

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Menurut data *Union for International Cancer Control (UICC)*, setiap tahun terdapat sekitar 176.000 anak yang didiagnosis kanker, yang mayoritas berasal dari negara berpenghasilan rendah dan menengah. Meskipun kejadian kanker pada anak di seluruh dunia masih cukup jarang, namun kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian 90.000 anak setiap tahunnya. Sementara itu, di Indonesia terdapat sekitar 11.000 kasus kanker anak setiap tahunnya, dan secara umum, sepertiga dari kanker anak tersebut adalah leukemia (Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Indonesia, 2015).

Leukemia adalah penyakit keganasan pada jaringan hematopoietik yang ditandai dengan penggantian elemen sumsum tulang normal oleh sel darah abnormal atau sel leukemik. Hal ini disebabkan oleh proliferasi tidak terkontrol dari klon sel darah immatur yang berasal dari sel induk hematopoietik. Dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut, L-Asparaginase merupakan salah satu terapi berbasis enzimatis yang diberikan bersamaan dengan Vincristin dan Prednison untuk membunuh sel-sel leukemia untuk menginduksi remisi (Tjokroprawiro *et al.*, 2015). Enzim L-Asparaginase termasuk salah satu enzim amino hidrolase yang mengkatalisis hidrolisis L-Asparagin menjadi L-Aspartat dan Amonia. Hal ini dilakukan karena L-Asparagin merupakan salah satu komponen nutrisi yang penting bagi pertumbuhan beberapa jenis sel kanker (McCredie *et al.*, 1973). Asparagin mengatur pertukaran dan *uptake* asam amino pada sel kanker tertentu dan meregulasi aktivitas mTORC1 dan sintesis protein (Krall *et al*,

2015). Sel kanker tidak dapat mensintesis L-Asparagin, dan memperolehnya dari pasokan eksogen, yaitu dari cairan tubuh (Mitchell *et al.*, 1994). Dengan menghidrolisis semua L-Asparagin yang ada dalam cairan tubuh dan plasma darah, maka sel kanker akan kekurangan pasokan nutrisi dan mati. Namun, hal ini tidak akan menimbulkan dampak yang berbahaya bagi sel normal, karena sel normal mampu mensintesis L-Asparagin untuk kebutuhan sel tersebut.

Dalam beberapa tahun terakhir, telah banyak dilakukan penelitian mengenai tanaman yang memiliki enzim L-Asparaginase untuk dilakukan pengisolasian, pemurnian, amobilisasi dan karakterisasi enzim. Kekurangan dari penelitian tersebut adalah diperlukannya tanaman dalam jumlah besar untuk memperoleh sejumlah enzim yang dianggap cukup. Padahal, tidak semua jenis tanaman dapat tumbuh sepanjang tahun dan tanaman memiliki siklus hidup yang relatif lebih panjang. Alternatif yang dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan menggunakan mikroba endofit.

Mikroba endofit merupakan mikroorganisme (dapat berupa kapang, khamir, maupun bakteri) yang mempunyai habitat hidup dalam organ tanaman dalam kurun waktu tertentu, dapat berkolonisasi di dalam jaringan tanaman tanpa merugikan tanaman inangnya. Mikroba endofit yang tumbuh dalam tanaman inang tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder (termasuk enzim) dengan bioaktivitas yang sama dengan inangnya dan memungkinkan untuk dikembangkan menjadi obat. Penelitian lain melaporkan bahwa bakteri endofit mampu menghasilkan berbagai enzim termasuk silanase, amilase, dan selulase, serta zat yang mengatur pertumbuhan tanaman (Kumala, 2014). Dengan digunakannya mikroba endofit sebagai penghasil enzim, penggunaan tanaman dalam jumlah besar-besaran untuk produksi enzim dapat ditekan, karena untuk memperoleh

mikroba endofit penghasil senyawa bioaktif hanya diperlukan sejumlah kecil bagian tanaman. Cara mendapatkan mikroba endofit adalah dengan melakukan sterilisasi permukaan bagian tanaman, kemudian dipotong-potong dan ditumbuhkan dalam suatu media padat. Mikroba endofit yang tumbuh dapat diperbanyak setiap saat dan dapat dijadikan stok kultur untuk disimpan dalam jangka waktu yang lama dan dapat diperbanyak tanpa harus menumbuhkan lagi dari tanaman inangnya. Keuntungan lain dari penggunaan mikroba endofit dalam pencarian sumber senyawa bioaktif baru adalah siklus hidupnya yang singkat dan senyawa yang dihasilkan dapat diproduksi dalam jumlah banyak melalui proses fermentasi (Prihatiningtias dan Wahyuningsih, 2006).

Penelitian mengenai mikroba endofit penghasil L-asparaginase juga telah banyak dilakukan, seperti yang dilakukan Chow dan Ting (2014) yang berhasil mengisolasi 89 endofit dari empat jenis tanaman *Pereskia bleo* (40), *Oldenlandia diffusa* (25), *Cymbopogon citratus* (14) dan *Murraya koenigii* (10). Hanya 25 dari morfotipe ini yang menghasilkan L-Asparaginase, dan kebanyakan berasal dari tanaman *Pereskia bleo* dengan aktivitas enzim L-Asparaginase antara 0,0069 dan 0,025  $\mu\text{M mL}^{-1} \text{ menit}^{-1}$ . Dari hasil identifikasi fungi endofit, diduga bahwa isolat fungi tergolong dalam genus *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phoma* dan *Penicillium*. Dari penelitian lain yang dilakukan Theantana *et al.* (2009) berhasil diisolasi 117 fungi endofit dari lima jenis tanaman obat asal Thailand dan 41 di antaranya positif mengandung L-Asparaginase, dimana 25 isolat menunjukkan zona merah muda di sekitar koloni dan 16 isolat menunjukkan zona merah muda pada koloni. Penelitian mengenai pengisolasian fungi endofit penghasil enzim L-Asparaginase juga dilakukan oleh Shrivastava *et al.* (2009) dengan menggunakan berbagai sumber berbeda (buah, akar, polong-polongan, umbi, dan tanah). Dari sumber-sumber tersebut, diperoleh 300 isolat fungi endofit,

dimana 29 diantaranya dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase. Dari hasil identifikasi, diketahui strain fungi yang diperoleh antara lain adalah *Absidia sp.* dari buah *Cicer arietinum*, *Aspergillus flavus* yang diisolasi dari buah *Lycopersicum esculentum*, *Fusarium sp.* dari buah *Capsicum anum*, *Mucor sp.* dari buah *Cucurbita maxima*, dan *Penicillium sp.* dari legume *Tamarindus indica*. Isolat fungi endofit yang menunjukkan daerah hidrolisis L-Asparagin terbesar berasal dari buah tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum*).

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. Dengan pertimbangan ini, maka pada penelitian ini akan dilakukan isolasi kapang endofit dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.), sehingga diharapkan dapat ditemukan lebih banyak fungi endofit penghasil enzim L-Asparaginase.

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan skrining endofit penghasil enzim L-Asparaginase dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Penelitian diawali dengan determinasi tanaman Tomat sebagai proses identifikasi dan autentikasi tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.), yang dilanjutkan dengan pengamatan secara makroskopis dan mikroskopis terhadap daun tanaman Tomat. Permukaan daun tanaman Tomat selanjutnya disterilisasi dan dipotong-potong untuk ditumbuhkan pada media dan diinkubasi. Fungi endofit yang tumbuh kemudian dimurnikan berulang kali hingga diperoleh isolat fungi endofit. Isolat fungi endofit dari daun tanaman Tomat tersebut selanjutnya dikarakterisasi dengan pengamatan secara makroskopis, mikroskopis, uji biokimia, dan uji L-Asparaginase. Uji L-Asparaginase dilakukan dengan menumbuhkan isolat fungsi endofit pada media *Modified Czapek Dox's (MCD) agar* yang mengandung L-Asparagin

sebagai substrat. Pada penelitian yang akan dilakukan ini, hasil uji positif L-Asparaginase ditunjukkan dengan timbulnya daerah berwarna merah muda karena suasana basa yang ditimbulkan dari terbentuknya amonia dari hasil hidrolisis L-Asparagin karena media uji yang juga mengandung *phenol red*.

## **1.2 Perumusan Masalah**

1. Apakah fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)?
2. Apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) memiliki enzim L-Asparaginase?
3. Bagaimana karakteristik fungi endofit dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui apakah fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).
2. Untuk mengetahui apakah fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) memiliki enzim L-Asparaginase.
3. Untuk mengetahui karakteristik fungi endofit dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

1. Fungi endofit dapat diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).
2. Fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) memiliki enzim L-Asparaginase.

3. Karakteristik fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) dapat diketahui.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Pada penelitian ini diharapkan fungi endofit yang diisolasi dari daun tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) memiliki enzim L-Asparaginase sehingga dapat dimanfaatkan untuk pengobatan leukemia limfoblastik akut yang berbasis enzimatik. Pemanfaatan fungi endofit ini diharapkan dapat menekan penggunaan tanaman dalam jumlah besar untuk diambil metabolit sekundernya dan pengumpulan enzim lebih cepat karena daur hidup fungi endofit yang lebih singkat dibanding daur hidup tanaman.