

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Pengobatan kanker pada umumnya menggunakan kemoterapi yaitu menghentikan atau memperlambat pertumbuhan dan pembelahan sel kanker yang tumbuh dan berkembang dengan obat-obatan kimia, selain itu pengobatan seperti radioterapi, imunoterapi, dan terapi hormon juga sering dikombinasikan (Miller dkk., 2016). Pengobatan tradisional dengan mengkonsumsi tanaman herbal seperti *Asparagus africanus* memiliki senyawa bioaktif asam galat dan enzim glutaminase menjadi alternatif lain yang diyakini mampu berperan sebagai antikanker (Abebe, 2016). L-glutaminase adalah enzim yang dikenal memiliki peran dalam terapi kanker. Kemampuan enzim ini yaitu mengkatalisis reaksi hidrolisis L-glutamin menjadi asam glutamat dan juga amonia dengan memutuskan ikatan amida (Isono, 1973). L-glutamin yang merupakan asam amino non-esensial ini akan digunakan oleh sel normal maupun sel kanker salah satunya pada sintesis protein, nukleotida, sumber energi dalam pertumbuhannya (Lehninger, 1994). Sel kanker memiliki perbedaan dari sel normal, yaitu kemampuan duplikasi diri dalam waktu yang sangat singkat dan tidak terkontrol, sehingga kebutuhannya akan L-glutamin lebih banyak daripada sel normal yang lebih terkontrol proses pembelahannya khususnya pada sel kanker yang memiliki sifat *glutamine addiction* (Devlin, 1993). Sumber L-glutamin akan diambil dari luar sel untuk kelangsungan hidup dan pembelahan sel, karena berfungsi sebagai pendonor nitrogen, yang membantu dalam metabolisme protein, lipid, asam amino, dan metabolisme oksidatif (Kiruthika & Saraswathy,

2013). Penggunaan L-glutaminase akan membuat sel tumor kekurangan L-glutamin dan menyebabkan kematian selektif, khususnya pada sel tumor yang memiliki ketergantungan terhadap L-glutamin (Singh & Banik, 2013).

Enzim L-glutaminase banyak dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, sebuah penelitian yang dilakukan oleh Asd & He (1976) secara in vivo kepada enam pasien leukemia limfoblastik akut dan tiga leukemia myleoid akut dengan cara enzim murni dilarutkan dalam larutan infus steril dan diinjeksi intravena memberikan data penurunan sel kanker pada sumsum tulang belakang dan tanpa efek samping atau toksisitas. Studi in vitro sendiri juga sudah dilakukan oleh Orabi dkk (2020) yang mengisolasi dan menguji aktivitas antikanker enzim L-glutaminase dari mikroorganisme halofilik. Mikroorganisme halofilik lain yang diteliti oleh Gomaa (2022) memiliki efektifitas dan aktivitas antikanker.

Lingkungan dan sumber yang berbeda akan mempengaruhi aktivitas enzim. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Orabi dkk (2020) yaitu enzim L-glutaminase yang diisolasi dari bakteri halofilik *Bacillus subtilis* OHM11 memiliki aktivitas spesifik 1009.98 U/mg protein, dengan kondisi optimum yaitu pH 8,2 dan suhu 40°C. Penelitian oleh (Yulianti et al., 2012) mengisolasi enzim L-glutaminase dari bakteri halofilik *Pseudomonas aeruginosa* strain CG-T8 memiliki aktivitas spesifik 507.99 U/mg protein, dengan kondisi optimum yaitu pH 7 dan suhu 37°C. Gomaa (2022) mengisolasi dan menguji aktivitas spesifik enzim L-glutaminase dari bakteri halofilik *Bacillus* sp. DV2-37 sebesar 470.12 U/mg protein, dengan kondisi paling optimum suhu 37°C, pH 7 dan konsentrasi NaCl 5%.

Pada tambak garam Madura yang terletak di Jawa Timur, Indonesia, tim peneliti biokimia dari Universitas Diponegoro berhasil mengisolasi bakteri halofilik. Penelitian yang dilakukan Rohmah (2019) berhasil menumbuhkan dua isolat bakteri halofilik yang dinamai J1G dan K1G. (Redyaningsih, 2019) mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri J1G, menunjukkan bahwa bakteri ini dapat tumbuh dalam NaCl dengan konsentrasi 0-10%. Bakteri ini kemudian dikenal sebagai bakteri halofilik J1G-0%B.

Eksplorasi mikroorganisme halofilik pada kawasan tambak garam Madura masih terbatas pada hasil pigmen dan fungsi biologisnya, sedangkan eksplorasi kemampuan *Bacillus clausii* J1G-0%B untuk memproduksi enzim L-glutaminase belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk optimasi konsentrasi garam NaCl terhadap produksi enzim L-glutaminase oleh bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B. Variabel bebas yang digunakan konsentrasi NaCl, dengan harapan mendapatkan konsentrasi NaCl optimal pada produksi enzim tertinggi. Beberapa tahapan penelitian ini yakni screening kualitatif enzim menggunakan indikator *phenol red* dan pengadaptasian pada media cair, pembuatan kurva pertumbuhan dan aktivitas spesifik *crude* enzim dengan optimasi konsentrasi garam NaCl pada media pertumbuhan, produksi enzim L-glutaminase pada media produksi 5% NaCl dengan inkubasi 20 jam dan 10% NaCl selama 48 jam ber-induser glutamin, suhu 37°C. L-glutaminase diisolasi dan dimurnikan dengan fraksinasi amonium sulfat, dan dialisis. Karakterisasi enzim dilakukan dengan variasi suhu (30°C, 37°C, 40°C, 50°C, 60°C) , NaCl (0%, 5%, 10%, 15%, 17,5%, 20%), dan pH (5,6,7,8). Analisis aktivitas spesifik enzim L-glutaminase dilakukan dengan metode spektrofotometri

UV-Vis menggunakan substrat glutamin dan metode Nessler dengan kurva standar ammonia serta kadar protein diukur menggunakan metode Lowry. Penelitian ini diharapkan dapat memprediksi alternatif lain dalam pengobatan kanker.

I.2 Tujuan Penelitian

1. Menentukan konsentrasi NaCl dan waktu optimal untuk produksi enzim L-glutaminase dari bakteri halofilik *Bacillus clausii* J1G-0%B.
2. Menentukan fraksi optimal hasil pemurnian enzim L-glutaminase menggunakan ammonium sulfat.
3. Menentukan kondisi konsentrasi NaCl, pH, suhu optimum terhadap aktivitas spesifik enzim L-glutaminase.