

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Leukemia adalah penyakit keganasan pada jaringan hematopoietik (McKenzie, 1996). Hal ini disebabkan oleh proliferasi tidak terkontrol dari klon sel darah immatur yang berasal dari sel induk hematopoietik (Lauder *et al.*, 2002). Sel leukemik tersebut juga ditemukan dalam darah perifer dan sering menginvasi jaringan retikuloendotelial seperti limpa, hati dan kelenjar limfe (Wirawan, 2003).

Pengobatan utama leukemia yang digunakan adalah kemoterapi dimana sel leukemik sensitif terhadap kemoterapi pada saat diagnosis (Rudolph, 2007). Kemoterapi merupakan perawatan berulang dan teratur yang diberikan secara kombinasi, dengan lama pengobatan selama dua sampai tiga tahun bagi pasien ALL (Davey, 2005). Mekanisme kerja kemoterapi yang bersifat tidak selektif dan terapi kombinasi menyebabkan toksisitas obat meningkat. Toksisitas kemoterapi secara umum dapat dibagi dua yaitu bersifat akut dan jangka panjang. Toksisitas akut terjadi segera setelah pemberian kemoterapi (jam–minggu) dan bersifat sementara, sedangkan toksisitas jangka panjang bersifat permanen. Toksisitas akut antara lain depresi sumsum tulang, mual, muntah, alopesia, mukositis orointestinal, alergi, kelainan fungsi hati dan ginjal. Beberapa obat kemoterapi bersifat unik oleh karena toksisitas obat bersifat spesifik terhadap organ atau jaringan tertentu permanen (Vassal, 2005).

Dewasa ini, sudah mulai marak penelitian yang menggunakan bahan alam sebagai senyawa antikanker termasuk untuk pengobatan leukemia baik dalam bentuk simplisia, ekstrak, maupun fraksi. Penelitian tersebut memiliki beberapa kelemahan karena membutuhkan bagian tanaman dalam jumlah

banyak untuk mendapatkan simplisia yang dituju. Selain itu ekstrak maupun senyawa murni yang dapat diisolasi dari tanaman tersebut jumlahnya tidak sebanding dengan jumlah bagian tanaman yang digunakan. Demikian juga dengan waktu tumbuh tanaman, dimana tidak semua tanaman dapat tumbuh sepanjang tahun. Pertimbangan lainnya yaitu masa tanaman untuk menghasilkan metabolit sekunder yang diinginkan juga berbeda-beda. Tanaman membutuhkan jangka waktu tertentu untuk mencapai usia dimana dapat menghasilkan senyawa yang dicari. Diperlukan adanya alternatif lain untuk mendapatkan metabolit sekunder yang diinginkan dalam waktu yang singkat dan jumlah yang banyak. Salah satu alternatif tersebut yaitu penggunaan mikroba endofit.

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis (bakteri dan jamur) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang (Simarmata *et al.*, 2007). Beberapa mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif sebagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki daya antimikroba, antimalaria, antikanker dan sebagainya. Menurut Tan & Zou (2001), mikroba endofit memang dapat menghasilkan senyawa bioaktif yang karakternya mirip atau sama dengan inangnya. Hal ini dikarenakan adanya pertukaran genetik yang terjadi antara inang dan mikroba endofit secara evolusioner. Sebagai contoh, fungi endofit *Thievalia polygonoperda* yang diisolasi dari tumbuhan akar kuning (*Fibraurea chloroleuca*) yang tumbuh di hutan Kalimantan memiliki daya antibakteri seperti inangnya setelah diujikan terhadap *Shigella dysentri* dan *Micrococcus luteus* pada konsentrasi 100 µg/cakram dalam ekstrak etil asetat (Prihatiningtias, 2005). Mikroba endofit memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa yang sama dengan inangnya, sehingga dapat digunakan sebagai sumber penghasil senyawa pengganti inangnya.

Mikroba endofit tentunya berguna di bidang kesehatan khususnya farmasi. Mikroba endofit menjanjikan dalam penemuan obat-obat baru, karena senyawa-senyawa bioaktif yang dikandungnya (Strobel, 1996). Penggunaan mikroba endofit memiliki berbagai kelebihan seperti hanya membutuhkan sedikit bagian tanaman. Bagian tanaman yang akan digunakan tersebut disterilisasi permukaannya kemudian dipotong-potong dan ditanam di atas media. Mikroba endofit yang didapat tentunya dapat diperbanyak setiap saat dan dapat digunakan sebagai stok kultur yang dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Keunggulan lain yang ada dalam pemanfaatan mikroba endofit yaitu mikroba endofit memiliki siklus hidup yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan tumbuhan inangnya dan dapat diproduksi dalam skala besar (Tan *et al.*, 2001).

Berdasarkan beberapa penelitian, diketahui bahwa beberapa jenis senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan memiliki aktivitas antikanker terhadap leukemia. Salah satunya adalah L-Asparaginase. L-Asparaginase merupakan enzim antikanker yang diketahui dapat digunakan untuk agen terapi spesifik leukemia. Peran utama enzim ini yaitu mengkatalisis hidrolisis L-asparagin menjadi asam aspartat dan amonia. Sel kanker bergantung pada sumber L-Asparagin untuk berproliferasi dan bertahan hidup. L-Asparaginase akan bekerja mempercepat proses hidrolisis dari L-Asparagin agar dapat menghambat proliferasi dari sel kanker tersebut (Thangavel *et al.*, 2013).

Kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) merupakan salah satu tanaman yang secara empiris dipercaya oleh masyarakat memiliki berbagai manfaat dalam mencegah maupun mengobati berbagai penyakit. Kunyit putih digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengobati demam, sebagai penenang, sakit perut (kolik), memacu kontraksi otot perut, memacu sekresi empedu, hepatoprotektor, serta obat kanker. Kandungan utama kunyit

putih adalah minyak atsiri, amilum, tanin, gula, dan damar. Diperkirakan minyak atsiri merupakan komponen paling aktif berkhasiat di antara komponen-komponen lainnya, karena senyawa kurdion yang merupakan salah satu komponen minyak atsiri dari genus yang sama yaitu temu putih, dilaporkan memiliki khasiat sebagai antineoplastik (Chang dan But, 1987), serta sebagai antikanker dan hepatoprotektor (Anton, 1980).

Sebelumnya, telah dilakukan beberapa penelitian mengenai aktivitas antileukemia dari tanaman kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) antara lain Arpintasari pada tahun 2009 telah berhasil mengisolasi enzim L-Asparaginase dari rimpang tanaman kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) dan melakukan uji potensi antikanker terhadap sel leukemia tipe K562. Sel leukemia tipe K562 terdiri dari sel *blast* yang tidak terdiferensiasi yang kaya akan *glycophorin* dan dapat diinduksi untuk memproduksi hemoglobin janin dan embrionik (Koeffler *et al.*, 1980). Dari hasil penelitian diperoleh L-asparaginase dari rimpang kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) memiliki aktivitas spesifik yang lebih besar bila dibandingkan dari sumber yang lain seperti benalu, bawang merah, bawang putih dan bawang bombay. Aktivitas spesifik enzim L-asparaginase kunyit putih sebesar 2195,715 unit/mg protein pada fraksi kelima (80-100%). Uji potensi antikanker dilakukan pada kultur sel leukimia tipe K562 dengan menggunakan metode viabilitas sel dengan penambahan MTT dan diukur dengan *ELISA Reader*. Hasilnya diketahui bahwa secara *in vitro* enzim L-asparaginase mempunyai potensi yang baik sebagai antikanker dengan nilai LC_{50} pada konsentrasi penambahan L-asparaginase sebesar 9,419 ppm (Arpintasari, 2009).

Sejauh ini belum banyak penelitian yang menunjukkan tentang fungsi endofit dari rimpang kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.). Praptiwi *et al.* (2016) berhasil mengisolasi mikroba endofit dari beberapa spesies tanaman kelas Zingiberaceae. Dalam penelitiannya, diperoleh mikroba

endofit kelas Dematiaceae yaitu fungi yang berwarna gelap untuk tanaman kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) yang kemudian dilanjutkan dengan pengujian daya antibakteri terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi ekstrak sebesar 10 µg/ µL serta uji aktivitas antioksidan menggunakan metode TLC-*bioautography* dengan penyemprotan larutan 0,2% DPPH dalam metanol (Praptiwi *et al.*, 2016). Namun, untuk saat ini masih belum pernah dilakukan penelitian untuk mendapatkan enzim L-Asparaginase dari mikroba endofit khususnya fungi tanaman kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.). Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan isolasi fungi endofit dari rimpang tanaman kunyit putih (*Curcuma mangga* Val.) yang akan dilanjutkan dengan pengujian untuk mengetahui apakah fungi endofit tersebut menghasilkan enzim L-Asparaginase seperti pada rimpang tanaman kunyit putih. Pengujian aktivitas enzim dilakukan dengan menginkubasi fungi endofit hasil isolasi pada media *Modified Czapek Dox's* (MCD) agar. Adanya enzim L-Asparaginase yang dihasilkan fungi endofit ditunjukkan dengan terbentuknya daerah berwarna merah muda pada media di sekitar koloni.

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah fungi endofit dapat diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.)?
2. Apakah fungi endofit yang diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) memiliki enzim L-Asparaginase?
3. Apa genus dugaan fungi endofit yang diperoleh dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) berdasarkan karakteristiknya?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengisolasi fungi endofit dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.).
2. Untuk melakukan skrining aktivitas enzim L-Asparaginase pada fungi endofit yang diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.).
3. Untuk menentukan dugaan genus dari fungi endofit yang diperoleh dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.).

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Fungi endofit dapat diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.).
2. Fungi endofit yang diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) memiliki enzim L-Asparaginase.
3. Genus dugaan fungi endofit rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) dapat ditentukan.

1.5 Manfaat Penelitian

Pada penelitian ini diharapkan fungi endofit dapat diisolasi dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) dan isolatnya yang menghasilkan enzim L-Asparaginase dapat menjadi alternatif pengobatan kanker, terutama leukemia. Pemanfaatan fungi endofit dari tanaman sebagai sumber senyawa obat juga dapat mengurangi penggunaan tanaman dalam jumlah besar untuk diambil metabolit sekundernya.