BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pemanfaatan tanaman sebagai bahan obat sudah sangat banyak namun memiliki keterbatasan, yaitu sulit diperoleh dalam jumlah yang cukup besar. Untuk mendapatkan bahan alam tersebut diperlukan biomassa tanaman dalam jumlah besar dan waktu yang lama untuk memanennya bila tanaman obat tersebut tergolong tanaman musiman. Pengambilan yang berlebih dapat menyebabkan kepunahan tanaman induk, sehingga diperlukan terobosan dalam mengatasi masalah yang ada. Mikroba endofit menjanjikan peluang besar untuk dikembangkan karena organisme renik yang hidup di dalam tanaman ini mampu menghasilkan metabolit sekunder sama seperti inangnya. Hal tersebut dikarenakan terjadi transfer genetik dari inang ke mikroba yang hidup di dalamnya (Kumala, 2014). Pemanfaatan fungi endofit yang merupakan fungi yang tersebar dalam suatu organ atau jaringan seperti daun, ranting atau akar tanaman, mengakibatkan tidak perlu lagi digunakan bagian tanaman dalam jumlah besar untuk penyediaan simplisia. Fungi ini dapat menginfeksi tanaman sehat pada jaringan tertentu dan mampu menghasilkan mitotoksin, enzim serta antibiotika (Purwanto, 2008).

Pemanfaatan mikroba endofit dalam memproduksi senyawa aktif memiliki beberapa kelebihan, antara lain; lebih cepat penanganannya dan hasil dengan mutu seragam, dapat diproduksi dengan skala yang besar tanpa biomassa yang sangat banyak, dan kemungkinan diperoleh komponen bioaktif baru (Susilowati dkk., 1992). Beberapa tahun terakhir ini

penggalian sumber daya antimikroba yang terdapat pada jaringan tanaman mulai banyak mendapat perhatian. Mikroba endofit yang berasal dari rumput telah diaplikasikan untuk keperluan industri dan pertanian, namun masih banyak mikroba endofit belum diketahui karakter dan potensinya (Melliawati, 2006). Kapang endofit dari tanaman obat *Cephalolotaxus mannii, Cephalolotaxus sinensis, Cephalolotaxus hainanensis, Cephalolotaxus oliveri* dan *Cephalolotaxus harringtonia* varietas *nana* yang banyak ditemukan di Cina Selatan dan Thailand Utara menghasilkan harington, homoharingtonin, deksoharingtonin,dan sefalezomin. Saat ini, metabolit sekunder golongan alkaloid ini telah dikembangkan menjadi obat kanker darah (leukemia) di sejumlah rumah sakit.

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 sel darah immatur yang berasal dari sel induk hematopoietik. Sel leukemik tersebut juga ditemukan dalam darah perifer dan sering menginvasi jaringan retikuloendotelial seperti limpa, hati dan kelenjar limfe (McKenzie, 1996; Launder, Lawnicki and Perkins, 2002; Wirawan, 2003). Pengobatan leukimia termasuk kemoterapi, steroid, dan terapi radiasi. Pengobatan kemoterapi merupakan bentuk terapi utama dan pada beberapa kasus dapat menghasilkan perbaikan yang berlangsung sampai setahun atau lebih (Handayani dan Haribowo, 2008). Faktor klinis dan biologi yang menyebabkan terjadinya ALL antara lain: umur (baru lahir hingga ≥10 tahun), jumlah leukosit ($\geq 50 \times 10^9$/L), ras, jenis kelamin, serta T-sel *immunophenotype* (Inaba, Greaves, and Mullighan, 2013). Obat yang digunakan untuk terapi antara lain obat golongan anti tumor, *DNA-Repair enzyme inhibitors*, penghambat sintetis DNA, *DNA damaging agents*, enzim yang mencegah sel untuk hidup, tirosinase kinase *inhibitors*, anti metabolit,

obat yang mencegah pembelahan sel, kortikosteroid dan antibodi monoklonal (Danielle, 2014). Mekanisme kerja kemoterapi yang tidak selektif dan terapi kombinasi menyebabkan toksisitas obat meningkat (Pizzo and Poplack, 2015).

L-asparaginase merupakan enzim terapeutik yang mendominasi sebesar 40% dari seluruh enzim yang dapat digunakan untuk terapi anti leukemia dan anti lymphoma (Warangkar *et al*., 2009). L-asparaginase merupakan protein tetramerik yang mengkatalisis hidrolisis dari L-asparagin menjadi L-aspartat dan ammonia (Jain *et al*., 2012). Mekanisme enzim L-Asparaginase pada sel kanker yaitu, pada sel normal, sel mampu mensintesis asam amino L-Asparagin (N) dengan bantuan enzim asparagin sintetase (AS) (McCredie, Ho and Freireich, 1973). Pada sel kanker, sel tidak mampu mensintesis asam amino L-Asparagin (N) sehingga mensuplai dari ekstraseluler untuk bertahan hidup. Enzim L-Asparaginase menurunkan konsentrasi L-Asparagin, sehingga sel tumor mati akibat kekurangan suplai asam amino asparagin (Siddalingeshwara and Lingappa, 2011).

Erwinia L-asparaginase merupakan obat kemoterapi yang berasal dari bakteri Gram negatif yang berbentuk basil, yakni *Erwinia chrysanthemi.* Pasien yang mengalami reaksi hipersentivitas terhadap L-asparaginase yang berasal dari *E.coli* dapat diterapi dengan Erwinia asparaginase (James *et al*., 1970). Namun *Erwinia* dan *E.coli* Asparaginase memiliki waktu paruh yang lebih pendek serta *clearance* yang tinggi dibanding PEG-L-Asparaginase. PEG-L-Asparaginase merupakan alternatif bagi pasien dengan reaksi hipersensitivitas terhadap L-asparaginase yang berasal dari *E.coli* (Inada *et al*., 1995). PEG-L-Asparaginase terbentuk dari Pegaspargase Asparaginase yang merupakan modifikasi enzim L-asparaginase yang berikatan kovalen dengan monometoksi polietilen glikol (PEG). PEG-L-Asparaginase dapat diberikan setiap 14 hari baik secara intra

muskular (IM), maupun intra vena (IV). Keterbatasan dari penggunaan PEG-Asparaginase yakni sulit terekskresi dalam tubuh. Pada umumnya PEG-asparaginase diekskresi melalui urin atau feses, namun karena berat molekulnya yang besar meningkatkan resiko terakumulasi pada hati (Francesco and Gianfranco, 2005). L-asparaginase merupakan antikanker yang digunakan untuk *lymphoblastic leukemia* (Basker, 2009). Menurut Reynold & Taylor (1993) Enzim L-Asparaginase yang berasal dari bakteri dapat menyebabkan hipersensitivitas, seperti reaksi alergi dan anafilaksis pada penggunaan jangka panjang. Penelitian terhadap sumber enzim L-asparaginase yang berasal dari mikroorganisme eukariotik dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase dengan efek samping yang lebih ringan dibandingkan dengan enzim L-Asparaginase yang berasal dari mikroorganisme prokariotik (Boyse *et al*., 1967). Mikroorganisme eukariotik seperti kapang dan khamir memiliki potensi sebagai sumber enzim L-Asparaginase (Wade *et al*., 1971, Wiame *et al*., 1985, Pinheiro *et al*., 2001). *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Fusarium* telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim L-Asparaginase (De-Angeli *et al*., 1970, Arima *et al*., 1972, Imada *et al*., 1973, Nakahama *et al*., Curran *et al*., 1985).

Berdasarkan penelitian Akinsaya *et al*. (2015) sebesar 41% mikroba endofit ditemukan pada jaringan akar lidah buaya antara lain, *Pseudomonas sp, Bacilus sp, Klebsiella sp, Enterobacteriaceae, dan Bacillaceae*. Sebagian besar bakteri *Pseudomonas sp* mampu menghasilkan L-Asparaginase dan L-Glutaminase secara bersamaan (Groot and Lichtenstein, 1960; Greenberg *et al*., 1964; Ramadan *et al*., 1964; El-Asmar and Greenberg, 1966; Peterson and Ciegler, 1969; Arima *et al*., 1972). Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan uji aktivitas anti fungi dan aktivitas enzim fungi endofit yang telah diisolasi dari daun dan akar tanaman lidah buaya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat fungi endofit dari

tanaman lidah buaya menghasilkan enzim ekstraseluler, antara lain amilase, selulose, kitinase, pektinase, lakase, lipase dan urease. Isolat fungi endofit dari tanaman lidah buaya tersebut memiliki aktivitas anti fungi untuk melawan *Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Colletotrichum falcatum dan Helminthosporium maydis* (Yadav *et al*., 2015) namun belum dilakukan penelitian adanya enzim L-Asparaginase dalam fungi endofit akar lidah buaya. Tanaman lidah buaya yang mudah dijumpai di seluruh Indonesia dan umumnya dibudidayakan sebagai tanaman obat sekaligus tanaman hias ini ini telah banyak dimanfaatkan sebagai olahan makanan dan produk-produk kosmetika. Tanaman lidah buaya mengandung 75 senyawa aktif antara lain antrakuinon, sakarida, vitamin, mineral, lignin, saponin, asam salisilat, enzim, asam amino essensial, asam amino non essensial dan lain-lain. Penggunaan lidah buaya dalam bidang pangan antara lain sebagai bahan minuman, lidah buaya juga banyak digunakan dalam industri kosmetika sebagai bahan serbuk, kapsul, krim, *lotion*, sabun, shampo, pembersih wajah dan penggunaan dengan indikasi yang luas (Hamman, 2008; Haque *et al*., 2012). Kegunaan lain dari lidah buaya yakni mengurangi gula darah pada pasien diabetes, luka bakar, memperlancar pencernaan, mengurangi radang arthtritis, pengobatan tukak lambung, stimulasi imun terhadap sel kanker (Ravi, 2011).

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan skrining fungi endofit dari akar tanaman lidah buaya sebagai sumber penghasil enzim L-Asparaginase serta dilakukan karakterisasi fungi endosfit meliputi makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia. Penelitian dilakukan dengan tujuan mencari sumber penghasil enzim L-asparaginase yang bukan berasal dari bakteri, tetapi fungi endofit dari hasil isolasi akar tanaman lidah buaya. Isolat fungi endofit akan diuji aktivitasnya menggunakan media spesifik Czapex Dox's dengan L-asam amino asparagin, kemudian diamati zona

berwarna merah muda yang menandakan isolat fungi dari akar tanaman lidah buaya mampu menghidrolisis L-asparagin sebagai substrat enzim L-asparaginase. Isolat fungi yang memiliki enzim L-Asparaginase diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim L-Asparaginase sebagai salah satu metode untuk terapi *lymphoblastic leukimia acute* (LLA).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah fungi endofit dapat diisolasi dari akar tanaman Lidah Buaya *(Aloe vera* L.*)*?
2. Apakah fungi endofit dari akar tanaman Lidah Buaya *(Aloe vera* L.*)* memiliki enzim L-asparaginase?
3. Bagaimana karakteristik fungi endofit dari akar tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) yang memiliki maupun yang tidak memiliki enzim L-asparaginase?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi fungi endofit dari akar tanaman Lidah Buaya *(Aloe vera* L.*)*
2. Mengetahui apakah isolat fungi endofit dari akar tanaman Lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki aktivitas enzim L-asparaginase.
3. Mengetahui karakteristik fungi endofit akar tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera* L.) yang memiliki maupun yang tidak memiliki enzim L-asparaginase.

1.4 Hipotesa Penelitian

1. Fungi endofit dapat diisolasi dari akar tanaman Lidah Buaya (*Aloe vera* L.)

2. Fungi endofit yang diisolasi dari akar lidah buaya (*Aloe vera* L.) memiliki enzim L-asparaginase.
3. Karakteristik fungi endofit dari akar tanaman lidah buaya (*Aloe vera* L.) yang memiliki enzim L-asparaginase maupun tidak memiliki enzim L-Asparaginase dapat diketahui.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini, antara lain:

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan senyawa antileukemia dalam bidang farmasi.
2. Data ilmiah yang diperoleh dapat memberikan informasi mengenai sumber penghasil enzim L-Asparaginase.
3. Dengan adanya hasil dari penelitian ini dapat dikembangkan penelitian lanjutan menuju ke arah purifikasi enzim.