DA Maria, Effect of Curcuma zedoaria crude extract against tumor progression and immunomodulation, *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16, 2, (2010) 324-341 <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-91992010000200013>
- [4] Maksum Radji, Atiek Sumiati, Nuning Indani, Uji Mutagenisitas dan Anti Kanker Ekstrak Aseton dan n-Heksana dari Kulit Batang Sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq.), *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 1, 2, (2004) 69-78
- [5] Reema F. Tayyem, Dennis D. Heath, Wael K. Al-Delaimy, Cheryl L. Rock, Curcumin content of turmeric and curry powders, *Nutrition and cancer*, 55, 2, (2006) 126-131 http://dx.doi.org/10.1207/s15327914nc5502_2
- [6] Anastassios C Papageorgiou, Galina A Posypanova, Charlotta S Andersson, Nikolay N Sokolov, Jyula Krasotkina, Structural and functional insights into Erwinia carotovora l-asparaginase, *The FEBS journal*, 275, 17, (2008) 4306-4316 <http://dx.doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06574.x>
- [7] Maloy Kumar Sahu, K Sivakumar, E Poorani, T Thangaradjou, L Kannan, Studies on L-asparaginase enzyme of actinomycetes isolated from estuarine fishes, *Journal of Environmental Biology*, 28, 2, (2007) 465
- [8] JH Paul, Isolation and characterization of a Chlamydomonas L-asparaginase, *Biochemical Journal*, 203, 1, (1982) 109-115 <http://dx.doi.org/10.1042/bj2030109>