

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT AKAR
TANAMAN LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L.) SEBAGAI SUMBER
PENGHASIL L-ASPARAGINASE**



EVI NURWINDA

2443014128

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT AKAR TANAMAN
LIDAH BUAYA (*Aloe vera* L.) SEBAGAI SUMBER PENGHASIL
L-ASPARAGINASE**

SKRIPSI

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

OLEH:
EVI NURWINDA
2443014128

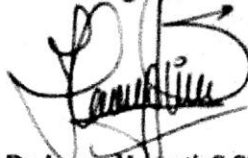
Telah disetujui pada tanggal 12 Desember 2017 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,



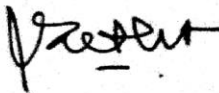
Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt.
NIK. 241.07.0609

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 Akar Tanaman Lidah Buaya *Aloe vera* L. sebagai Sumber Penghasil L-Asparaginase** 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, 21 Desember 2017



Evi Nurwinda
2443014128

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, 21 Desember 2017



Evi Nurwinda
2443014128

ABSTRAK

ISOLASI DAN SKRINING FUNGI ENDOFIT AKAR TANAMAN LIDAH BUAYA (*ALOE VERA L.*) SEBAGAI SUMBER PENGHASIL L-ASPARAGINASE

EVI NURWINDA
2443014128

Terapi enzim L-Asparaginase yang berasal dari mikroorganisme prokariotik menimbulkan reaksi alergi dan hipersensitivitas pada penggunaan jangka panjang. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi fungi endofit dari akar lidah buaya sebagai sumber penghasil enzim L-Asparaginase yang berasal dari mikroorganisme eukariotik yang memiliki efek samping lebih ringan dibandingkan enzim L-Asparaginase yang bersumber dari mikroorganisme prokariotik. Permukaan akar disterilisasi, ditanam pada media *Malt Extract Agar* (MEA) kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7-14 hari, kemudian dilakukan isolasi. Fungi endofit yang sudah murni diamati karakter makroskopis, mikroskopis serta dilakukan uji hidrolisa amilum, uji hidrolisa gelatin dan uji hidrolisa lemak. Uji aktivitas enzim L-asparaginase dilakukan pada media spesifik Czapek Dox's Agar dan diamati daerah hidrolisisnya. Diperoleh tujuh isolat fungi endofit dengan kode isolat antara lain AL-1, AL-2, AL-3, AL-4, AL-5, AL-6 dan AL-7. Empat isolat diantaranya mampu menghasilkan enzim L-Asparaginase, yakni AL-2 dan AL-3 yang diduga merupakan genus *Aspergillus*, AL-4 dan AL-6 yang diduga merupakan genus *Fusarium*. Isolat yang paling poten yakni AL-4 yang mampu menghidrolisis pada masa inkubasi 8 jam dengan rasio daerah hidrolisis sebesar 1,53. Tiga isolat dengan kode AL-1, AL-5 dan AL-7 tidak mampu menghasilkan enzim L-Asparaginase.

Kata Kunci: Fungi Endofit, Akar, *Aloe vera L.*, L-Asparaginase

ABSTRACT

ISOLATION AND SCREENING OF ENDOPHYTIC FUNGI FROM ALOE VERA ROOT AS A SOURCE OF L-ASPARAGINASE

EVI NURWINDA
2443014128

L-Asparaginase enzymatic therapy derived from prokaryotic microorganisms cause allergic reactions and hypersensitivity on prolonged use. This research aims to isolate and characterize root endophyte fungi from *Aloe Vera* as a source of L-Asparaginase enzyme derived from eukaryotic microorganisms that have milder side effects than L-Asparaginase from prokaryotic microorganisms. Surface sterilized root was planted on Malt Extract Agar medium (MEA) then incubated at room temperature for 7-14 day. Fungi that grow and had a different macroscopic was inoculated into Potato Dextrose Yeast (PDY) and then incubated for 7-14 day at room temperature based on difference of macroscopic character. The purified fungi was characterized by macroscopic, microscopic and hydrolysis test (starch hydrolysis test, gelatin hydrolysis test and fatty acid hydrolysis test). The L-asparaginase enzyme activity was tested using Media Czapek Dox's Agar and incubated for 72 hours at room temperature. Seven isolates of endophytic fungi had been obtained with code isolates AL-1, AL-2, AL-3, AL-4, AL-5, AL-6 and AL-7. Four isolates which were capable of L-Asparaginase enzyme, namely AL-2 and AL-3 were thought to be genus *Aspergillus*, AL-4 and 6 thought to be genus *Fusarium*. The most potent isolates was AL-4 that capable of hydrolyzing at the incubation period of 8 hours with hydrolysis ratio 1,53. Three isolates with code AL-1, AL-5 and AL-7 were unable to produce L-Asparaginase

Keyword : Endophytic fungi, Root, *Aloe vera* L., L-Asparaginase

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat, berkat dan anugerah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Isolasi dan Skrining Fungi Endofit Akar Tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) Sebagai Sumber Penghasil L-Asparaginase” yang merupakan salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi di fakultas farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dapat terselesaikan dengan baik.

Skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik juga tidak lepas dari dukungan, bantuan serta doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu rasa terima kasih yang sebesar-besarnya ingin saya sampaikan kepada:

1. Kedua orang tua ayahanda Ramuji dan Ibu Sarining dan keluarga besar tercinta yang selalu memberikan dorongan, masukan, semangat, doa dan kasih sayang sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
2. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D., Apt selaku Rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, atas kesempatan yang diberikan sehingga dapat belajar di Universitas ini.
3. Ibu Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala, serta selaku dosen pembimbing akademik yang memberikan bimbingan dan dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan rangkaian perkuliahan.
4. Ibu Lisa Soegianto, S.Si., M.Sc., Apt selaku pembimbing I dan Dr. Lanny Hartanti, S.Si., M.Si. selaku pembimbing II yang telah bersedia menyediakan waktu dan tenaga, serta memberikan pengarahan, sumbangan pemikiran, dorongan semangat sehingga skripsi ini dapat berjalan dengan baik.

5. Ibu Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt dan Bapak Yudy Tjahjono, B.Sc., M.Sc.Biol. selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran untuk skripsi ini.
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala atas ilmu yang diberikan selama perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
7. Staf Laboratorium Fakultas Farmasi khususnya Pak Anto, Mas Dwi dan Pak Ari yang telah membantu selama skripsi berlangsung sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
8. Materia Medika Indonesia Malang yang telah membantu determinasi tanaman sehingga penelitian dan skripsi berjalan dengan baik.
9. Robert Daniswara, Winda Winarto dan Aprisilia Melyana Sadipun selaku rekan skripsi yang telah membantu sehingga skripsi ini dapat berjalan dengan baik.
10. Sherlynda D.T., Secilia Husun, Sela Talia, Vrisca Gita, Ajeng Prihatiningrat sahabat yang selalu mendukung serta memotivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
11. Semua pihak yang telah memberikan bantuan selama proses penyelesaian skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Semoga hasil penelitian ini dapat memberi pengetahuan dan manfaat bagi masyarakat dan juga bidang kefarmasian. Disadari bahwa skripsi ni masih jauh dari sempurna sehingga mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan skripsi ini.

Surabaya, November 2017

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Hipotesa Penelitian.....	6
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Tanaman Lidah Buaya.....	8
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	8
2.1.2 Morfologi	9
2.1.3 Ekologi dan Penyebaran.....	9
2.1.4 Jenis-jenis Lidah Buaya.....	10
2.1.5 Khasiat dan Kegunaan.....	10
2.1.6 Senyawa Metabolit	11
2.2. Fungi Endofit.....	12
2.3. Manfaat Fungi Endofit	15
2.4. Metaboli Sekunder Fungi Endofit	15
2.5. Isolasi dan Skrining Fungi Endofit.....	16

2.6. Leukemia	17
2.7. L-Asparaginase	20
2.7.1 Klasifikasi Enzim	23
2.7.2 Struktur Enzim	24
2.7.3 Jenis-Jenis	26
2.7.4 Farmakokinetika	28
2.7.5 Indikasi	28
2.7.6 Kontra Indikasi	28

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian	31
3.2. Variabel Penelitian	31
3.2.1 Tahap isolasi	31
3.2.2 Tahap Pengujian	31
3.3. Metodologi Penelitian	32
3.4. Bahan dan Alat Penelitian	32
3.6.1 Bahan-Bahan Penelitian	32
3.6.2 Media Pembenuhan	32
3.6.3 Bahan Lain-lain	33
3.6.4 Alat Penelitian	33
3.5. Tahapan Penelitian	33
3.5.1 Pembuatan Media	33
3.5.1.1 <i>Malt Extract Agar</i> (MEA)	33
3.5.1.2 <i>Potato Dextrose Yeast</i> (PDY)	34
3.5.1.3 Media Uji	34
3.2.2 Sterilisasi dan penanaman akar	35
3.5.3 Pemurnian Fungi Endofit	35
3.5.4 Skrining Aktivitas	36
3.5.5 Karakterisasi Fungi Endofit	36

	Halaman
3.6. Analisis Data	37
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Pemeriksaan Tanaman Lidah Buaya	40
4.1.1 Hasil Determinasi & Makroskopis Lidah Buaya	40
4.1.2 Hasil Pemeriksaan Mikroskopis	40
4.2 Hasil Inokulasi Akar Lidah Buaya	42
4.3 Hasil Isolasi Fungi Endofit.....	44
4.4 Hasil Skrining Uji Potensi L-Asparaginase.....	44
4.5 Karakterisasi.....	56
4.6 Pembahasan.....	62
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA	69
LAMPIRAN	76

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Perbedaan makroskopis Aloe vera L	11
2.2 Farmakokinetika L-Asparaginase	29
3.1 Hasil Pengamatan Ciri Makroskopis Lidah Buaya	42
4.1 Hasil pengamatan uji potensi L-Asparaginase	45
4.2 Hasil pengamatan makroskopis fungi endofit	57
4.3 Hasil pengamatan mikroskopis fungi endofit	57
4.4 Hasil uji biokimia fungi endofit	63

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman lidah buaya	8
2.2 Pembentukan metabolit primer dan sekunder	16
2.3 Mekanisme enzim L-Asparaginase dalam sel tumor	21
2.4 Skema mekanisme reaksi L-asparaginase	21
2.5 Struktur klasifikasi L-Asparaginase.....	24
2.6 Struktur 3D Enzim L-Asparaginase.....	25
2.7 Struktur Sekunder Enzim L-Asparaginase.....	26
2.8 Residu Sisi Aktif Enzim L-Asparaginase	26
3.1 Skema Penelitian	39
3.2 Skema Sterilisasi Akar Lidah Buaya	40
3.3 Skema Uji Aktivitas L-Asparaginase	41
4.1 Tanaman dan Akar Lidah Buaya	40
4.2 Hasil Pengamatan Mikroskopis Akar Lidah Buaya	42
4.3 Sampel Akar Lidah Buaya	43
4.4 Pengamatan Pertumbuhan Fungi Endofit	43
4.5 Kontrol Air Bilasan Terakhir pada Proses Sterilisasi	43
4.6 Hasil Isolasi Fungi Endofit	45
4.7 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-8.....	46
4.8 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-16.....	47
4.9 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-24.....	48
5.0 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-32.....	49
5.1 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-40.....	50
5.2 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-48.....	51
5.3 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-56	52
5.4 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-64	53
5.5 Pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase pada jam ke-72.....	54

5.6 Blangko negatif uji aktivitas enzim L-Asparaginase	56
5.7 Hasil uji hidrolisa amilum pada media <i>Starch Agar</i>	60
5.8 Hasil uji hidrolisa gelatin pada media <i>Gelatin Agar</i>	61
5.9 Hasil uji hidrolisa lemak pada media <i>Neutral Red Agar</i>	62

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Surat Determinasi	77
B Rasio Hambatan Daerah Hidrolisa	78