

# BAB I

## PENDAHULUAN

### **1.1. Latar Belakang Penelitian**

Leukemia atau kanker darah merupakan penyakit keganasan sel darah yang berasal dari sumsum tulang, ditandai oleh proliferasi sel-sel darah putih, dengan manifestasi adanya sel-sel abnormal dalam darah tepi. Leukosit dalam darah berproliferasi secara tidak teratur dan tidak terkendali, sehingga fungsinya pun menjadi tidak normal. Fungsi-fungsi lain dari sel darah normal juga terganggu karena proses tersebut sehingga menimbulkan gejala leukemia (Permono, 2010).

Leukemia diklasifikasikan berdasarkan galur sel yang terlibat, seperti limfositik atau mielositik, dan sesuai maturitas sel ganas tersebut, seperti akut (sel imatur) atau kronis (sel terdiferensiasi). Terdapat empat jenis leukemia, antara lain leukemia akut dibagi menjadi Leukemia Limfositik Akut (LLA) dan Leukemia Mielositik Akut (LMA), serta leukemia kronis dibagi menjadi Leukemia Limfositik Kronis (LLK) dan Leukemia Mielositik Kronis (LMK) (Muttaqin, 2009). Kasus leukemia banyak terjadi pada kelompok usia anak kurang dari 15 tahun. Dimana kejadian LLA pada kelompok usia anak 5 kali lebih sering terjadi dibanding dengan kejadian LMA (Belson *et al.*, 2007).

Dalam pengobatan leukemia limfositik akut, salah satu agen kemoterapi yang telah menjadi pusat terapi pediatrik adalah asparaginase. Studi pediatrik mendukung penggunaan asparaginase dan beberapa kelompok telah menunjukkan bahwa intensifikasi dosis asparaginase dapat meningkatkan hasil (Kawedia *et al.*, 2014). Enzim L-asparaginase merupakan agen kemoterapi untuk Leukemia Limfositik Akut, penyakit Hodgkin, Leukemia Mielositik Akut, Leukemia Mielomonositik Akut,

Leukemia Limfositik Kronis, terapi limfosarkoma, retikulasarcoma dan melanosarkoma serta kanker mulut rahim dan keganasan hematopoietik lainnya (Borek dan Jaskolski, 2001; Dias *et al.*, 2016; Verma *et al.*, 2007).

Sel-sel leukemia limfositik tidak dapat mensintesis L-Asparagine (Asn) dengan jumlah yang cukup, dan bergantung pada sumber ekstraseluler (Egler *et al.*, 2016). Sel-sel ganas bergantung pada sumber eksogen dari L-Asparagin untuk bertahan hidup (Stecher *et al.*, 1999). Asparaginase mengkatalisis hidrolisis Asparagin menjadi asam aspartat dan amonia, sehingga menurunkan serum Asparagin dan mengurangi jumlah sel-sel leukemia dari Asparagin yang diperlukan untuk sintesis DNA, RNA, dan protein, yang pada akhirnya mengarah pada kematian sel (Egler *et al.*, 2016).

Terdapat tiga formulasi Asparaginase yang banyak digunakan, seperti L-asparaginase dari *Escherichia coli* (*E. coli*) (Elspar®), bentuk pegilasi (Oncaspar®) dan L-asparaginase dari *Erwinia chrysanthemi* (Erwinase®). Namun, ada beberapa faktor pembatas untuk penggunaan L-asparaginase dalam kemoterapi, seperti aktivitas katalitik rendah yang membutuhkan penggunaan konsentrasi tinggi setiap aplikasi, efek toksik, seperti hiperglikemia, penurunan serum albumin, lipoprotein, dan fibrinogen, peningkatan lemak hati dan beberapa disfungsi otak ringan. L-asparaginase yang berasal dari prokariotik dapat menyebabkan hipersensitivitas pada penggunaan jangka panjang, seperti reaksi alergi dan anafilaksis (Dias *et al.*, 2016). Oleh sebab itu diperlukan upaya untuk mencari sumber-sumber baru L-asparaginase yang relatif lebih aman.

Telah banyak dilakukan penelitian terhadap beberapa jenis tanaman yang menghasilkan enzim L-Asparaginase, misalnya bawang bombay, kunyit putih, kacang kapri, dan lain-lain (Setiawan *et al.*, 2013; Arpintasari *et al.*, 2008; Nimkande *et al.*, 2015). Namun, tidak semua jenis tanaman

dapat tumbuh dengan kurun waktu yang cepat. Mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan tersebut. Penelitian mengenai mikroba endofit penghasil L-Asparaginase telah dilakukan oleh Winarto (2017) dari daun tanaman tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) dan berhasil diisolasi 11 fungi endofit yang diduga tergolong dalam genus *Penicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Oidiodendron*, *Pythium*, *Rhizopus*, *Chaetosphaeria*, *Phialophora*, dan *Mycocentrospora*. Kesebelas isolat fungi endofit tersebut memiliki aktivitas enzim L-Asparaginase yang berbeda-beda. Pada pengamatan uji aktivitas enzim L-Asparaginase, setelah inkubasi selama 8 jam hanya dua isolat yang paling cepat menunjukkan kemampuannya memproduksi enzim, yaitu isolat fungi endofit genus *Penicillium* dan *Fusarium* dibandingkan isolat yang lainnya. Isolat fungi endofit genus *Penicillium* dengan kode isolat MC3-2A2 menunjukkan nilai rasio diameter zone index yang cenderung meningkat selama 72 jam pengamatan terhadap pertumbuhan kapangnya sehingga memiliki rasio zone index terbesar. Menurut Shrivastava *et al.* (2010), enzim L-Asparaginase dengan aktivitas (IU/ml) terbesar tidak berasal dari isolat yang memiliki nilai rasio zone index terbesar, tetapi isolat dengan nilai rasio zone index terbesar dapat menghasilkan enzim L-Asparaginase dengan aktivitas yang tidak berbeda bermakna dari enzim L-Asparaginase dengan aktivitas terbesar. Berdasarkan pertimbangan tersebut maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan pola produksi enzim L-Asparaginase oleh isolat fungi endofit genus *Penicillium* dan karakteristik enzim L-Asparaginase yang dihasilkan.

Penelitian ini diawali dengan optimasi isolat fungi endofit yang telah dihasilkan. Selanjutnya isolat fungi endofit yang telah dioptimalkan dilakukan karakterisasi meliputi makroskopik, mikroskopik, dan uji L-Asparaginase. Uji L-Asparaginase dilakukan dengan menumbuhkan isolat

fungi 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. Setelah dipastikan isolat yang disiapkan benar-benar sama karakterisasinya dengan isolat genus terkait dari penelitian sebelumnya, dilanjutkan dengan pembuatan kurva produksi enzim dengan memfermentasikan ke media *Modified Czapek Dox's* (MCD) tanpa agar untuk mengetahui waktu fermentasi optimum, penentuan pH optimum, dan suhu optimum enzim yang diproduksi. Tahap akhir adalah menentukan aktivitas spesifik enzim pada kondisi optimum yang diperoleh. Kadar protein enzim ditentukan menggunakan metode *Bradford* dengan BSA (*Bovine Serum Albumin*) sebagai standar (Bradford,1976). Uji aktivitas enzim ditentukan menggunakan metode *Nessler* (Imada *et al.*, 1973).

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana profil kurva produksi enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)?
2. Berapa suhu optimum dan pH optimum enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.)?
3. Bagaimana aktivitas spesifik enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) pada kondisi optimumnya?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

1. Untuk menentukan profil kurva produksi enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).
2. Untuk menentukan suhu optimum dan pH optimum enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.).
3. Untuk menentukan aktivitas spesifik enzim L-Asparaginase dari isolat fungi endofit genus *Penicillium* yang diisolasi dari daun tanaman tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) pada kondisi optimumnya.

### **1.4. Manfaat Penelitian**

Pada penelitian ini diharapkan dapat diketahui aktivitas enzim, suhu optimum, pH optimum, serta pola atau kurva produksi enzim L-Asparaginase yang berasal dari fungi endofit yang diisolasi dari daun tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) sehingga dapat dimanfaatkan untuk proses awal preparasi enzim untuk pemanfaatan sebagai kandidat bahan terapi Leukemia Limfositik Akut.