

REVIEW ARTIKEL : PRODUKSI ENZIM ASPARAGINASE DENGAN TEKNOLOGI DNA REKOMBINAN

Sarah Syafira, Tina Rostinawati

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jl. Raya Bandung Sumedang km 21, Jatinangor 45363

Email korespondensi: sarah16011@unpad.ac.id

Diserahkan 27/06/2019, diterima 23/01/2020

ABSTRAK

Akrlamid adalah bahan kimia berwarna putih dan tidak berbau yang diklasifikasikan sebagai bahan berpotensi karsinogenik. Pembentukan akrilamid dalam makanan dapat ditekan dengan menggunakan enzim L-asparaginase yang berperan dalam proses hidrolisis asparagin menjadi asam L-aspartat dan amonia sehingga makanan yang melewati proses pemanggangan dan penggorengan (pemanasan) tidak akan berpotensi karsinogenik. Untuk memenuhi kebutuhan asparaginase dalam industri makanan, metode produksi dengan teknologi DNA rekombinan menjadi salah satu pilihan. Asparaginase dapat berasal dari hewan, tumbuhan, atau mikroorganisme yang kemudian dikloning dan diekspresikan umumnya pada vektor ekspresi, sel inang, dan media kultur yang berbeda dan akan menghasilkan asparaginase dengan aktivitas spesifik yang beragam.

Kata kunci: Asparaginase, DNA rekombinan, Akrlamid, Karsinogenik, Vektor, Pemanasan

ABSTRACT

Acrylamid is a white and odorless chemical that is classified as a potentially carcinogenic substance. The formation of acrylamide in food can be suppressed by using the enzyme L-asparaginase which plays a role in hydrolysis process of asparagine into L-aspartic acid and ammonia so the food that goes through the roasting process and frying (heating) will not be potentially carcinogenic. To complete the needs of asparaginase in the food industry, producing the asparaginase with recombinant DNA technology is one of the option. Asparaginase exists in animals, plants, or microorganism which are then cloned and expressed generally in different expression vectors, host cells, and culture medium that will produce asparaginase with various specific activity.

Keywords: asparaginase, recombinant DNA, acrylamide, carcinogenic, vector, heating.

Pendahuluan

Akrlamid adalah bahan kimia yang tidak termasuk ke dalam zat yang akan ditambahkan dalam makanan yang diklasifikasikan oleh Badan Internasional untuk Penelitian Kanker (IARC) sebagai bahan yang berpotensi karsinogenik terdapat manusia (grup 2A) yang dapat menyebabkan keracunan pada syaraf dan kerusakan pada sistem reproduksi manusia (IARC, 1994).

Efek toksik dari akrilamid dimediasi oleh pembentukan metabolit genotoksik, oksidatif stres, berpengaruh pada penyebaran sinyal saraf, ultrastruktural, dan cacat histologis pada sistem syaraf pusat. Dengan efek toksik yang dimilikinya, konsumsi rata-rata harian dari akrilamid umumnya hanya 0.3-2.0 µg/kg berat badan (Semla, et al., 2017).

Salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk mengurangi pembentukan akrilamid adalah dengan mengontrol gula pereduksi dan

Volume 17 Nomor 3

asparagin yang terdapat dalam kentang dan produk sereal dimana bahan makanan berbasis karbohidrat dan gandum memiliki potensi yang lebih tinggi dalam mengandung akrilamid. Varietas kentang dengan kandungan gula pereduksi rendah merupakan cara paling efektif dalam mengurangi akrilamid (David et al., 2012).

Selain itu, umbi kentang yang disimpan dalam temperatur 8°C dapat mengurangi terbentuknya akrilamid (Kumar, 2004). L-asparaginase adalah enzim yang berguna mengkatalis konversi asam amino l-asparagin menjadi asam L-aspartat dengan pelepasan amonia (Ali, et al., 2016).

Penelitian terkait dengan asparaginase telah berlangsung selama lebih dari setengah abad, dan menemukan titik terang ketika Clementi pada tahun 1922 menemukan adanya L-asparaginase di dalam darah kelinci percobaan yang kemudian pada tahun 1953 dilakukan percobaan oleh Kidd untuk mengetahui kemampuan serum kelinci percobaan dalam menghambat tumor (Kidd, 1953).

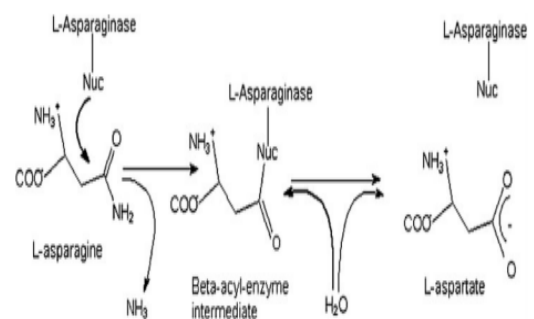
Enzim ini terdapat pada hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme serta dapat dikategorikan menjadi asparaginase I dan II, asparaginase II memiliki sifat yang lebih spesifik terhadap asparagin yang kemudian membuat asparaginase II digunakan untuk tujuan terapeutik (Sivagurunathan, 2012).

Asparaginase tipe II dengan aktivitas anti neoplastik yang mana merupakan hasil dari penipisan efek toksisitas dari sel yang mengalami leukimia, maka enzim ini telah digunakan secara luas sebagai kemoterapi dari *acute lymphoblastic leukemia* (ALL). Namun, penggunaan enzim ini juga dibatasi oleh respon antibodi dan efek samping yang dihasilkan (Pieters, 2011).

L-asparaginase biasanya digunakan sebelum proses memasak yang sebenarnya, seperti pada saat penggorengan kentang, pemanggangan biji kopi, membuat biskuit, dan roti. Untuk mengurangi asparagin kebanyakan bahan mentah dari makanan ini akan dipucatkan dengan larutan enzim. Dengan proses ini, dapat mengurangi akrilamid sampai dengan beberapa kali dibandingkan dengan tanpa perlakuan (Pedreschl, 2011).

L-asparaginase dapat ditingkatkan produksinya dengan menggunakan metode DNA rekombinan. Metode DNA rekombinan dapat menghasilkan sumber yang kemudian akan di kloning agar dapat menghasilkan enzim tersebut. Teknologi DNA rekombinan dapat menjadi salah satu teknik dalam memaksimalkan produksi L- asparaginase.

Selain efek terapeutik yang dimiliki, L-asparaginase juga biasa digunakan untuk menekan pembentukan akrilamid dengan mengonsumsi L-asparagin dalam industri makanan (Meghavarnam dan Janakiraman, 2018).

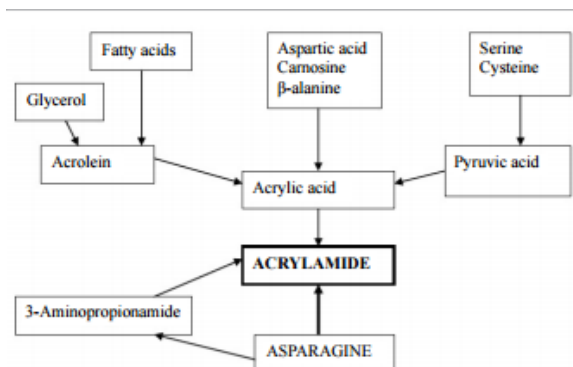
Pokok Bahasan

Gambar 1. Mekanisme Kerja L-asparaginase
(Krishnakumar and Visvanathan, 2014)

L-asparaginase merupakan enzim dengan mekanisme kerja (pada gambar 1)

Volume 17 Nomor 3

mengkatalis konversi asparagin menjadi asam aspartat dengan pelepasan amonia yang juga dikenal sebagai aminohidrolase dan berkaitan dengan amidase. Pemecahan asparagin yang dilakukan oleh asparaginase secara signifikan mengurangi konsentrasi dari akrilamid yang terkandung di dalam suatu bahan makanan. Hal ini turut menurunkan resiko terjadinya kanker maupun kerusakan syaraf yang disebabkan oleh akrilamid.



Gambar 2. Jalur Pembentukan Akrilamid
(Krishnakumar and Visvanathan, 2014)

Jalur utama pembentukan akrilamid dalam makanan adalah bagian dari reaksi Maillard dengan asam amino bebas (asparagin) dan gula pereduksi (terutama glukosa dan fruktosa). Reaksi Maillard merupakan reaksi kecoklatan non-enzimatik yang terjadi di makanan selama proses memanggang atau menggoreng. Hal ini dapat terjadi dalam kondisi dan kombinasi yang tepat antara karbohidrat, lipid, dan protein untuk warna, rasa, dan aroma yang sesuai. Pembentukan akrilamid sangat berkaitan erat dengan terkandungnya glukosa dan fruktosa, dimana asparagin pun membutuhkan karbohidrat dalam proses pembentukan akrilamid. Akrilamid dapat ditemukan dalam proses pemanasan dengan suhu diatas 120°C.

Asparaginase sebagai salah satu solusi dalam pengurangan akrilamid dalam makanan ini dapat ditemukan di tumbuhan, hewan, dan mikroorganisme. Dengan kebutuhan asparaginase yang dinilai semakin tinggi dalam industri makanan maupun sebagai salah satu pilihan terapi untuk *Acute Lymphoblastic Lymphoma* (ALL) maka kebutuhan ini dapat diatasi dengan teknologi DNA rekombinan. Teknologi DNA rekombinan membutuhkan vektor ekspresi dan sel inang (*host*) dalam prosesnya.

Sel *host* yang paling umum digunakan adalah *Escherichia coli* BL21 (DE3), Terdapat beberapa keunggulan dari *E.coli* sebagai salah satu bakteri yang banyak digunakan sebagai inang untuk ekspresi protein rekombinan yaitu, mudah dikultur, genom dapat dimanipulasi, dapat ditransformasi oleh DNA asing, serta dapat mereplikasi dalam waktu yang singkat sehingga dapat menghasilkan protein dalam jumlah besar (Brock, 1994).

Defisiensi protease karena adanya mutasi pada *gen ompT* dan *lon* dapat mengurangi terjadinya degradasi protein rekombinan yang akan dieskpresikan pada sel inang sehingga protein rekombinan dapat dihasilkan dalam jumlah banyak (Nick, 2007). Vektor ekspresi yang digunakan dapat dibagi sebagai vektor untuk eukariotik dan prokariotik, vektor ini berfungsi dalam membantu memasukkan materi genetik yang kita inginkan ke dalam sel sehingga hasil akhir adalah sifat yang kita inginkan.

L-asparaginase merupakan salah satu enzim yang menunjukkan aktivitas antitumor, namun L-asparaginase yang bersumber dari bakteri dapat menyebabkan hipersensitivitas jika digunakan dalam jangka panjang yang menuju

Volume 17 Nomor 3

kepada reaksi alergi dan anafilaksis. Glutaminase yang juga dihasilkan dalam proses ini dapat menyebabkan disfungsi hati, pankreatitis, leukopenia, kejang syaraf, ketidaknormalan penggumpalan yang menuju kepada thrombosis intrakranial atau pendarahan.

Sumber lain asparaginase dengan kadar glutaminase yang lebih rendah kemudian dibutuhkan karena akan mengakibatkan efek samping yang rendah dari enzim tersebut. Tumbuhan dan mikroorganisme yang ditemukan dalam penelusuran studi literatur beberapa jurnal menunjukkan kadar glutaminase yang cukup rendah sehingga kemudian dilanjutkan dan diperbanyak dengan menggunakan teknologi DNA rekombinan.

Bacillus megaterium H-1 (BmAase) dalam aplikasinya pada pengolahan makanan menunjukkan hasil yang positif dengan mengurangi kandungan akrilamid dalam potongan kentang sampai sebesar 7.6% dengan hasil akhir samai dengan 92.4%. Hal ini menunjukkan bahwa enzim tersebut dapat digunakan untuk mengurangi pembentukan akrilamid dalam keripik kentang goreng dengan menghidrolisis L-asparaginase bebas menjadi asam L-aspartat dan amonia. Pada *Bacillus subtilis B11-0*, enzim rekombinan yang dihasilkan memiliki stabilitas tinggi terhadap panas sehingga dapat digunakan dalam industri makanan. Diketahui pula bahwa pengaplikasian dari enzim ini dalam proses pembuatan kentang dapat mengurangi pembentukan akrilamid dalam proses penggorengan.

Simpulan

Produksi asparaginase dengan teknologi DNA rekombinan banyak bersumber dari *Bacillus sp.*, *E.coli*, dan *Pseudomonas*

fluorescens. Dalam literatur yang ditemukan, asparaginase terbukti dapat menekan pembentukan akrilamid dengan memecah kandungan asparagin yang terkandung dalam proses pembuatan makanan dengan bantuan panas seperti pemanggangan dan penggorengan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Rizky Abdullah, PhD., Apt. selaku dosen mata kuliah Metodologi Riset dan Biostatistik yang telah memberikan arahan dalam proses penulisan review artikel.

Daftar Pustaka

- Batool, T., Makky, E. A., Jalal, M., & Yusoff, M. M. 2015. *A Comprehensive Review on L-Asparaginase and Its Applications. Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(5), 900–923
- Brock, T.D., M.T. Madigan, J.M. Martinko., J. Parker. 1994. *Biology of Microorganisms* 7th Ed. Prentice-hall, Inc. New Jersey
- David RL, James RC, Richard HS. 2012. Acrylamide in foods: A review of the science and future considerations. *Annual Review Food Sci. Technol* 3: 15-35.
- Jia, M., Xu, M., He, B., & Rao, Z. 2013. *Cloning, Expression, and Characterization of L-Asparaginase from a Newly Isolated Bacillus subtilis B11–06. Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(39), 9428–9434
- Kidd, J. G. 1953. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. I. course of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse

Volume 17 Nomor 3

- serum or rabbit serum. *Journal of Experimental Medicine*, 98, 565–582.
- Kishore, Vijay., Nishita, K.P., Manonmani, H.K. 2015. Cloning, expression and characterization of L-asparaginase from *Pseudomonas fluorescens* for large scale production. *Biotech*, 5, 975-981
- Krishnakumar and Visvanathan. 2014. Acrylamide in Food Products: A Review. *J Food Process Technology* 5:7
- Kumar D, Singh BP, Kumar P. 2004). An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Annals of Applied Biology* 145: 247-256.
- Meghavarnam, A. K., & Janakiraman, S. (2018). Evaluation of acrylamide reduction potential of L-asparaginase from *Fusarium culmorum* (ASP-87) in starchy products. *LWT-Food Science and Technology*, 89, 32–37.
- Nick. 2007. Choosing a Competent *E.coli* strain. Available at <http://bitesizebio.com/2007/09/24/choosing-a-competent-ecoli-strain> [accessed online on June 13th 2019]
- Oza, V. P., Parmar, P. P., Patel, D. H., & Subramanian, R. B. (2011). Cloning, expression and characterization of l-asparaginase from *Withania somnifera* L. for large scale production. *3 Biotech*, 1(1), 21–26.
- Pedreschi, F., Mariotti, S., Granby, K., & Risum, J. (2011). Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 1473–1476
- Pieters, R.; Hunger, S. P.; Boos, J.; Rizzari, C.; Silverman, L.; Baruchel, A.; Goekbuget, N.; Schrappe, M.; Pui, C. H. L-Asparaginase Treatment in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer* 2011, 117, 238– 249.
- Pokrovskaya, M. V., Aleksandrova, S. S., Pokrovsky, V. S., Omeljanjuk, N. M., Borisova, A. A., Anisimova, N. Y., & Sokolov, N. N. (2012). Cloning, expression and characterization of the recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* l-asparaginase. *Protein Expression and Purification*, 82(1), 150–154.
- N. M., Borisova, A. A., Anisimova, N. Y., & Sokolov, N. N. (2012). Cloning, expression and characterization of the recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* l- asparaginase. *Protein Expression and Purification*, 82(1), 150–154. asparaginase. *Protein Expression and Purification*, 82(1), 150–154.
- Sivagurunathan Nagarethinam, Anantha Naik Nagappa, Udupa N, Venkata Rao J., Meenashi Vanathi B. 2012. Microbial L-Asparaginase and its future prospects. *Asian journal of medical research*. 1, 159-168.
- Sindhu, R., & Manonmani, H. K. (2018). Expression and characterization of recombinant l -asparaginase from *Pseudomonas fluorescens*. *Protein Expression and Purification*, 143, 83–91.
- Semla, M., Goc, Z., Martiniakova, M., Omelka, R., Formicki, G. 2017. Acrylamide: a Common Food Toxin Related to Physiological Functions and Health. *Physiol. Res*. 66: 205-217
- Sudhir, A. P., Dave, B. R., Prajapati, A. S., Panchal, K., Patel, D., & Subramanian, R. B. 2014. Characterization of a Recombinant Glutaminase-Free l-Asparaginase (ansA3) Enzyme with High Catalytic Activity from

Volume 17 Nomor 3

- Bacillus licheniformis*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174(7), 2504–2515.
- Vidya, Jalaja., Vasudevan, Ushasree Mrudula., Soccol, Carlos Ricardo., Pandey, Ashok. 2011. Cloning, Functional Expression and Characterization of L-Asparaginase II from *E. coli* MTCC 739. *Food Technol. Biotechnol.* 49 (3): 286-290
- Yim, Sangeun., Kim, Misook. 2019. Purification and Characterization of Thermostable L-asparaginase from *Bacillus amyloliquefaciens* MKSE in Korean Soybean Paste. *LWT – Food Science and Technology*, 109, 415-421
- Zhang, Sunyan., Xie, Yajuan., Zhang, Chong., Bie, Xiaomei., Zhao, Haizhen., Lu, Fengxia., Lu, Zhaoxin. 2015. Biochemical Characterization of a Novel L-Asparaginase from *Bacillus megaterium* H-1 and its Application in French Fries. *Food Research International*