

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL
ENZIM L-ASPARAGINASE DARI RIMPANG TANAMAN
KUNYIT PUTIH (*CURCUMA MANGGA VAL.*)**



ROBERT DANISWARA

2443014019

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL ENZIM
L-ASPARAGINASE DARI RIMPANG TANAMAN KUNYIT PUTIH
(*CURCUMA MANGGA VAL.*)**

SKRIPSI

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

OLEH:

ROBERT DANISWARA

2443014019

Telah disetujui pada tanggal 12 Desember 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 abstrak dari skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Isolasi dan Skrining Fungi Endofit Penghasil Enzim L-Asparaginase dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.)** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

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

Surabaya, 8 Januari 2018



Robert Daniswara
2443014019

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya 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, 8 Januari 2017



Robert Daniswara
2443014019

ABSTRAK

ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT PENGHASIL ENZIM L-ASPARAGINASE DARI RIMPANG TANAMAN KUNYIT PUTIH (*Curcuma mangga* Val.)

ROBERT DANISWARA
2443014019

Leukemia adalah penyakit keganasan pada jaringan hematopoietik yang pengobatan utamanya adalah dengan kemoterapi. Namun, kemoterapi bersifat tidak selektif dan terapi kombinasinya menyebabkan toksisitas obat meningkat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan isolasi dan karakterisasi fungi endofit dari rimpang tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.) sebagai sumber penghasil enzim L-Asparaginase untuk agen terapi leukemia. Rimpang Kunyit Putih dicuci dengan air mengalir kemudian disterilisasi permukaannya dengan menggunakan alkohol 70% selama 2 menit, natrium hipoklorit 5,3% selama 5 menit dan alkohol 70% selama 1 menit, dibilas dengan akuades steril dan dikeringkan dengan kertas saring steril. Potongan rimpang yang telah disterilisasi dipotong di bagian tengahnya secara melintang setebal kurang lebih 0,5 cm kemudian ditanam pada media *Malt Extract Agar* dan media *Potato Dextrose Agar*, diinkubasi pada suhu ruang (25°C) selama 2-14 hari. Fungi yang tumbuh dan teramati berbeda secara makroskopis dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media *Potato Dextrose Yeast* sebanyak 5 mL lalu diinkubasi pada suhu ruang (25°C) selama 2-14 hari. Fungi endofit yang tumbuh dalam *Potato Dextrose Yeast* diinokulasikan ke dalam media tumbuh awalnya (*Malt Extract Agar*/*Potato Dextrose Agar*), diinkubasi pada suhu ruang selama 2-14 hari. Fungi yang telah murni kemudian dikarakterisasi meliputi pengamatan makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia (uji hidrolisa amilum, uji hidrolisa kasein, dan uji hidrolisa lemak). Aktivitas enzim L-Asparaginase diuji menggunakan media *Modified Czapek Dox's Agar* dan diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam. Hasilnya diperoleh tujuh isolat fungi endofit dengan kode isolat M111, M112, M113, M12, P11, P21, dan P31. Semua isolat yang diperoleh tidak memiliki aktivitas enzim tersebut.

Kata kunci : leukemia, fungi endofit, *Curcuma mangga* Val., rimpang, L-Asparaginase

ABSTRACT

ISOLATION AND SCREENING OF L-ASPARAGINASE ENZYME FROM ENDOPHYTIC FUNGI OF WHITE TURMERIC (*Curcuma mangga* Val.) RHIZOME

ROBERT DANISWARA
2443014019

Leukemia is a malignant disease in hematopoietic tissue whose primary treatment is by chemotherapy. However, chemotherapy is not selective and combination therapy may lead to increase drug toxicity. The aims of this research are to isolate and characterize endophytic fungi from White Turmeric (*Curcuma mangga* Val.) rhizome as a source of L-Asparaginase enzyme for leukemia therapy agent. White Turmeric rhizome was washed with running water then followed by surface sterilization using 70% alcohol for 2 minutes, sodium hypochlorite 5.3% for 5 minutes and 70% alcohol for 1 minute, rinsed with sterile distilled water and dried with sterile filter paper. The sterilized rhizomes were cut in the center transversely about 0.5 cm thick and then grown on Malt Extract agar medium and Potato Dextrose agar medium, incubated at room temperature (25°C) for 2-14 days. Fungi that grow and had a different macroscopic transferred into a reaction tube containing 5 mL Potato Dextrose Yeast and then incubated for 2-14 days at room temperature (25°C). The endophytic fungi grown in Potato Dextrose Yeast were inoculated into the initially grown medium (Malt Extract Agar/Potato Dextrose Agar), incubated at room temperature (25°C) for 2-14 days. The purified fungi were then characterized by macroscopic, microscopic, and biochemical test (starch hydrolysis test, casein hydrolysis test, and fatty acid hydrolysis test). The activity of L-Asparaginase enzyme was tested using Modified Czapek Dox's Agar and incubated at room temperature for 72 hours. Seven isolates of endophytic fungi had been obtained with code isolates M111, M112, M113, M12, P11, P21, and P31. All isolates did not have the activity of the enzyme.

Keywords : leukemia, endophytic fungi, *Curcuma mangga* Val., rhizome, L-Asparaginase

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 Rimpang Tanaman Kunyit Putih (*Curcuma mangga* Val.)”** ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu 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 atas berkat, rahmat, kekuatan dan penyertaan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
2. Papa Hardian Tundjung, mama Indrawati Taruna, kakak Rudyanto Tundjung, dan adik Edwin Gustafianto yang telah mendampingi, mendukung, dan memberikan motivasi serta semangat kepada penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing I dan Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah meluangkan banyak waktu dan tenaga dalam memberikan bimbingan, motivasi, serta arahan yang bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
4. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt. dan Yudi Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol. selaku ketua penguji dan dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun dan bermanfaat dalam perbaikan penyusunan ini.

5. Drs. Kuncoro Foe, G.Dip.Sc., Ph.D., Apt. selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dan Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas segala sarana dan prasarana yang telah disediakan.
6. Catherine Caroline, S.Si., M.Si., Apt. selaku penasehat akademik yang senantiasa memberikan motivasi dan dorongan bagi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
7. Bapak Anto selaku Laboran Lab. Mikrobiologi Farmasi yang telah menyediakan banyak waktu dan tenaga untuk mendukung penulis dalam pengerjaan skripsi ini.
8. Teman-teman Ex O'Stella Crew: Kevin Cornelius, Stella Maris, Maria Anita Wulandari, dan Klara Paulina yang telah menemani dan memberi semangat kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian hingga penyusunan naskah skripsi ini.
9. Teman-teman Sesquiterpen: Vincentius Tio P.W., Johan Waisakti G., Erwin Budiyo The, Ong Cong Shien, Christian Teddy G., Willy Andrianto K., Winda Winarto, Iesyane, Christina Thresdy W., Desy Liyadi, Indry Liong, dan Merlyn Xumara yang telah menjadi sahabat mulai dari awal kuliah hingga saat ini.
10. Rekan-rekan sepejuangan: Winda Winarto, Evi Nurwinda, dan Aprisilia Melyana Sadipon atas bantuan dan motivasinya dalam menyelesaikan penelitian ini.
11. Teman-teman We Are One (BEM-FF 2016/2017) yang telah berjuang bersama-sama dengan saya.
12. Keluarga besar Tundjung dan Taruna yang telah memberikan dukungan kepada penulis selama berkuliah.
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 dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Hipotesis Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Tinjauan tentang Leukemia	8
2.1.1 Definisi Leukemia.....	8
2.1.2 Leukemia Limfoblastik Akut	8
2.2 Tinjauan tentang Mikroba Endofit	12
2.2.1 Fungi Endofit	13
2.3 Tinjauan tentang Isolasi Mikroba Endofit.....	14
2.4 Tinjauan tentang Tanaman Kunyit Putih.....	15
2.4.1 Klasifikasi Tanaman Kunyit Putih.....	15
2.4.2 Makroskopis Rimpang Kunyit Putih.....	16
2.4.3 Mikroskopis Rimpang Kunyit Putih	18
2.4.4 Nama Daerah	19

	Halaman
2.4.5 Cara Budidaya	19
2.5 Tinjauan tentang Enzim L-Asparaginase	20
2.5.1 Klasifikasi Enzim L-Asparagianase	20
2.5.2 Sumber untuk L-Asparaginase	21
2.5.3 Uji Aktivitas Enzim L-Asparaginase	22
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	24
3.1 Jenis Penelitian	24
3.2 Bahan dan Alat Penelitian	24
3.2.1 Bahan Penelitian	24
3.2.2 Alat Penelitian	25
3.3 Metode Penelitian.....	25
3.4 Variabel Penelitian	26
3.5 Tahapan Penelitian	27
3.5.1 Pengambilan Sampel Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	27
3.5.2 Determinasi, Pengamatan Makroskopis dan Mikroskopis Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma manga</i> Val.)	27
3.5.3 Isolasi Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma manga</i> Val.)	28
3.5.4 Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma manga</i> Val.)	28
3.5.5 Karakterisasi Fungi Endofit	29
3.5.6 Penyiapan Media Uji Aktivitas Enzim.....	30
3.5.7 Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit	31

	Halaman
3.6 Analisis Data	31
3.7 Skema Kerja	32
BAB 4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	33
4.1 Hasil Penelitian	33
4.1.1 Determinasi Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	33
4.1.2 Makroskopis dan Mikroskopis Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	33
4.1.3 Isolasi Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	36
4.1.4 Pemurnian Kultur Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma</i> <i>mangga</i> Val.).....	37
4.1.5 Karakterisasi Fungi Endofit	39
4.1.6 Pengujian Aktivitas Enzim L-Asparaginase Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	47
4.2 Pembahasan.....	55
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	63
5.1 Kesimpulan	63
5.2 Saran.....	63
DAFTAR PUSTAKA	64
LAMPIRAN	70

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Makroskopis Rimpang Kunyit Putih	17
2.2 Mikroorganisme Penghasil L-Asparaginase.....	22
4.1 Hasil Pengamatan Makroskopis Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	34
4.2 Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat Fungi	39
4.3 Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat Fungi dengan Perbesaran 10x40	40
4.4 Hasil Pengamatan Uji Biokimia Fungi Endofit dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	47
4.5 Hasil Pengamatan Diameter Isolat M111 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	48
4.6 Hasil Pengamatan Diameter Isolat M112 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	49
4.7 Hasil Pengamatan Diameter Isolat M113 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	50
4.8 Hasil Pengamatan Diameter Isolat M12 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	51
4.9 Hasil Pengamatan Diameter Isolat P11 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	52
4.10 Hasil Pengamatan Diameter Isolat P21 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	53
4.11 Hasil Pengamatan Diameter Isolat P31 dan Diameter Daerah Hidrolisis Setiap 8 Jam	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Morfologi Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	16
2.2 Rimpang Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	17
2.3 Penampang Melintang Rimpang Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	18
2.4 Fragmen Pengenal Serbuk <i>Curcuma mangga</i> Val.....	19
2.5 Reaksi Asparaginase.....	20
3.1 Skema Kerja Penelitian	32
4.1 Pengamatan Makroskopis Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	33
4.2 Pengamatan Mikroskopis Penampang Melintang Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	34
4.3 Sel Minyak (Berwarna Kuning Sindur) Penampang Melintang Rimpang Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.) dengan Media Air	35
4.4 Berkas Pembuluh pada Penampang Melintang Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.) dengan Perbesaran 42,3x10 dengan Media Campuran Kloralhidrat dan Floroglusin HCl	35
4.5 Amilum Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	35
4.6 Trikoma Tipe Non Glanduler-multiseluler pada Penampang Membujur Permukaan Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	36

Gambar	Halaman
4.7	Posisi Penanaman Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.) pada Media <i>Malt Extract Agar</i> dengan 3 Replikasi 36
4.8	Posisi Penanaman Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.) pada Media <i>Potato Dextrose</i> <i>Agar</i> dengan 3 Replikasi 37
4.9	Pengamatan Pertumbuhan Fungi Endofit setelah Inkubasi 5 Hari..... 37
4.10	Kultur Fungi Endofit Murni dari Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.) pada Media <i>Malt</i> <i>Extract Agar</i> untuk Isolat (a), (b), (c) dan Media <i>Potato</i> <i>Dextrose Agar</i> untuk Isolat (d), (e) pada Usia 5 Hari 38
4.11	Hasil Uji Hidrolisa Amilum pada Media <i>Starch Agar</i> 44
4.12	Hasil Uji Hidrolisa Kasein pada Media <i>Skim Milk Agar</i> 45
4.13	Hasil Uji Hidrolisa Lemak pada Media <i>Neutral Red</i> <i>Agar</i> 46
4.14	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat M111 setiap 8 Jam 48
4.15	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat M112 setiap 8 Jam 49
4.16	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat M113 setiap 8 Jam 50
4.17	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat M12 setiap 8 Jam 51
4.18	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat P11 setiap 8 Jam 52

Gambar		Halaman
4.19	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat P21 setiap 8 Jam	53
4.20	Hasil Pengamatan Daerah Hidrolisa Isolat P31 setiap 8 Jam	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
A	Surat Determinasi Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.).....	70
B	Kontrol Sterilisasi Permukaan Rimpang Tanaman Kunyit Putih (<i>Curcuma mangga</i> Val.)	71
C	Kontrol Uji Aktivitas Enzim L-Asparaginase	72
D	Kontrol Perubahan Warna pada Media <i>Modified Czapek</i> <i>Dox's Agar</i> dengan Penambahan Kalium Hidroksida	73