

## Uji Sitotoksitas Fraksi Aktif dan Senyawa Murninya yang Dihasilkan oleh Kapang Endofit Tanaman Obat dari Lombok Timur terhadap Sel MCF-7

### (Citotoxic Activity of Active Fraction and Pure Compound Produced by Endophytic Fungi from Lombok Timur Medicinal Plants Against Breast Cancer Cell Line MCF-7)

ERWAHYUNI ENDANG PRABANDARI<sup>1,2\*</sup>, TUN TEDJA IRAWADI<sup>1</sup>, WAHONO SUMARYONO<sup>3</sup>, KHASWAR SYAMSU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Sekolah Pascasarjana IPB, Darmaga, Bogor

<sup>2</sup>Balai Pengkajian Bioteknologi-BPPT, Gedung 630, Kawasan Puspiptek Serpong, Tangerang

<sup>3</sup>Kedeputian Teknologi Agroindustri dan Bioteknologi-BPPT, Jl. MH Thamrin No 10, Jakarta

Diterima 30 September 2011, Disetujui 21 Februari 2012

**Abstrak:** Telah dilakukan penapisan toksisitas 36 fungi endofit dari tanaman obat berasal dari Lombok Timur. Isolat dikultivasi pada 100 mL medium *potato dextrose yeast extract* dalam *Erlenmeyer* 250 mL, suhu 28°C dan kecepatan pengocokan 150 rpm selama 10 hari. Kaldu fermentasi diekstrak menggunakan butanol, etil asetat dan diklorometan. Ekstrak dipekatkan menggunakan konsentrator vakum, diuji sitotoksitasnya terhadap larva *Artemia salina* menggunakan metode BSLT. Penapisan pertama pada konsentrasi 100 mg/L diperoleh 9 ekstrak aktif dari 108 ekstrak uji. Penapisan lanjutan berdasarkan LC<sub>50</sub> menunjukkan bahwa yang paling aktif adalah ekstrak etil asetat dari kapang endofit ENLT 74.3d.2 dengan LC<sub>50</sub> 30,21 mg/L. *Fungus* ini diisolasi dari tanaman *Cibotium barometz*, dan dideskripsikan sebagai *Curvularia lunata*. Ekstrak teraktif difraksinasi menggunakan kolom silica gel 60 dan dielusi secara gradien bertahap menggunakan heksan, etil asetat, dan metanol. Pengujian fraksi-fraksi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi teraktif dengan LC<sub>50</sub> = 4,69 mg/L. Senyawa aktif dimurnikan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi dengan fasa diam C18 dan fasa gerak asetonitril-air secara gradien 15% -100% dalam 25 menit. Senyawa aktif mempunyai waktu retensi 14-16 menit dan serapan maksimum pada  $\lambda = 233$  nm dan pada konsentrasi konsentrasi 5 mg/L mampu menghambat 28 % proliferasi sel MCF-7.

**Kata kunci:** sitotoksitas, *Artemia salina*, BSLT, *Curvularia lunata*, *Cibotium barometz*, MCF-7.

**Abstract:** Screening for citotoxicity has been conducted on 36 endophytic fungi isolated from medicinal plants in East Lombok. Isolates were cultivated in 100 mL potato dextrose yeast extract medium in 250 mL *Erlenmeyer*, incubated at 28°C and shaken in 150 rpm for 10 days. Broth was extracted with butanol, ethyl acetate and dichloromethane. Extracts were concentrated under vacuum concentrator and assayed for citotoxicity against *Artemia salina* using the BSLT method. Screening using 100 mg/L of crude extract showed that 9 extracts were active out of 108 extracts assayed. Further screening based on LC50 showed that the ethyl acetate extract from fungus ENLT 74.3d.2 was the most active with LC<sub>50</sub>=30.21 mg/L. Fungus was isolated from *Cibotium barometz* and described as *Curvularia lunata*. The most active extract was fractionated by column silica gel 60 and eluted using hexane, ethyl acetate, and methanol. These fractions showed that the ethyl acetate fraction was the most active fraction (LC<sub>50</sub> = 4.69 mg/L). Purification was conducted by HPLC using column C18 and eluted by gradient system of acetonitril-water 15% to 100% in 25 minutes. The active compound retention time was 14-16 min,  $\lambda_{max} = 233$  nm, and at 5 mg/L could inhibit 28% MCF-7 cell proliferation.

**Keywords:** cytotoxicity, *Artemia salina*, BSLT, *Curvularia lunata*, *Cibotium barometz*, MCF-7.

\* Penulis korespondensi, Hp. 08161382006  
e-mail: nuni\_28@yahoo.com

## PENDAHULUAN

TANAMAN obat telah dikenal sebagai sumber metabolit sekunder yang bersifat bioaktif. Sejak dari jaman prasejarah hingga era kimia modern sekarang ini terbukti senyawa yang berbasis metabolit tanaman mempunyai peranan yang sangat besar dalam bidang pengobatan. Lebih dari 50% dari senyawa kimia baru yang didaftarkan ke FDA sebagai senyawa anti kanker, anti migrain, dan anti alergi adalah senyawa metabolit tanaman dan turunannya<sup>(1)</sup>. Di Indonesia sendiri telah ada 283 spesies tanaman yang telah diregistrasi ke Badan POM dan digunakan dalam pengobatan tradisional<sup>(2)</sup>.

Penelitian ilmiah juga sudah banyak melaporkan aktivitas tanaman obat yang selama ini digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai bioaktif antikanker. Mengkudu hutan *Morinda elliptica*<sup>(3)</sup>; sesoot *Garcinia picrorrhiza* Miq<sup>(4)</sup> dan sukun *Artocarpus altilis*<sup>(5)</sup> adalah beberapa tanaman obat tradisional yang sudah dibuktikan secara ilmiah mampu menghambat pertumbuhan sel kanker.

Pemilihan tanaman sebagai sumber isolat kapang endofit menjadi faktor yang menentukan untuk mendapatkan mikroba dan senyawa bersifat bioaktif. Tanaman obat menurut Strobel dan Daisy<sup>(6)</sup> adalah salah satu sumber isolat mikroba endofit yang menjanjikan. Tanaman obat yang mempunyai sejarah pemakaian lokal oleh penduduk setempat diyakini mempunyai metabolit sekunder yang spesifik, dan diharapkan menjadi inang bagi kapang endofit yang juga mampu menghasilkan metabolit yang mempunyai aktifitas spesifik. Atas dasar pertimbangan tersebut dalam penelitian ini dipilih tanaman obat yang sudah diketahui sejarah pemakaiannya sebagai sumber isolasi kapang endofit. Disamping jenis tanaman, lokasi tumbuh tanaman juga mempengaruhi kapang endofit yang diperoleh. Tanaman yang tumbuh dengan keragaman hayati tinggi dilaporkan akan mempunyai kemungkinan lebih besar untuk menghasilkan kapang endofit yang spesifik.

Pada penelitian ini telah dilakukan eksplorasi kapang endofit tanaman obat dari beberapa lokasi di Kabupaten Lombok Timur, yang terletak di lereng gunung Rinjani. Daerah ini termasuk dalam kawasan yang mempunyai diversitas baik flora maupun fauna yang merepresentasikan daerah di bagian barat garis Wallacea maupun bagian timur<sup>(7)</sup>. Oleh karena itu Lombok merupakan area yang menarik untuk dijadikan sebagai lokasi pengambilan contoh tanaman obat untuk isolasi kapang endofit. Penapisan bioaktivitas dilakukan terhadap isolat kapang yang berhasil diisolasi. Metode uji biologis umum yang banyak digunakan untuk penapisan awal sifat sitotoksitas suatu senyawa adalah uji kematian larva udang laut atau *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan metode yang

murah dan sederhana dan hasilnya mempunyai korelasi yang positif dengan aktivitas anti tumor<sup>(8)</sup>. Pada tulisan ini dilaporkan hasil penapisan sitotoksitas kapang endofit tanaman obat dari daerah Lombok Timur Nusa Tenggara barat, dan pemurnian awal senyawa aktif.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN. Isolat fungi endofit.** Tiga puluh enam isolat fungi endofit yang digunakan dalam penelitian ini adalah koleksi Balai Pengkajian Bioteknologi, BPPT. Isolat tersebut diisolasi dari beberapa tanaman berkhasiat obat dari kabupaten Lombok Timur, propinsi Nusa Tenggara Barat. Fungi endofit diisolasi dengan metode sterilisasi permukaan mengikuti metode yang dilakukan oleh Tomita<sup>(9)</sup>. Isolat fungi endofit yang sudah tumbuh kemudian dipindahkan ke media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan disimpan dalam gliserol 20% pada suhu -80 °C.

**Hewan uji.** Hewan uji yang digunakan adalah *Artemia salina* Leach, stadium larva. Telur *A. salina* ditetaskan dalam medium air laut buatan (38 g/L) dengan pH 8-8,5 selama 24 jam dibawah sinar lampu TL 18 watt. Telur yang sudah menetas siap digunakan sebagai hewan uji.

**METODE. Fermentasi dan ekstraksi.** Fermentasi isolat diawali dengan pembuatan kultur bibit dengan inokulasi 1 potong kultur fungi pada media PDA ke dalam 20 mL media *Potato Dextrose Yeast* (PDY) di dalam *Erlenmeyer* 100 mL. Inokulum diinkubasi dalam orbital shaker inkubator pada suhu 28°C selama 2 hari dengan pengocokan 150 rpm. Inokulum kemudian digunakan untuk menginokulasi 200 mL media fermentasi di dalam *Erlenmeyer* 500 mL. Kultur fermentasi diinkubasi dalam orbital shaker inkubator pada suhu 28°C selama 7 hari dengan pengocokan 150 rpm. Kaldu fermentasi kemudian diekstraksi dengan menggunakan pelarut n-butanol, etil asetat, serta diklorometan dengan perbandingan volume 1:1. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan tabung sentrifuse yang kemudian dikocok dengan *recipro shaker* dengan kecepatan 300 *stroke*/menit selama 1 jam. Fase organik kemudian dipisahkan dari fase air dan dikeringkan dengan menggunakan sentrifuse konsentrator. Berat ekstrak yang diperoleh untuk masing-masing isolat fungi dan pelarut organik kemudian ditimbang.

Fermentasi untuk fraksinasi dilakukan dengan cara yang sama, tetapi pembuatan inokulum dilakukan dengan 100 mL media PDY dalam *Erlenmeyer* 250 mL. Sedangkan fermentasi dilakukan dengan 1 L media PDY dalam *Erlenmeyer* 2 L.

**Uji bioaktivitas.** Uji bioaktivitas pada penapisan dan fraksinasi dilakukan dengan metode BSLT menurut McLaughlin *et al.*,<sup>(8)</sup> yang dimodifikasi berat ekstrak

yang digunakan. Uji bioaktivitas terhadap senyawa murni dilakukan terhadap biakan sel MCF-7 dengan uji MTT.

**Fraksinasi senyawa aktif.** Pemurnian senyawa aktif diawali dengan kromatografi kolom menggunakan silika gel 60 dan dielusi dengan sistem gradien bertahap yang terdiri dari campuran heksana, heksana-etil asetat 50:50, etil asetat, etil asetat-metanol 50:50 dan metanol. Masing-masing fraksi yang terelusi dipekatkan, ditimbang dan diuji bioaktivitasnya dengan metode BSLT<sup>(8)</sup>. Fraksi dengan aktivitas tertinggi dimurnikan lebih lanjut menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). KCKT yang digunakan adalah HPLC Water 2695, dengan detektor Photo Diode Array (PDA), kolom C18 Puresil (5 $\mu$ ; 4,6x150 mm) volume injeksi 100  $\mu$ L/injeksi dengan kecepatan alir 1 mL/menit, tekanan kolom 1267 psi. Sampel dielusi secara gradien menggunakan asetonitril dan air dengan perbandingan dari 15% sampai 100% dalam 25 menit. Puncak kromatogram yang diduga sebagai senyawa aktif ditampung, dan dipekatkan. Senyawa murni dan fraksi awalnya diuji terhadap sel MCF-7.

**Pengamatan morfologi fungi aktif.** Pengamatan morfologi secara mikroskopik dibawah mikroskop Olympus CX51 dengan perbesaran 1000 kali.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Penapisan awal sitotoksisitas metabolit sekunder kapang endofit.** Untuk dapat mengidentifikasi senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh mikroba perlu dilakukan penapisan. Menurut Vlietinck dan Apers<sup>(10)</sup> penapisan terdiri dari beberapa tahap yaitu: pra penapisan, penapisan, pengawasan dan penapisan sekunder. Pra penapisan dilakukan untuk mendapatkan kandidat senyawa bioaktif dengan cara cepat. McLaughlin *et al.*<sup>(8)</sup> melaporkan bahwa metode pengujian ekstrak terhadap larva udang yang disebut dengan *brine shrimp lethality test* (BSLT) adalah metode pra penapisan untuk aktivitas antikanker. Meyer *et al.*<sup>(11)</sup> melaporkan bahwa suatu ekstrak tanaman dianggap sebagai bioaktif apabila ekstrak tersebut memiliki nilai  $LC_{50}$  lebih kecil atau sama dengan 1000 mg/L, pendekatan yang sama juga dilakukan oleh Amara *et al.*,<sup>(12)</sup> untuk penapisan ekstrak kasar dari tanaman obat.

Berbeda dengan laporan Meyer *et al.*,<sup>(11)</sup> dan Amara *et al.*,<sup>(12)</sup> hasil uji pada konsentrasi 1000 mg/L ternyata semua ekstrak kapang endofit menunjukkan tingkat kematian larva diatas 90%. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pemakaian konsentrasi ekstrak kasar pada konsentrasi 1000 mg/L tidak selektif untuk menapis ekstrak bahan aktif dari kapang endofit. Dari hasil ini dapat ditarik asumsi bahwa bahan aktif dari

Tabel 1. Hasil penapisan awal kapang endofit.

Kode isolat	Butanol	Uji BSLT	
		Etil asetat	Dikloro-metan
ENLT 1.3d	53,33	100,00	10,00
ENLT 6.6d.1	70,00	100,00	13,33
ENLT 8. 2d	13,33	100,00	43,33
ENLT 6.6d.2	-	80,00	90,00
ENLT 11. 4d	86,67	90,00	-
ENLT 11. 5d	76,67	90,00	86,67
ENLT 12. 2d. 1	3,33	26,67	33,33
ENLT 12. 3d. 1	13,33	93,33	16,67
ENLT 7.2d.1	13,33	100,00	13,33
ENLT 12. 3d. 2	26,67	80,00	3,33
ENLT 18.4d. 1	23,33	66,67	36,67
ENLT 18. 4d. 2	43,34	73,34	6,67
ENLT 18. 5d. 2	- 6,67	- 3,33	6,67
ENLT 18. 5d. 1	73,33	66,67	63,33
ENLT 23. 5d	66,67	86,67	3,33
ENLT 24. 3d	76,67	86,67	13,33
ENLT 35. 3d. 2	93,33	93,33	13,33
ENLT 41. 5d	73,33	90,00	46,67
ENLT 20.2d	53,33	73,33	16,67
ENLT 35. 3d. 1	100,00	100,00	3,33
ENLT 39.3d.2	90,00	20,00	3,33
ENLT 40.5d	33,33	26,67	6,67
ENLT 42.8d	23,33	36,67	23,33
ENLT 26. 4d	66,67	96,66	6,67
ENLT 47. 3d	60,00	96,67	16,67
ENLT 47 5d. 1	46,67	93,33	6,67
ENLT 47. 5d. 2	86,67	63,33	13,33
ENLT 49. 3d. 1	30,00	80,00	0,00
ENLT 74. 3d.2	10,00	100,00	13,33
ENLT 101.3d	40,00	100,00	10,00
ENLT 90.4d.2	40,00	26,67	6,67
ENLT 62.4d	60,00	36,67	66,67
ENLT 108.4d.2	60,00	100,00	0,00
ENLT 107.4d	-3,33	36,67	76,67
ENLT 79.2d.1	-3,33	53,33	66,67
ENLT 67.4d.2	10,00	50,00	73,33

ekstrak kasar tanaman konsentrasinya lebih kecil dibandingkan bahan aktif dalam ekstrak kasar fungi. Berdasarkan hasil tersebut penapisan awal bioaktivitas ekstrak kapang dengan metode BSLT dilakukan pada konsentrasi 100 mg/L.

Tabel 1 menunjukkan hasil penapisan bioaktivitas awal kapang endofit pada konsentrasi 100 mg/L. Hasil penapisan menunjukkan 9 ekstrak mampu menyebabkan kematian larva lebih besar dari 90% pada konsentrasi 100 mg/L.

Sembilan ekstrak yang menunjukkan bioaktivitas terdiri dari 8 ekstrak etil asetat dan 1 ekstrak butanol. Hasil penapisan ini menunjukkan bahwa sebagian besar ekstrak bioaktif adalah ekstrak yang disari dengan etil asetat. Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan ekstrak butanol<sup>(13)</sup> dan ekstrak etil asetat<sup>(14,15,16)</sup> dari kapang endofit bersifat bioaktif antikanker. Dari laporan yang sudah dipublikasikan sebelumnya lebih banyak ekstrak etil asetat yang

bersifat bioaktif dibandingkan dengan ekstrak butanol.

**Penapisan sitotoksisitas berdasarkan  $LC_{50}$ .** Analisis median konsentrasi letal ( $LC_{50}$ ) adalah parameter yang lebih teliti untuk penapisan bahan alam dengan metode BSLT. Dalam analisis tersebut ditetapkan konsentrasi dari masing-masing ekstrak yang mampu menyebabkan kematian 50% larva udang yang diuji. Sepuluh ekstrak yang diperoleh dari penapisan awal, dilakukan penapisan lanjutan dengan menetapkan  $LC_{50}$  dari masing-masing ekstrak.

Tabel 2 menunjukkan hasil penapisan berdasarkan  $LC_{50}$  dari 10 ekstrak hasil penapisan awal. Hasil penapisan lanjutan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari ENLT 74.3d.2 merupakan kapang yang mempunyai nilai  $LC_{50}$  terkecil. Nilai  $LC_{50}$  yang menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam ekstrak lebih bersifat toksik terhadap larva *Artemia salina* yang diharapkan juga bersifat toksik terhadap sel kanker nantinya. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari kapang ENLT 74.3d.2 merupakan ekstrak yang paling aktif dan propektif untuk dilakukan pemurnian dan penapisan lebih lanjut. Isolat aktif ENLT 74.3d.2 didepositkan di koleksi kultur Balai Pengkajian Bioteknologi BPPT dan diberi kode BioMCC-FE00283.

Tabel 2. Hasil penapisan lanjutan berdasarkan  $LC_{50}$ .

No	Kode isolat	Pelarut	$LC_{50}$ (mg/L)
1	ENLT 9.3d.1	Etil asetat	57,54
2	ENLT 7.26.1	Etil asetat	66,07
3	ENLT 35.3d.1	Butanol	77,62
4	ENLT 35.3d.2	Etil asetat	79,57
5	ENLT 74.3d.2	Etil Asetat	30,21
6	ENLT 101.3d	Etil asetat	44,60
7	ENLT 108.4d.2	Etil asetat	46,47
8	ENLT 6.6d.1	Etil asetat	58,74
9	ENLT 8.2d	Etil asetat	110,59

Isolat aktif BioMCC-FE00283 adalah isolat yang diisolasi dari tanaman pakis-pakistan (*Cibotium barometz*). Sampai saat ini belum ditemukan publikasi tentang aktivitas kapang endofit yang diisolasi dari tanaman pakis. Tanaman pakis secara tradisional digunakan untuk pengobatan reumatik dan paralisis. Yang *et al.*,<sup>(17)</sup> melaporkan bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak umbi dengan etanol mengandung sterol. Meskipun Yang belum melaporkan khasiat dari senyawa tersebut akan tetapi beberapa penelitian yang lain melaporkan bahwa beberapa sterol mempunyai khasiat sitotoksisitas<sup>(18)</sup>.

**Identifikasi kapang aktif.** Pengamatan di bawah mikroskop terhadap kapang ENLT 74.3d.2



Gambar 1 Morfologi kapang BioMCC FE-00283 dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. (a = konidiofor, b = konidia)

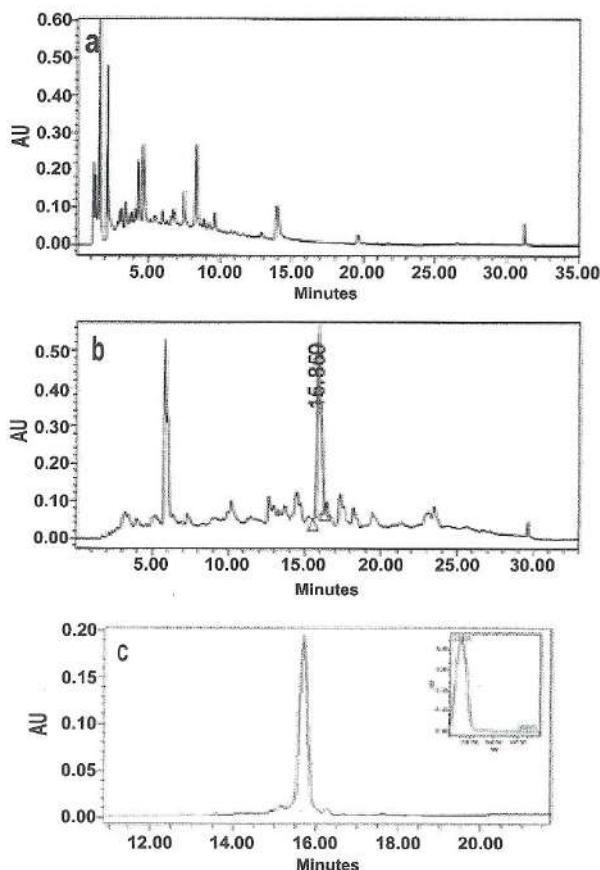
(Gambar 1) menunjukkan bahwa kapang tersebut mempunyai konidiofor (a) yang tegak, berwarna coklat, tidak bercabang dan lurus. Sedangkan konidia (b) berbentuk subelipsoidal yang terdiri dari 4 sekat, dimana sekat kedua merupakan sekat yang paling lebar. Deskripsi tentang kapang tersebut sesuai dengan deskripsi kapang *Curvularia lunata* oleh Watanabe<sup>(19)</sup>. Kapang endofit *C. lunata* pernah dilaporkan berhasil diisolasi oleh beberapa peneliti lain. Kharwar *et al.*,<sup>(20)</sup> melaporkan berhasil mengisolasi *C. lunata* dari tanaman *Catharanthus roseus* (L) G. Don sedangkan Verma dan Kharwar,<sup>(21)</sup> mengisolasinya dari daun nimba.

**Pemurnian senyawa aktif.** Pemurnian senyawa aktif yang dihasilkan oleh kapang endofit BioMCC FE-00283 dilakukan dengan cara kromatografi. Pemurnian awal dilakukan dengan menggunakan kolom kromatografi dengan elusi secara gradien menggunakan pelarut dari non polar ke polar. Untuk mengetahui bioaktivitasnya, masing-masing fraksi diuji terhadap larva *A. salina*. Hasil uji bioaktivitas masing-masing fraksi disajikan dalam Tabel 3.

Tabel 3 Hasil uji sitotoksisitas ekstrak etil asetat dari kapang ENLT 74.3d.2 dan hasil fraksinasinya.

No	Sampel	$LC_{50}$ (mg/L)
1	Ekstrak etil asetat	30,21
2	Fraksi heksana	20,52
3	Fraksi heksana:etil asetat	18,62
4	Fraksi etil asetat	4,69
5	Fraksi etil asetat:metanol	33,29
6	Fraksi metanol	91,61

Hasil uji bioaktivitas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat hasil kromatografi kolom mempunyai aktivitas yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak awalnya. Hal ini menunjukkan bahwa pemisahan senyawa aktif berhasil dilakukan. Hasil uji terhadap fraksi dan ekstrak tersebut diperkuat dengan kromatogram dari ekstrak etil asetat dan fraksi etil asetat (Gambar 2a dan 2b). Hasil uji terhadap *A. salina* juga menunjukkan bahwa fraksi etil asetat adalah



Gambar 2. Kromatogram ekstrak etil asetat (a), fraksi etil asetat (b) dan senyawa aktif (c).

fraksi yang paling aktif dibandingkan fraksi-fraksi yang lain yang menunjukkan bahwa senyawa aktif dari kapang endofit BioMCC FE-00283 bersifat semi polar.

Fraksi etil asetat hasil pemurnian awal dimurnikan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi cair kinerja tinggi. Senyawa hasil pemurnian pada konsentrasi 5 mg/L kemudian diuji terhadap sel kanker (human carcinoma breast MCF-7) (Tabel. 4). Hasil uji penghambatan proliferasi sel menunjukkan bahwa pada konsentrasi yang sama terjadi peningkatan aktifitas penghambatan dari senyawa aktif dibandingkan fraksi aktif. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa aktif dari kapang endofit ENLT 74.3d.2 berhasil dimurnikan dan mempunyai kemampuan menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7. Kemurnian senyawa ditunjukkan dalam Gambar 2c.

Hasil uji penghambatan fraksi etil asetat terhadap proliferasi sel kanker juga menunjukkan bahwa

Tabel 4. Hasil uji hambatan proliferasi sel MCF-7.

Sampel	Penghambatan proliferasi sel MCF-7 (%)
Fraksi aktif (5 mg/L)	8,82
Senyawa aktif (5 mg/L)	28,77
Cisplatin (5 mg/L)	15,95
Cisplatin (10 mg/L)	16,91
Cisplatin (15 mg/L)	26,32

metode BSLT dapat digunakan sebagai uji awal penapisan sitotoksitas seperti yang dilaporkan oleh McLaughlin *et al.*,<sup>(8)</sup>. Tabel 4 juga menunjukkan aktifitas senyawa aktif dari kapang endofit ENLT 74.3d.2 dibandingkan dengan obat antikanker yang sudah beredar dipasaran (Cisplatin). Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif kapang endofit pada konsentrasi yang sama (5 mg/L) mampu menghambat proliferasi sel MCF-7 lebih besar, bahkan saat konsentrasi cisplatin ditingkatkan sampai 16 mg/L daya hambat cisplatin terhadap proliferasi sel MCF-7 masih kecil dibawah daya hambat senyawa aktif pada konsentrasi 5 mg/L. Beberapa peneliti lain juga melaporkan hasil uji terhadap sel MCF-7 dari senyawa aktif kapang endofit yang sudah dimurnikan. Wijeratne *et al.*,<sup>(22)</sup> berhasil memurnikan seskuiterpen quinon dari kapang *Phyllosticta spinarum* kapang endofit tanaman *Platycladus orientalis* yang mempunyai  $IC_{50}$  1,5 mg/L. Sedangkan Zhan *et al.*,<sup>(23)</sup> melaporkan bahwa senyawa *curvularin* yang diisolasi dari *Penicillium sp.*, kapang endofit tanaman *Faglugia paradoxa* mempunyai  $IC_{50}$  sebesar 2,2-3,6 mg/L. Membandingkan hasil-hasil tersebut, senyawa aktif yang dihasilkan oleh kapang endofit ENLT 74.3d.2 mempunyai prospek bagus untuk dikembangkan sebagai anti kanker.

## SIMPULAN

Ekstrak etil asetat dari kapang ENLT 74.3d.2 adalah ekstrak paling aktif dalam uji sitotoksitas terhadap larva *Artemia salina*. Kapang ENLT 74.3d.2 yang diisolasi dari tanaman *Cibotium barometz* terdiskripsi sebagai *Curvularia lunata*.

Fraksi etil asetat adalah fraksi paling aktif dari ekstrak ENLT 74.3d.2 dengan  $LC_{50} = 4,69$  mg/L

Senyawa aktif kapang ENLT 74.3d.2 mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 233 nm, dan mampu menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7 sebanyak 29% pada konsentrasi 5 mg/L.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Cragg GM, Simon JE, Jato JG, Snader KM. Drug

- Discovery and Development at the National Cancer Institute : Potential for New Pharmaceutical Crops. Di dalam Janick J. Progress in New Crops. Arlington: ASHS Press; 1996. 554-60.
2. Pramono E. The Commercial Use of Traditional Knowledge and Medicinal Plants in Indonesia. Multi Stake Holder Dialogue on Trade, Intellectual Property and Biological Resources in Asia. Brajendarapur: BRAC Center for Development Management; 2002. 1-13.
  3. Jasril, Lajis NH, Mooi LY, Abdullah MA, Sukari MA, Ali-AM. Antitumor promoting and antioxidant activities of antraquinones isolated from the cell suspension culture of *Morinda elliptica*. AsPac J Mol Biol Biotechnol. 2003. 11(1):3-7.
  4. Radji M, Sumiati A, Indani N. Uji mutagenitas dan anti kanker ekstrak aseton dan n-heksana dari kulit batang sesoot (*Garcinia picrorrhiza* Miq). Majalah Ilmu Kefarmasian. 2004. 1(2):69-78.
  5. Arung ET, Wicaksono BD, Handoko YA, Kusuma IW, Yulia D, Sandra F. Anti-Cancer Properties of Diethylether Extract of Wood from Sukun (*Artocarpus altilis*) in Human Breast Cancer (T47D) Cells. Tropic J Pharmaceut Research. 2009. 8(4):317-24.
  6. Strobel GA, Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. Microbiol Molec Biol Rev. 2003. 67(4):491-502.
  7. Rhee S, Kitchener D, Brown T, Merrill R, Dilts R, Tighe S. Report in Biodiversity and Tropical Forest in Indonesia. Jakarta:Usaid Indonesia; 2004. 3-77-3-90.
  8. McLaughlin, JL., Rogers LL, Anderson JE. The use of biological assays to evaluate the botanicals. Drug Inform J. 1998. 12:19-25.
  9. Tomita F. Endophytes in Southeast Asia and Japan: their taxonomic and potential applications. Fungal Diversity. 2003. 14:187-204.
  10. Vlietinck AJ, Apers S. Biological screening methods in the search for pharmacologically active natural products. Di dalam: Tringali C, editor. Bioactive compounds from natural sources. Isolation, characterization and biological properties. New York. Taylor & Francis. 2001. 1-29.
  11. Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine Shrimp: A Conviniet General Bioassay for Active Plant Constituents. J Plant Medic. 1982. 45:31-4.
  12. Amara AA, El-Masry MH, Bogdady HH. Plant crude extracts could be the solution: extracts showing in vivo antitumorigenic activity. Pak. J Pharm Sci. 2008. 21(2):159-71.
  13. Kumala S, Utji R, Sudarmono P, Kardono LBS. Isolation of endophytic fungi from *Brucea javanica* L. (Merr) and cytotoxic evaluation of their n-butanol Extract from fermentation broth. Pakistan J Biolog. 2006. 9(5):825-32.
  14. Teles HL, Silva GH, Castro-Gamboia I, da Silva Bolzani V, Pereira JO, et al. Benzopyrans from *Curvularia* sp. and endophytic fungus associated with *Ocotea corymbisa* (Lauraceae). Phytochem. 2005. 66:2363-7.
  15. Guimarães DO, Borges WS, Kawano CY, Ribeiro PH, Goldman GH, Nomizo A., et al. Biological Activities from Extract of Endophytic Fungi isolated from *Viguiera arenaria* and *Tithonia diversifolia*. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008. 52:134-44.
  16. Qin JC, Zhang YM, Gao JM, Bai MS, Yang SX, Laatsch H, Zhang AL. Bioactive metabolite produced by *Chaetomium globosum*, and endophytic fungus isolated from *Ginkgo biloba*. Biorg Medcin Chem Let. 2009. 19:1572-74.
  17. Yang, X., Qi W, Yang SH, Yanjing J. *Cibotium barometz* Studies on the chemical constituents. Nat Prod Res Develpt. 2007. 19(2):302240-43.
  18. Zaremborg, V, Gajate C, Cacharro LM, Mollinedo F, McMaster CR. Cytotoxicity of an Anti-cancer Lysophospholipid through Selective Modification of Lipid Raft Composition. J Bio Chem. 2005. 280 (45):38047-58.
  19. Watanabe, Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi : Morphologies of Cultured Fungi and key to Species. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 2002. 237.
  20. Kharwar, RN., Verma VC, Strobel G, Ezra D. The Endophytic Fungal Complex of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Curr Sci. 2008. 2:228-33.
  21. Verma, VC and Kharwar RN. Efficacy of Neem Leaf Extract gaints It's Own Fungal Endophyte *Curvularia lunata*. J Agr Tech. 2006. 2(2):329-35.
  22. Wijeratne EMK, Turbyville TJ, Fritz A, Whitesell L, Gunatilaka AAL. A new dihydroxanthone from a plant-associated strain of the fungus *Chaetomium globosum* demonstrates anticancer activity. Bioorg Med Chem. 2008. 14(23):7917-23.
  23. Zhan J, Wijeratne EMK, Seliga CJ, Zhang J, Pierson EE, Pierson LS, et al. A New Anthraquinone and Cytotoxic Curvularins of a *Penicillium* sp. from the Rhizosphere of *Fallugia paradoxa* of the Sonoran Desert. J Antibiot 2004. 57(5):341-4.