

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Enzim L-asparaginase (*L-asparaginase amidohidrolase*; E C 3.5.1.1) merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk mengkatalisis reaksi deaminasi asam amino L-asparagin menjadi L-aspartat dan amonia (Baskar and Kumar, 2009). L-Asparaginase merupakan salah satu agen kemoterapi dalam pengobatan kanker pada sistem limfatik, *Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)*, *Hodgkin's Lymphoma* dan melanosarkoma (Singh *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian L-Asparaginase juga terdapat pada serum darah *guinea pig* (Marmut) yang mendepleksi jumlah L-asparagin yang bersifat esensial terhadap pertumbuhan kanker (Nagharethinam *et al.*, 2012).

L-asparaginase juga digunakan dalam produksi makanan untuk mencegah pembentukan produk makanan yang bersifat akrilamid, yakni senyawa yang terbentuk dari reaksi antara L-asparagin dan gula reduksi dalam makanan yang diproses dalam suhu tinggi ( $\pm 120^{\circ}\text{C}$ ) (Fuhr *et al.*, 2006). Akrilamid digolongkan sebagai senyawa yang karsinogenik dan neurotoksik oleh FDA (Food and Drugs Administration) (Simonne dan Archer, 2012). Penambahan L-asparaginase pada pengolahan makanan bersuhu tinggi dapat menurunkan resiko serangan kanker maupun kerusakan saraf akibat akrilamid yang terkandung di dalamnya.

Dewasa ini, sudah mulai banyak penelitian yang menggunakan tanaman sebagai penghasil enzim L-asparaginase bentuk ekstrak maupun fraksi. Tanaman yang sering digunakan contohnya *Solanum tuberosum* L. (Karomah, 2015). Kekurangan dari penelitian tersebut adalah membutuhkan bagian tanaman yang banyak untuk dijadikan simplisia. Tidak semua

tanaman tumbuh sepanjang tahun, dan ada tanaman yang hanya tumbuh pada waktu tertentu saja sehingga hal ini dapat menghambat proses ekstraksi dan fraksinasi. Oleh karena itu, alternatif lain untuk memperoleh enzim L-asparaginase diperoleh dari mikroba endofit. Mikroba endofit sendiri merupakan mikroorganisme yang terdapat di dalam suatu sistem jaringan tumbuhan seperti biji, daun, bunga, ranting, batang, dan akar yang dapat menghasilkan berbagai senyawa fungsional (Strobel, 2003).

Kelebihan penggunaan mikroba endofit yaitu hanya membutuhkan sedikit bagian tanaman. Bagian tanaman tersebut kemudian disterilisasi permukaannya lalu dipotong-potong dan ditanam di atas media. Mikroba endofit yang tumbuh dapat diperbanyak setiap saat dan dapat dijadikan stok kultur untuk disimpan jangka waktu yang lama dan dapat diperbanyak tanpa harus menumbuhkan lagi dari tanaman inangnya. Keuntungan penggunaan mikroba endofit dalam pencarian sumber senyawa bioaktif baru adalah siklus hidupnya yang singkat dan senyawa yang dihasilkan dapat diproduksi dalam jumlah banyak melalui poses fermentasi (Prihatiningtias dan Wahyuningsih, 2006).

Mikroba endofit merupakan organisme renik, dapat berupa bakteri, kapang atau khamir yang hidup di dalam tanaman (atau inang lain). Mikroba endofit tersebut dapat menghasilkan senyawa seperti tumbuhan inangnya (Kumala, 2014). Mikroba endofit terdapat di jaringan tanaman seperti buah, bunga, batang, daun akar dan biji serta merupakan pelindung bagi tanaman inang dari stress lingkungan dan kompetisi mikroba (Hung dan Annapurna, 2004). Mikroba ini hidup bersimbiosis saling menguntungkan dengan tanaman inang, di mana mikroba endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman sedangkan mikroba menghasilkan senyawa aktif berupa metabolit sekunder yang menjaga inang dari serangan penyakit (Taechowisan *et al.*, 2005).

Mikroba endofit sebagai penghasil senyawa aktif berpotensi untuk dikembangkan sebagai penghasil bahan baku obat. Kapang endofit, *Musodor albus* dari *Cinnamomum zeylanicum* diketahui menghasilkan campuran senyawa organik volatil dan mempunyai aktivitas antimikroba dengan spektrum yang luas (Ezra *et al.*, 2004). Selanjutnya kapang endofit *Taxomyces andreane* dari tanaman *Taxus brevifolia* menghasilkan senyawa aktif berupa *paclitaxel* (taksol) yaitu obat antikanker (Strobel dan Daisy, 2003). Senyawa pestacin dan isopestacin yang diperoleh dari kultur endofit *Pestalotiopsis microspora* dari tanaman *Terminalia morobensis* menunjukkan aktivitas antimikroba dan antioksidan (Harper *et al.*, 2003).

Di antara jenis fungi yang dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, kapang endofit merupakan salah satu sumber potensial penghasil senyawa organik yang memiliki manfaat medis (Selim *et al.*, 2012). Senyawa organik kapang endofit seperti protein dan beberapa metabolit sekundernya tidak bersifat toksik dan tidak memiliki dampak negatif terhadap lingkungan, sehingga dianggap bagus untuk menghasilkan L-asparaginase non-alergenik (Theantana *et al.*, 2007). Salah satu kapang endofit penghasil L-asparaginase yang potensial dilaporkan menurut Shrivastava *et al.* (2010) adalah *Absidia sp.* dan *Fusarium sp.* yang memiliki aktivitas enzim L-asparaginase berturut-turut 28,60 IU/mL dan 29,76 IU/mL.

Saat ini L-asparaginase untuk keperluan klinis diproduksi secara komersial dengan menggunakan dua bakteri yaitu *Erwinia chrysantemi* dan *Escherichia coli* (Verma *et al.*, 2007). Sumber potensial L-asparaginase asal mikroba lainnya adalah berasal dari *Thermococcus kodakaraensis* TK 1656 yang dilaporkan oleh Chohan dan Rashid (2013) memiliki aktivitas sebesar 2350 UI/mg pada suhu optimum 85°C dan pH 9,5.

Pada pemakaian jangka panjang L-asparaginase yang berasal dari bakteri memiliki resiko memicu alergi dan anafilaksis sedangkan L-

asparaginase yang diproduksi dari organisme eukariotik seperti fungi memiliki reaksi pemicu alergi yang lebih rendah. Hal ini terjadi karena kedekatan filogenik fungi dengan manusia menyebabkan kedua organisme tersebut memiliki struktur protein yang mirip hingga tidak dikenali sebagai antigen oleh tubuh manusia (Kumar dan Shoba, 2012).

Cabai merah (*Capsicum annuum*) adalah salah satu tanaman pangan yang secara empiris dipercaya oleh masyarakat memiliki manfaat yang bisa mencegah maupun mengobati penyakit. Buah cabai merah secara tradisional juga dimanfaatkan oleh suku Indian dan China sebagai obat herbal yang dapat digunakan dalam terapi artritis, reumatik, nyeri perut dan kemerahan pada kulit (Ortega *et al.*, 2012), bahkan sebagai antikanker (Satyanarayana, 2006).

Shrivastava (2010) telah melakukan penelitian mengenai aktivitas L-asparaginase yang dihasilkan dari fungi endofit buah cabai merah yaitu fungi *Fusarium sp.* dengan aktivitas enzim 29,76 IU/mL dan aktivitas spesifik sebesar 273,33 IU/mg. Hasil tersebut dibandingkan dengan beberapa tanaman penghasil fungi endofit lainnya, antara lain *Lycopersicon esculentum*, *Cicer arietinum*, *Tamarindus indica* dan *Cucurbita maxima*, yang memiliki aktivitas enzim L-asparaginase berturut-turut 29,65 IU/mL, 28,60 IU/mL, 26,56 IU/mL dan 23,94 IU/mL dan didapatkan aktivitas enzim L-asparaginase yang dihasilkan oleh buah Cabai Merah lebih besar. Pada penelitian ini fungi endofit penghasil L-asparaginase diperoleh dari daun Cabai merah dimana daun tersebut akan diinokulasi pada media selektif untuk kapang dan diisolasi sehingga mendapatkan kultur murni. Kapang endofit yang sudah dimurnikan tersebut selanjutnya di uji aktivitas L-asparaginase secara semikuantitatif pada media yang diberi indikator.

Pada penelitian ini menggunakan daun cabai merah meskipun pada penelitian sebelumnya dilaporkan aktivitas enzim L-asparaginase yang diperoleh berasal dari buah Cabai Merah karena menurut Kumala (2014),

kapang endofit yang diperoleh dari daun lebih banyak. Hal tersebut disebabkan karena daun memiliki lapisan kutikula yang tipis dan luas permukaannya besar sehingga lebih banyak kapang endofit yang dapat masuk ke dalam jaringan tanaman. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini digunakan daun dari tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) sebagai sumber kapang endofit yang akan dilakukan uji aktivitas dan skrining enzim L-asparaginase.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Apakah fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.)?
2. Bagaimana karakteristik fungi endofit dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.)?
3. Apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) memiliki enzim L-asparaginase?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengisolasi fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.).
2. Untuk menentukan karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.).
3. Untuk menguji fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) menghasilkan enzim L-asparaginase.

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

1. Fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.)

2. Karakter fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) dapat diketahui.
3. Fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) dapat menghasilkan enzim L-asparaginase.

### **1.5 Manfaat penelitian**

Pada penelitian ini diharapkan dapat diisolasi fungi endofit dari daun tanaman Cabai merah (*Capsicum annuum* L.) yang memiliki aktivitas enzim L-asparaginase terutama sebagai alternatif dalam pengobatan ALL (*Acute Lymphoblastic Leukemia*). Pemanfaatan fungi endofit juga mengurangi penggunaan tanaman dalam jumlah besar untuk diambil metabolit sekundernya.