

***Review* : Perbandingan metode purifikasi Enzim L-
asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan
untuk terapi leukemia**

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

**Nurlaella Solihah
11171104**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

***Review : Perbandingan metode purifikasi Enzim L-asparainase
dari Escherichia coli Rekombinan
untuk terapi leukemia***

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Nurlaella Solihah
11171104**

Bandung, 18 Juni 2021

Menyetujui,

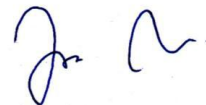
Pembimbing Utama,



(Soni Muhsinin M.Si)

NIDN. 0402068407

Pembimbing Serta,



(Ira Adiyati Rum M.Si)

NIDN. 0403048105

ABSTRAK

***Review* : Perbandingan metode purifikasi Enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk terapi leukemia**

Oleh :

Nurlaella Solihah

11171104

L-asparaginase merupakan enzim yang digunakan untuk terapi penyakit kanker karena mampu menghidrolisis L-asparaginase menjadi asam aspartat dan amonia, sehingga mengakibatkan sel kanker mati karena tidak adanya nutrisi. L-asparaginase di alam banyak ditemukan pada alga, tanaman dan mikroba. dari *Escherichia coli* dijadikan lini pertama dalam pengobatan leukemia. Produksi protein rekombinan pada *Escherichia coli* memiliki beberapa keuntungan antara lain efektivitas dan biaya yang rendah serta transformasi dan fermentasi yang mudah. Penulisan *review* artikel ilmiah ini bertujuan untuk membandingkan Metode Purifikasi Enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk Terapi Leukemia. Purifikasi L-asparaginase dari *Escherichia coli* menunjukkan aktivitas enzim spesifik yang paling besar adalah 312.8 U/mg dengan metode kromatografi ion DEAE Sepharose.

Kata Kunci : L-asparaginase, *Escherichia coli*, Purifikasi

ABSTRACT

Review : Comparison of L-asparaginase Enzyme Purification Methods from Recombinant Escherichia coli for Leukemia Therapy

By :

Nurlaella Solihah

11171104

L-asparaginase is an enzyme used for cancer therapy because it can hydrolyze L-asparaginase into aspartic acid and ammonia, which can cause cancer cells to die due to loss of nutrients. L-asparaginase in nature is found in algae, plants, and microbes. Escherichia coli is used as the first line in the treatment of leukemia. The production of recombinant protein in Escherichia coli has several advantages, including effectiveness and low cost as well as easy transformation and fermentation. The purpose of this scientific article review is to compare the L-asparaginase Enzyme Purification Method from Recombinant Escherichia coli for Leukemia Therapy. Purification of L-asparaginase from Escherichia coli showed the highest specific enzyme activity was 312.8 U/mg by DEAE Sepharose ion chromatography method.

Keywords: L-asparaginase, Escherichia coli, purification

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur marilah kita panjatkan kehadirat Allah SWT. Karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir berjudul "**Review perbandingan metode purifikasi enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk terapi leukemia**". Solawat dan salam semoga tercurah limpahkan kepada Nabi kita yakni Muhammad SAW, kepada para sahabat, dan kepada kita selaku umatnya. Laporan tugas akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan kelulusan Program Studi Strata 1 Farmasi Universitas Bhakti Kencana.

Saya menyadari bahwa selama penyusunan, pengerjaan, dan penyelesaian yang tidak dapat dilakukan seorang diri melainkan ada banyak pihak yang membantu dan mendukung secara materi, tenaga, dan moral.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang tidak terhingga atas segala bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dalam penyusunan proposal tugas akhir ini, kepada yang terhormat :

1. Bapak Soni Muhsinin, M.Si dan Ibu Ira Adiya Rum M.Si selaku pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan memberikan arahan dan saran-saran sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini.
2. Ibu Rahma Ziska M.Si selaku dosen pembimbing utama selama sidang proposal
3. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan dan seluruh staf di Universitas Bhakti Kencana Bandung yang telah memberikan bantuan selama perkuliahan.
4. Kedua orangtua yang selalu mendukung saya

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	Error! Bookmark not defined.
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Enzim.....	4
2.2 L-Asparaginase	4
2.3 Rumus Kimia L-asparaginase	5
2.4 Mikroba penghasil L-asparaginase	6
2.5 Produksi Enzim dengan teknologi rekombinan	6
2.6 isolasi enzim L-asparaginase	7
2.7 Metode Purifikasi enzim.....	7
2.8 karakterisasi enzim	8
2.9 Aplikasi L-asparaginase.....	8
2.10 Leukemia	10
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	11
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	12
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	20
V1.1 Kesimpulan	20
V1.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Hasil Penelitian mengenai metode purifikasi enzim L-asparaginase dari <i>Escherichia coli</i> untuk terapi leukemia	20
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Letter of Submission (LoS)	26
Lampiran 2. Letter of accepted (LoA)	27
Lampiran 3. Format surat pernyataan bebas plagiasi.....	28
Lampiran 4. Format persetujuan untuk dipublikasi di media online	29
Lampiran 5. Hasil cek plagiarisme dari Lppm.....	30
Lampiran 6. Bukti Screenshoot TTD Dosen Pembimbing.....	31

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
WHO	World Health Organization
FDA	Food and Drug Administration
pH	Power of Hydrogen
ALL	Leukemia Limfoblastik Akut
NHL	Limpoma Non-Hodgin
DNA	Deoxyribonucleic Acid
Rpm	Revolutions per minute
SDS-PAGE	Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
HTLV-1	Human T-cell lymphotropic virus tipe 1

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Kanker adalah keganasan yang diakibatkan oleh pertumbuhan sel yang tidak terkendali dan dapat terjadi penyebaran secara abnormal ke organ lain (WHO, 2018; Fauci *et al.*, 2011). Salah satu jenis kanker yang banyak terjadi didunia adalah kanker darah (leukemia) yang ditandai dengan proliferasi sel-sel darah putih dengan manifestasi adanya sel-sel abnormal dalam darah tepi (sel *blast*) secara berlebih sehingga mengakibatkan terdesaknya sel darah yang normal mengakibatkan fungsinya terganggu (Kemenkes RI, 2011). Leukemia dapat terjadi pada semua usia dengan prevalensi tertinggi pada anak (McGuire, 2016). Prevalensi leukemia di dunia sebesar 2,4% kasus baru dan 3,2% kasus kematian yang terjadi pada tahun 2018 (Bray *et al.*, 2018). Sedangkan pada tahun 2019 terdapat 27.380 kasus baru leukemia akut (DiPiro *et al.*, 2020). Di Indonesia, kasus baru dan kematian akibat leukemia cenderung meningkat setiap tahun. Pada tahun 2010 terdapat 19 kasus baru dan 31 kasus kematian, dan tahun 2011 tidak terjadi peningkatan (Risikesdas,2013).

Penatalaksanaan leukemia dapat dilakukan melalui kemoterapi dan penanganan suportif meliputi transfusi darah, pemberian komponen untuk meningkatkan kadar leukosit, pemberian nutrisi yang baik dan memadai, pemberian antibiotik, antijamur, dan antivirus bila diperlukan, perawatan di ruang bersih, dan pendekatan psikososial (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011). Kemoterapi digunakan untuk menjaga penyebaran sel kanker serta dapat memperlambat dan membunuh sel kanker yang menyebar ke organ tubuh lainnya (American Cancer Society, 2017). Kemoterapi menimbulkan efek samping terhadap fisik dan psikologis (Li *et al.*, 2013). Beberapa obat antikanker yang dapat digunakan sebagai kemoterapi meliputi golongan alkilator, antimetabolit, antibiotik, hormon, inhibitor protein microtubulus, inhibitor topoisomerase dan golongan target molekular (Y. M. Hidayat, 2013). Selain menggunakan kemoterapi berbasis obat kimia alternatif lain yang dapat digunakan adalah menggunakan terapi enzim. Dalam bidang medis enzim L-asparaginase telah digunakan untuk terapi leukemia (Alamsyah, 2017).

L-asparaginase merupakan enzim yang digunakan untuk terapi penyakit kanker karena mampu menghidrolisis L-asparaginase menjadi asam aspartat dan amonia, sehingga dapat menyebabkan sel kanker mati karena kehilangan nutrisi (Alamsyah, 2017). Sel leukemia memerlukan L-asparaginase untuk pertumbuhannya, oleh karena itu kemoterapi dengan menggunakan L-asparaginase dapat menyebabkan sel malignan gagal menyelesaikan sintesis proteinnya. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi L-asparagin dalam darah berkurang (Sunitha *et al.*, 2010), sehingga mengakibatkan kehancuran sel pada sel malignan (Youssef & Al-Omair, 2008).

L-asparaginase di alam banyak ditemukan pada alga, tanaman dan mikroba (El-Bessoumy *et al.*, 2004). Mikroba merupakan salah satu sumber yang lebih baik untuk produksi L-asparaginase karena mudah dikultur, sehingga memungkinkan produksi dalam skala besar (Asthana & Azrni, 2003). Beberapa bakteri penghasil L-asparaginase adalah *Escherichia coli* (Trang *et al.*, 2016), *Erwina chrysanthemii* (Effer *et al.*, 2019), *Enterobacter aerogenes* (Mukherjee *et al.*, 2000), *Pseudomonas aeruginosa* (El-Bessoumy *et al.*, 2004), *Bacillus licheniformis* (Alrumman *et al.*, 2019), *Thermus thermophilus* (Pritsa & Kyriakidis, 2001), *Staphylococcus aureus* (Muley *et al.*, 1998), selain bakteri terdapat fungi penghasil L-asparaginase adalah *Aspergillus terreus* (Frag *et al.*, 2015), *Penicillium brevicompactum* (Elshafei. *et.al*, 2014), *Mucor hiemalis* (Thakur *et al.*, 2014). Dari berbagai sumber yang dieksplorasi L-asparaginase dari *Escherichia coli* disetujui sebagai salah satu obat untuk leukemia oleh FDA pada tahun 1978 (Nagarethinam *et al.*, 2012), dan dijadikan lini pertama dalam pengobatan leukemia (DiPiro *et al.*, 2020). Produksi protein rekombinan pada *Escherichia coli* memiliki beberapa keuntungan antara lain efektivitas dan biaya yang rendah serta transformasi dan fermentasi yang mudah. Pada *review* artikel ini akan dibahas tentang perbandingan metode purifikasi enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk Terapi Leukemia. Purifikasi enzim penting dilakukan karena untuk menghilangkan beberapa senyawa kontaminan yang dapat mempengaruhi kerja enzim, misalnya menghambat aktivitas enzim (inhibitor) atau memiliki kemampuan yang mirip dengan enzim target namun menghasilkan produk yang berbeda atau tidak diinginkan (Nasution *et al.*, 2018).

1.2 . Tujuan dan manfaat penelitian

Penulisan *review* artikel ilmiah ini bertujuan untuk membandingkan Metode Purifikasi Enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk Terapi Leukemia. *Review* artikel ilmiah ini diharapkan dapat memberikan manfaat yang bisa diterapkan dibidang medis.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Enzim

Enzim merupakan katalisator untuk reaksi kimia didalam sistem biologi (W.Aehle, 2004). Menurut *International Union of Biochemistry (IUB)* berdasarkan sifat reaksinya, enzim diklasifikasikan menjadi enam kelas yaitu : oksidoreduktase, transferase, hydrolase, lyase, isomerase dan ligase. Penggunaan enzim di industri sudah banyak digunakan karena toksisitas yang rendah dan kemurnian produk yang digunakan serta tidak berdampak buruk terhadap lingkungan (Gupta & Ayyachamy, 2012). Enzim dapat mengubah molekul substrat menjadi produk yang molekulnya berbeda dari substrat. Sebagai katalisator, enzim memiliki ciri yang khas yaitu (1) tidak dapat diubah oleh reaksi yang dikatalisnya,(2) meskipun enzim dapat mempercepat reaksi, namun enzim tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia. Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim, diantaranya konsentrasi substrat, pH, suhu dan inhibitor. Hal tersebut dapat berpengaruh terhadap stabilitas enzim. Stabilitas enzim merupakan sifat penting yang harus dimiliki enzim dalam aplikasinya sebagai biokatalis. Stabilitas enzim dapat diartikan sebagai keseimbangan aktivitas enzim selama penyimpanan, penggunaan dan kestabilan terhadap senyawa tertentu serta merupakan salah satu pengaruh dari temperatur dan pH ekstrim (Susanti & Febriana, 2017).

2.2 L-Asparaginase

L-asparaginase (L-asparagin aminohidrolase, E.C.3.5.1.1) merupakan enzim yang menghidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia dengan memutuskan ikatan amida. L-asparaginase umumnya dijumpai pada jaringan hewan, bakteri, tanaman tapi tidak dijumpai pada manusia (Youssef & Al-Omair, 2008).

Klasifikasi L-asaraginase (Zhang *et al.*, 2015)

a) L-asparaginase tipe 1

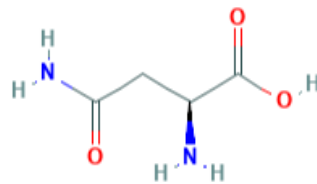
L-asparaginase tipe 1 mempunyai afinitas yang rendah terhadap substrat L-asparagin ($K_m = 10^{-3}$) yang ditemukan disitoplasma, serta bersifat konstitutif.

b) L-asparaginase tipe II

L-asparaginase tipe II memiliki konformasi tetramer dengan empat sisi aktif dimana setiap sisi aktif dibentuk oleh asam amino dari satu monomer serta memiliki afinitas yang tinggi terhadap substrat L-asparagin ($K_m = 10^{-5}$). L-asparaginase tipe II digunakan untuk tujuan terapeutik karena memiliki aktivitas spesifik terhadap asparagin. L-asparaginase telah digunakan secara ekstensif untuk kemoterapi anti-leukemia pada penyakit leukemia limfoblastik akut (ALL). Selain memiliki aktivitas farmakologi terhadap leukemia limfoblastik akut (ALL), L-asparaginase memiliki aktivitas farmakologi untuk terapi limfoma non-hodgkin (NHL) dan diminati dalam industri makanan karena dapat mencegah pembentukan akrilamida (Izadpanah *et al.*, 2018).

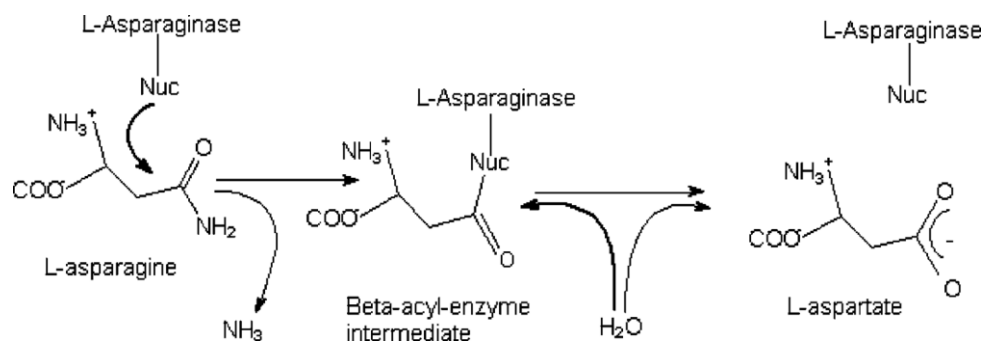
2.3 Rumus Kimia L-asparaginase

L-asparaginase memiliki Rumus kimia $C_4H_8N_2O_3$ dengan struktur dibawah ini



Gambar 2.1. Struktur L-asparaginase

Pada struktur L-asparaginase (**Gambar 2.1**) terdapat gugus amida dan asam karboksilat yang merupakan komponen senyawa penyusun L-asparaginase. L-asparaginase dapat menghidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia dengan memutuskan ikatan amida (**Gambar 2.2**) (Youssef & Al-Omair, 2008).



Gambar 2.2. reaksi hidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia oleh L-asparaginase (Youssef & Al-Omair, 2008).

2.4 Mikroba penghasil L-asparaginase

Mikroba merupakan salah satu sumber yang lebih baik untuk produksi L-asparaginase karena mudah dikultur, sehingga memungkinkan produksi dalam skala besar (Asthana & Azni, 2003). Terdapat beberapa bakteri penghasil L-asparaginase. **Tabel 1.** Strain bakteri yang menghasilkan enzim L-asparaginase

Strain	Aktivitas enzim spesifik (U/mg)	Referensi
<i>Baillus megaterium</i> (H-1)	45	(Zhang <i>et al.</i> , 2015)
<i>Bacillus liheniformis</i>	0.22	(Mahajan <i>et al.</i> , 2014)
<i>Esherihia coli</i>	312.8	(Trang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	102.37	(Husain <i>et al.</i> , 2017)
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0.1	(Sindhu&Manonmani, 2018)
<i>Streptomyces fradiae</i> NEAE-82	30.636	(El-Naggar <i>et al.</i> , 2016)
<i>Erwina carotovora</i>	67.3	(Krasotkina <i>et al.</i> , 2004)
<i>Streptomyes rochei</i>	16.18	(El-Naggar & El-Shweihy, 2020)
<i>Bacillus halotolerans</i> OHEM18	215.33	(El-Fakharany <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pectobacterium carotovorum</i> MTCC 1428	192.12	(Kumar <i>et al.</i> , 2011)

2.5 Produksi Enzim dengan teknologi rekombinan

Teknologi rekombinan merupakan proses yang terlibat dalam pembentukan protein rekombinan. Teknologi tersebut dilakukan dengan melakukan isolasi urutan gen target dan kemudian memindahkannya ke vektor kloning yang memiliki kemampuan untuk memproduksi diri. Gen target kemudian di sub-kloning kedalam plasmid vektor ekspresi sehingga dapat diekspresikan. DNA rekombinan dapat di ekspresikan menjadi

RNA, yang selanjutnya di tranlasi sehingga dapat menghasilkan protein rekombinan. Pada beberapa metode yang tersedia untuk protein rekombinan, penggunaan bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang paling banyak digunakan karena memiliki kemampuan pertumbuhan secara cepat dalam substrat yang sederhana, ekonomis, dan dapat memproduksi protein rekombinan dalam skala besar (Kante *et al.*, 2018). L-asparaginase dapat ditingkatkan produksinya dengan menggunakan metode DNA rekombinan. Metode DNA rekombinan dapat menghasilkan sumber yang akan dikloning agar menghasilkan enzim tersebut. Teknologi DNA rekombinan menjadi salah satu tehnik dalam memaksimalkan produksi L-asparaginase (Trang *et al.*, 2016).

2.6 isolasi enzim L-asparaginase

Isolasi enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* dilakukan dengan metode ekstraksi, dengan cara, sampel diambil dan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit dalam sentrifus dingin, kemudian supernatan dikumpulkan dan digunakan sebagai ekstrak kasar untuk pengujian enzim ekstraselluer sedangkan enzim intraseluler diesktraksi dengan cara menghancurkan sel dibagian bawah dengan 1 mL NaOH dan 3 mL aquades menggunakan mortar keramik. Kemudian hasil yang diperoleh disentrifugasi pada 3000 rpm selama 30 menit pada suhu 4⁰ C (Al-Rawi, 2017).

2.7 Metode Purifikasi enzim

Purifikasi enzim merupakan upaya yang dilakukan untuk mendapatkan enzim dengan aktivitas spesifik yang lebih baik daripada *crude* ekstrak. Purifikasi enzim dapat dilakukan dengan beberapa teknik, seperti :

- a). Presipitasi, pada presipitasi protein dapat dilakukan dengan metode *salting out* dengan cara menambahkan garam kedalam protein hingga diperoleh larutan jenuh pada larutan protein. Pada konsentrasi garam yang tinggi, kekuatan ion pada garam juga akna semakin tinggi sehingga garam akan mengikat molekul air. Amonium sulfat merupakan garam yang sering digunakan untuk proses pemurnian enzim (Suharno *et al.*, 2019).
- b). Dialisis, proses ini terjadi karena adanya perpindahan garam ammonium sulfat dengan larutan dapar, sehingga larutan dapar ini berfungsi untuk menggantikan ammonium sulfat yang keluar.
- c). Kromatografi penukar ion (ion exchange chromatography/ IEC) proses ini memisahkan protein berdasarkan muatan ion permukaannya, dengan

menggunakan resin yang dimodifikasi dengan gugus kimia bermuatan positif atau negatif (Nasution *et al.*, 2018)

2.8 karakterisasi enzim

Enzim L-asparaginase memiliki karakterisasi diantaranya meliputi penetapan bobot molekul, suhu optimum serta pH optimum yang berbeda tergantung dari mikroba yang menghasilkan enzim L-asparaginase (Upadhyay *et al.*, 2014). Pada L-asparaginase yang diperoleh dari *Escherichia coli* memiliki bobot molekul sebesar 34kDa-40 kDa yang diperoleh dengan menggunakan metode *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (SDS-PAGE) yaitu suatu metode elektroforesis untuk memisahkan protein sesuai dengan berat molekulnya. Teknik tersebut dilakukan dengan menggunakan gel poliakrilamida yang mengandung *Sodium Dodecyl Sulphate* (SDS) (Upadhyay *et al.*, 2014).

2.9 Aplikasi L-asparaginase

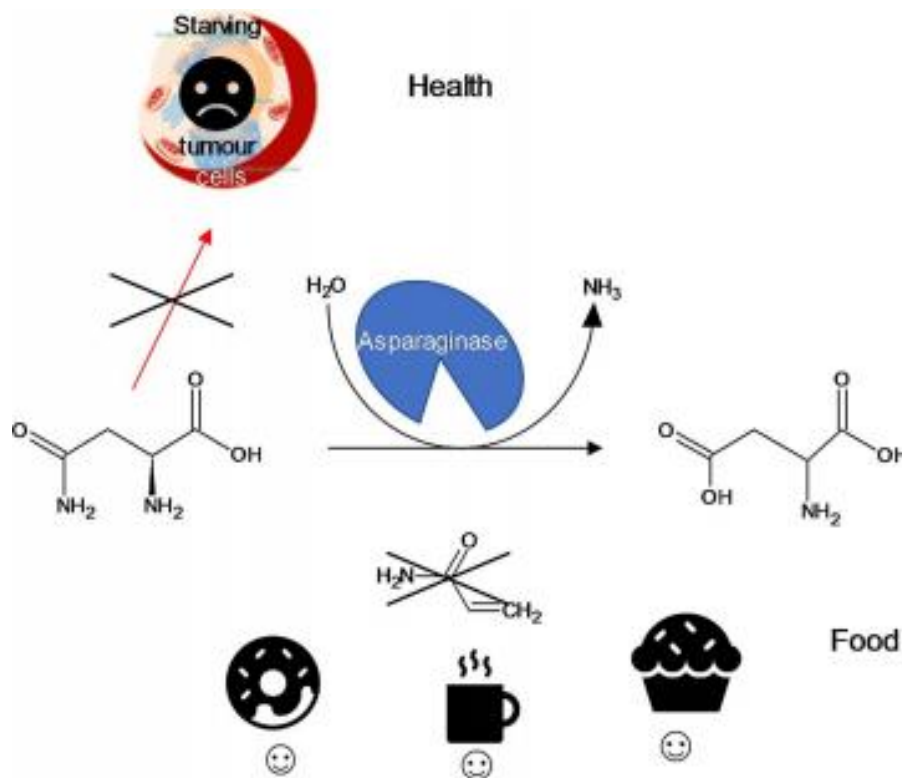
a). Terapi leukemia (kanker darah)

L-asparaginase merupakan enzim yang digunakan untuk terapi penyakit kanker karena mampu menghidrolisis L-asparaginase menjadi asam aspartat dan amonia, sehingga dapat menyebabkan sel kanker mati karena kehilangan nutrisi (Alamsyah, 2017). Sel leukemia memerlukan L-asparaginase untuk pertumbuhannya, oleh karena itu kemoterapi dengan menggunakan L-asparaginase dapat menyebabkan sel malignan gagal menyelesaikan sintesis proteinnya. Hal tersebut disebabkan karena konsentrasi L-asparagin dalam darah berkurang (Sunitha *et al.*, 2010), sehingga mengakibatkan kehancuran sel pada sel malignan (Youssef & Al-Omair, 2008). Mekanisme kerja L-asparaginase pada sel kanker yaitu dengan cara menghidrolisis L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia (Narta *et al.*, 2007) sehingga sel tumor mati akibat kekurangan suplai asam amino asparagine pada proses pertumbuhannya (DiPiro *et al.*, 2020)

b). Industri makanan

Enzim L-asparaginase diminati dalam industri makanan karena dapat mencegah pembentukan akrilamida, akrilamida telah ditemukan pada makanan yang dipanggang dan digoreng seperti roti, kue, kentang goreng dan bahkan terdapat

pada kopi. Penelitian kanker mengklasifikasikan akrilamida “kemungkinan bersifat karsinogenik pada manusia” dan senyawa ini juga telah dianggap menyebabkan neuropati perifer. Dengan demikian keberadaan akrilamida dalam makanan pokok menghadirkan ancaman bagi kesehatan manusia. Dengan demikian perlu proses desain yang didukung oleh teknologi yang memungkinkan dapat mengendalikan pembentukan akrilamida. Diantara berbagai strategi yang dikembangkan untuk mengurangi konsentrasi akrilamida dalam makanan yang dipanggang, dan digoreng. Penggunaan L-asparaginase merupakan salah satu enzim yang dapat mencegah pembentukan akrilamida dalam makanan yang tidak berdampak negatif terhadap olahan makanan (Izadpanah *et al.*, 2018). L-asparaginase menghidrolisis asparagin menjadi asam aspartat, sehingga mencegah pemberian asaragin ke sel tumor dan pembentukan akrilamida dalam makanan olahan panas **Gambar 2.3**



Gambar 2.3. L-asparaginase menghidrolisis asparagin menjadi asam aspartat, sehingga mencegah pemberian asaragin ke sel tumor dan pembentukan akrilamida dalam makanan olahan panas (Izadpanah *et al.*, 2018).

2.10 Leukemia

Leukemia adalah keganasan yang ditandai dengan proliferasi sel tidak terkendali yang terjadi di sumsum tulang. Sel leukemia dapat menghambat pematangan sel normal di sumsum tulang yang mengakibatkan anemia, granulositopenia, neutropenia dan trombositopenia. Selain itu leukemia dapat menyebar ke berbagai jaringan seperti kelenjar getah bening, kulit, hati, dan sistem saraf pusat (SSP). Leukemia disebabkan oleh faktor internal maupun eksternal. Faktor internal terdiri dari genetik dan sistem imun tubuh, sedangkan faktor eksternal terdiri dari zat karsinogenik, zat kimia dan virus HTLV-1 (*Human T-cell lymphotropic virus tipe 1*). Leukemia diklasifikasikan menjadi empat yaitu leukemia limfoblastik akut (ALL), leukemia myeloid akut (LMA), leukemia limfositik kronik (LLK), dan leukemia myeloid kronik (LMK). Leukemia dapat bersifat akut jika berkembang dari *stem cell* yang belum matang, sedangkan leukemia dapat bersifat kronik jika berkembang dari *stem cell* yang sudah matang (DiPiro *et al.*, 2020).

Sel leukemia membutuhkan L-asparagin dalam jumlah banyak untuk pertumbuhan sel malignan. Oleh karena itu, kemoterapi dengan menggunakan L-asparaginase dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia karena konsentrasi L-asparagin berkurang. Sel leukemia memiliki sifat defisiensi terhadap aktivitas L-asparagin sintetase, sehingga mencegah kemampuan sel leukemia untuk mensintesis L-asparagin. Oleh karena itu pertumbuhan sel leukemia sangat tergantung dari L-asparagin yang bersirkulasi di plasma darah (Ramachandran *etal.*, 2010).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

- A. Waktu Penelitian : Oktober 2020 – Juni 2021
- B. Subyek Penelitian: *Review* Perbandingan metode purifikasi enzim L-asparaginase dari *Escherichia coli* Rekombinan untuk Terapi Leukemia.
- C. Metode Pengumpulan Data :

- 1. Rancangan Strategi Pencarian Literatur Review

Review artikel ini dilakukan berdasarkan data yang diperoleh dari pustaka primer dan sekunder. Pustaka primer diperoleh dari jurnal ilmiah, baik nasional atau internasional. Pustaka sekunder diperoleh dari buku elektronik, buku teks. Literatur diperoleh dari artikel ilmiah yang ada di *google scholar*, *Science Direct* dan *Pubmed* menggunakan kata kunci “L-asparaginase” “*Escherichia coli*” dan penelitian yang diujikan seperti “metode purifikasi”

- 2. Kriteria Literatur Review

Berisi penjelasan tentang proses pemilihan literatur yang diambil, yaitu berdasarkan kriteria jurnal yang mampu menjawab pertanyaan yang berkaitan dengan tujuan penelitian. Kriteria artikel ilmiah yang disaring berdasarkan judul literatur, abstrak dan kata kunci. Artikel ilmiah yang diperoleh kemudian disaring kembali dengan melihat isi. Pada bagian ini dijelaskan tentang tahun yang digunakan dalam penyaringan daftar referensi dari jurnal atau artikel yang diambil yaitu maksimal 10 tahun terakhir.