

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL
ENZIM L-ASPARAGINASE DARI DAUN TANAMAN
TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.)**



WINDA WINARTO

2443014010

**PROGRAM STUDI S1
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA
2017**

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL ENZIM
L-ASPARAGINASE DARI DAUN TANAMAN TOMAT
(*LYCOPERSICUM ESCULENTUM* MILL.)**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

**OLEH:
WINDA WINARTO
2443014010**

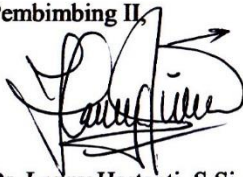
Telah disetujui pada tanggal 20 Oktober 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

Pembimbing II,



Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si.
NIK. 241.00.0437

Mengetahui,
Ketua Penguji



Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.
NIK. 241.98.0351

**LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul: **Isolasi dan Skrining Fungi Endofit Penghasil Enzim L-Asparaginase dari Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 20 Oktober 2017



Winda Winarto

2443014010

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini
adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri,
Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini
merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia
menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan
dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 20 Oktober 2017



Winda Winarto

2443014010

ABSTRAK

ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL ENZIM L-ASPARAGINASE DARI DAUN TANAMAN TOMAT (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

Winda Winarto
2443014010

Pada tahun terakhir ini, mikroba endofit baik bakteri, khamir, maupun kapang banyak digunakan dalam berbagai penelitian untuk dimanfaatkan komponen metabolit sekundernya. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi dan skrining fungi (kapang) endofit penghasil enzim L-Asparaginase dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). L-Asparaginase merupakan salah satu terapi berbasis enzimatik untuk pengobatan kanker, khususnya leukemia limfoblastik akut. Endofit yang dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase dideteksi melalui pembentukan zona berwarna merah muda pada media uji (*Modified Czapek Dox's (MCD) agar* yang mengandung L-Asparagin sebagai substrat) akibat reaksi hidrolisis L-Asparagin menjadi L-Aspartat dan ammonia. Ammonia yang terbentuk menyebabkan pH media meningkat sehingga mengubah warna indikator *phenol red* dari kuning (suasana asam) menjadi merah muda (suasana basa). Aktivitas enzim L-Asparaginase diukur dari nilai rasio diameter rata-rata daerah L-Asparaginase yang terhidrolisis terhadap diameter rata-rata koloni fungi endofit. Diperoleh 11 isolat fungi endofit dari daun tanaman tomat dan semua isolat dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase dengan aktivitas yang berbeda. Kesebelas fungi endofit tersebut kemudian dikarakterisasi lebih lanjut melalui pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia (hidrolisa amilum, kasein dan lemak). Dari hasil pengamatan mikroskopis, diduga genus fungi endofit yang diperoleh dan dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase merupakan *Fusarium*, *Aspergillus*, *Oidiodendron*, *Pythium*, *Penicillium*, *Chaetosphaeria*, *Phialophora*, dan *Mycocentrospora*. Dari penelitian ini ditemukan bahwa fungi endofit yang memiliki rasio *zone index* L-Asparaginase terbesar berasal dari genus *Penicillium*.

Kata kunci: Fungi Endofit, L-Asparaginase, leukemia limfoblastik akut, *Lycopersicum esculentum* Mill., *Penicillium*.

ABSTRACT

ISOLATION AND SCREENING OF L-ASPARAGINASE FROM ENDOPHYTIC FUNGI OF TOMATO LEAVES (*Lycopersicum esculentum* Mill.)

Winda Winarto
2443014010

In recent years, microbial endophytes like bacteria, yeasts, and fungi are widely used in various studies for the utilization of secondary metabolite components. In this study, isolation and screening of endophytic fungi producing L-Asparaginase enzyme from tomato plant leaves (*Lycopersicum esculentum* Mill.) were performed. L-Asparaginase is one of the enzymatic-based therapies for the treatment of cancer, especially acute lymphoblastic leukemia. Endophytes that produce L-Asparaginase enzyme were detected through the formation of pink zone on the test medium (Modified Czapek Dox's (MCD) agar containing L-Asparagine as substrate) due to the hydrolysis reaction of L-Asparagine to L-Aspartate and ammonia. The formed ammonia caused the pH of the media increased so that the color of the red phenol indicator changed from yellow (acidic) becomes pink (alkaline). The activity of the L-Asparaginase enzyme was measured from the ratio of the mean hydrolyzed zone (pink zone) diameter to the average of the endophytic fungi diameter. Eleven endophytic fungi were isolated from tomato leaves and all isolates can produce L-Asparaginase enzyme with different activities. The eleventh endophytic fungi was further characterized through macroscopic, microscopic, and biochemical observations (hydrolysis of amylum, casein and fat). From the results of microscopic observations, it was suspected that the genus of the producing endophytic fungi isolated from tomato leaves were *Fusarium*, *Aspergillus*, *Oidiodendron*, *Pythium*, *Penicillium*, *Chaetosphaeria*, *Phialophora*, and *Mycocentrospora*. From this study, endophytic fungi that have the largest L-Asparaginase zone index ratio was from the genus *Penicillium*.

Keywords: Fungi Endofit, L-Asparaginase, acute lymphoblastic leukemia, *Lycopersicum esculentum* Mill., *Penicillium*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat dan penyertaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul **“Isolasi dan Skrining Fungi Endofit Penghasil Enzim L-Asparaginase dari Daun Tanaman Tomat (*Lycopersicum Esculentum* Mill.)”** ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Menyadari bahwa tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penyusunan naskah skripsi ini:

1. Tuhan Yesus Kristus atas penyertaan-Nya dan telah mengaruniakan berkat, rahmat, dan hikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. dan Dr. F.V. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing atas saran, nasehat, semangat, kesabaran dan waktu yang telah diluangkan untuk mendampingi penulis selama proses pengerjaan dan penyusunan naskah skripsi ini.
3. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt. dan Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc. Biol. selaku tim penguji skripsi atas saran yang diberikan guna penyempurnaan skripsi ini.
4. Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasihat akademik yang telah memberikan dukungan, masukan, motivasi, dan pengarahan dari awal hingga akhir masa studi kepada penulis.

5. Papa Pengky Winarto, Mama Hermina Gunawan, serta kakak-kakak saya Wenny Winarto, S.E. dan Wendy Winarto, S.T. yang telah menyayangi, mendampingi, mendoakan dan memberikan dukungan bagi penulis.
6. Mas Anto selaku laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi yang telah membantu dan memberi dukungan selama proses pengerjaan skripsi ini.
7. Teman-teman seperjuangan endofit-enzim Robert Daniswara, Evi Nurwinda, dan Melyana Sadipun atas bantuannya dalam menyelesaikan penelitian ini.
8. Teman-teman “SESQUITERPEN”, Desy Liyadi, Christina Thresdy, Indry Liong, Iesyane, Merlyn Xumara, Vincentius Tio, Ong Cong Shien, Robert Daniswara, Christian Teddy, Erwin Budiyanto, Johan Waisakti, dan Willy Andrianto yang telah menjadi teman untuk belajar bersama sejak semester 1 hingga saat ini dan selalu memberi dukungan bagi penulis selama pengerjaan skripsi.
9. Agnestasia Widia Kurniawati atas bantuan, nasihat, dan dukungan yang diberikan selama pengerjaan skripsi ini.
10. Teman-teman endofit Nurfika Aprilia, Suwandi Wonowijaya, dan Ajeng Prihatiningrat atas dukungan yang diberikan selama pengerjaan skripsi ini.
11. Teman-teman SCDC FF UKWMS dalam memberikan semangat bagi penulis.
12. Seluruh teman-teman mahasiswa Fakultas Farmasi UKWMS angkatan 2013 dan 2014 yang telah memberikan bantuan dan dukungan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
13. Semua pihak terkait yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah skripsi ini.

Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, September 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Hipotesis Penelitian.....	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tinjauan tentang Mikroba Endofit.....	7
2.1.1 Biodiversitas Jamur Endofit.....	8
2.1.2 Kapang Endofit.....	8
2.1.3 Interaksi Kapang Endofit dan Tanaman Inang.....	9
2.2 Tinjauan tentang Isolasi Mikroba Endofit.....	11
2.3 Tinjauan tentang Identifikasi Kapang Endofit.....	12
2.4 Tinjauan tentang Metabolit Sekunder Jamur Endofit.....	13
2.4.1 Metabolit Sekunder Sebagai Aktivator Proses Sporulasi.....	14
2.4.1 Zat Warna.....	14
2.5 Tinjauan tentang Tanaman Tomat.....	15

2.5.1	Klasifikasi Tanaman Tomat.....	15
2.5.2	Makroskopis Tanaman Tomat.....	16
2.6	Tinjauan tentang Enzim L-Asparaginase.....	17
2.6.1	Struktur L-Asparaginase.....	19
2.6.2	Klasifikasi Enzim L-Asparaginase Berdasarkan <i>Enzyme Commission Number</i>	21
2.6.3	Klasifikasi Umum Enzim L-Asparaginase.....	22
2.6.4	Determinasi aktivitas enzim L-Asparaginase...	24
2.7	Tinjauan tentang Leukemia Limfoblastik Akut.....	26
2.7.1	Klasifikasi Leukemia.....	26
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....		29
3.1	Jenis Penelitian.....	29
3.2	Bahan dan Alat Penelitian.....	29
3.2.1	Bahan Penelitian.....	29
3.2.2	Alat Penelitian.....	30
3.3	Metode Penelitian.....	30
3.4	Variabel Penelitian.....	31
3.4.1	Isolasi Kapang Endofit dari Daun Tanaman Tomat.....	31
3.4.2	Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase Kapang Endofit dari Daun Tanaman Tomat.....	32
3.5	Tahapan Penelitian.....	32
3.5.1	Pengambilan Sampel Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	32
3.5.2	Determinasi, Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Daun tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	32
3.5.3	Isolasi Fungi Endofit dari Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	33

3.5.4	Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.)	33
3.5.5	Penyiapan Media Uji Aktivitas Enzim L-Asparaginase.....	34
3.5.6	Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase yang Dihasilkan Fungi Endofit terhadap Media Uji.....	34
3.5.7	Karakterisasi Fungi Endofit.....	34
3.6	Analisa Data.....	36
3.7	Skema Kerja.....	37
BAB 4. HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN.....		38
4.1	Hasil Penelitian.....	38
4.1.1	Determinasi Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	38
4.1.2	Makroskopis dan Mikroskopis Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	39
4.1.3	Isolasi Fungi Endofit dari Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	41
4.1.4	Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Daun Tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.)	43
4.1.5	Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase yang Dihasilkan Fungi Endofit terhadap Media Uji.....	44
4.1.6	Karakterisasi Fungi Endofit.....	56
4.2	Pembahasan.....	69
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....		76
5.1	Kesimpulan.....	76
5.2	Saran.....	76
DAFTAR PUSTAKA.....		77

LAMPIRAN..... 83

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Hifa kapang endofit dalam jaringan daun tanaman.....	7
2.2 Tanaman Tomat.....	16
2.3 Reaksi hidrolisis oleh enzim L-Asparaginase.....	17
2.4 Struktur tiga dimensi enzim L-Asparaginase dari <i>Erwinia chrysanthemi</i> yang mengalami mutasi pada E63Q (PDB ID: 5I3Z)	20
2.5 Sekuensi enzim L-Asparaginase dari <i>Erwinia chrysanthemi</i> yang mengalami mutasi pada E63Q (PDB ID: 5I3Z).....	21
2.6 Morfologi sel blas LLA.....	27
3.1 Skema kerja penelitian.....	37
4.1 Sampel tanaman tomat yang dideterminasi.....	38
4.2 Pengamatan makroskopis daun tanaman <i>Tomat (Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	39
4.3 Pengamatan mikroskopis penampang melintang daun tanaman <i>Tomat (Lycopersicum esculentum</i> Mill.) dengan pereaksi kloral hidrat dan fluoroglusin HCl pada perbesaran 10 x 42,3.....	40
4.4 Trikoma tipe granduler (A), multiseluler (B) dan kolaborasi (C) pada penampang membujur daun tanaman <i>Tomat (Lycopersicum esculentum</i> Mill.) pada perbesaran 40 x 42,3.....	41
4.5 Stomata tipe anisositik pada penampang membujur permukaan bawah daun tanaman <i>Tomat (Lycopersicum esculentum</i> Mill.) pada perbesaran 10 x 42,3 (A) dan perbesaran 40 x 42,3(B)	41
4.6 Posisi peletakan potongan daun tanaman <i>Tomat (Lycopersicum esculentum</i> Mill.) pada media MEA dan PDA.....	42
4.7 Pertumbuhan fungi endofit setelah inkubasi 48 jam.....	42

4.8	Koloni murni fungi endofit daun tanaman Tomat (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.) usia 6 hari pada media MEA atau PDA.....	43
-----	--	----

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Hasil pengamatan makroskopis daun tanaman <i>Tomat</i> (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill.).....	40
4.2 Hasil pengamatan rasio diameter rata-rata daerah L-Asparaginase yang terhidrolisis terhadap diameter rata-rata koloni fungi endofit pada media MCD Agar selama 72 jam.....	44
4.3 Hasil pengamatan diameter isolat MC1 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	45
4.4 Hasil pengamatan diameter isolat MC1A dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	46
4.5 Hasil pengamatan diameter isolat MC2 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam... ..	47
4.6 Hasil pengamatan diameter isolat MC3-2A dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	48
4.7 Hasil pengamatan diameter isolat MC3-2A1 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	49
4.8 Hasil pengamatan diameter isolat MC3-2A2 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	50
4.9 Hasil pengamatan diameter isolat MC3-2B dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	51
4.10 Hasil pengamatan diameter isolat MC4-1 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	52
4.11 Hasil pengamatan diameter isolat MC4-2 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	53
4.12 Hasil pengamatan diameter isolat MC5 dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	54
4.13 Hasil pengamatan diameter isolat PB2-LP dan diameter <i>zone index</i> setiap 8 jam.....	55
4.14 Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Fungi Endofit.....	56

4.15	Hasil pengamatan mikroskopis isolat fungi endofit pada perbesaran 10x40.....	57
4.16	Hasil pengamatan uji hidrolisa amilum, kasein, dan lemak isolat fungi endofit.....	60
4.17	Hasil uji hidrolisa amilum, kasein, dan lemak isolat fungi endofit	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
A	Kontrol Sterilisasi Permukaan Daun Tanaman Tomat.....	83
B	Kontrol Negatif Uji Aktivitas Enzim L- Asparaginase.....	84