

Uji Sitotoksik Hasil Fermentasi Kapang Endofit Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Sel MCF-7

SYARMALINA^{1*}, WAN LELY², NAZLIAH LAUPA¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Pancasila,
Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

²Rumah Sakit Darmas Jakarta

Diterima 4 Januari 2007, Disetujui 8 Maret 2007

Abstract: In the development of traditional medicine, there are great demands of medicinal plant. Meanwhile, those demands exceed the capacity of natural resource to provide the raw material. The solution for that problem that has been developed is by utilizing organism that live on plant tissue, which known as endophytic microbe. The preliminary Brine Shrimp Lethality Test based research on the polarity degree of supernatant extracts has proved that it has high toxic activity on *Artemia salina* Leach. Subsequent to that study, a research to examine in vitro cytotoxic effect of supernatant extract fermented from Mahkota Dewa fruit endophytic mould KVM/a and KIVM/b isolate on breast cancer cell has been conducted. Thin layer chromatographic test was performed to identify the patch pattern from each fraction of KVM/a and KIVM/b isolate. Furthermore, preparative thin layer chromatographic test was tested on MCF-7 cell by using neutral red method. The cytotoxic effect was determined based on IC₅₀ value. The results confirm the cytotoxic test effect of semi polar fraction of both isolates on MCF-7 cell with the IC₅₀ value of 36.26 ppm for KVM/a and 30.48 ppm for KIVM/b.

Keywords: cytotoxic test, fermentation, *Phaleria macrocarpa*, endophytic mould, MCF-7 cell, in vitro

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang kaya akan beragam tanaman obat tradisional yang memiliki aktivitas antikanker, di antaranya adalah tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) yang telah digunakan secara empiris oleh masyarakat untuk mengobati penyakit kanker⁽¹⁾. Dalam upaya pengembangan obat tradisional, dibutuhkan jumlah bahan tanaman yang cukup banyak, sedangkan kemampuan sumber daya alam dalam menghasilkan tanaman obat sangat terbatas. Oleh karena itu dicari alternatif lain untuk mempertahankan kelestarian tanaman obat di alam, yaitu dengan memanfaatkan mikroba endofit⁽²⁾.

Kanker merupakan salah satu ancaman utama dalam bidang kesehatan. Di Indonesia, diperkirakan terdapat 100 penderita kanker baru untuk setiap 100.000 penduduk per tahunnya. Menurut hasil Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT), kematian yang disebabkan oleh kanker meningkat dari tahun

ke tahun yaitu 3,4% pada tahun 1980; 4,3% pada tahun 1986; 4,4% pada tahun 1992; dan 5,0% pada tahun 1995. Jenis penyakit kanker yang banyak dijumpai di Indonesia saat ini antara lain kanker payudara, kanker mulut rahim, kanker paru, kanker kulit, dan kanker nasofaring. Informasi terakhir menyatakan bahwa kanker payudara merupakan kanker terbanyak kedua setelah kanker mulut rahim^(1,2).

Beberapa usaha penyembuhan penyakit kanker seperti pembedahan, radioterapi, maupun kemoterapi pada umumnya belum mampu memberikan hasil yang memuaskan karena efek sampingnya yang besar dan biaya yang masih tergolong mahal. Oleh karena itu dicari cara pengobatan alternatif, antara lain dengan obat tradisional⁽³⁾. Mikroba endofit adalah jenis mikroba yang hidup di dalam jaringan suatu tanaman tanpa membahayakan atau merugikan tanaman tersebut⁽⁴⁾. Mikroba endofit dapat diisolasi dari jaringan tanaman dan ditumbuhkan pada medium fermentasi⁽⁵⁾, diduga mikroba endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang sama seperti yang terkandung dalam tanaman inangnya⁽⁶⁾. Hal ini mulai banyak diteliti karena adanya kemungkinan terjadi transfer genetik antara tanaman inang dengan

* Penulis untuk korespondensi, Hp 08161444566,
e-mail: enae4_dpk@yahoo.com

mikroba endofitnya, sehingga diharapkan zat-zat yang bermanfaat pada tanaman juga bisa dihasilkan oleh mikroba endofitnya. Apabila diperoleh mikroba endofit penghasil senyawa bioaktif yang berpotensi, maka proses produksi akan lebih mudah dan tidak merusak lingkungan⁽⁷⁾. Pengembangan akan potensi dan pemanfaatan mikroba endofit dalam proses industrialisasi akan menjadi modal yang berharga bagi perkembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi di Indonesia⁽⁸⁾.

Dari hasil penelitian sebelumnya supernatan hasil fermentasi isolat kapang endofit KVM/a dan KIVM/b yang diisolasi dari buah mahkota dewa terbukti mempunyai efek toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dengan masing-masing nilai LC₅₀ sebesar 18,2537 µg/ml dan 10,5836 µg/ml⁽⁹⁾. Suatu ekstrak tanaman atau senyawa hasil isolasi dinyatakan sangat toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ ≤ 30 µg/ml, toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ ≤ 1000 µg/ml dan tidak toksik apabila memiliki nilai LC₅₀ > 1000 µg/ml⁽¹⁰⁾.

Kemudian juga telah dilakukan uji terhadap ekstrak semipolar supernatan hasil fermentasi isolat KVM/a dan KIVM/b kapang endofit buah mahkota dewa yang didapatkan secara KLT preparatif dengan uji BSLT dan terbukti memiliki aktivitas sangat toksik karena masing-masing memiliki nilai LC₅₀ sebesar 1,4931 µg/ml; dan 1,0337 µg/ml⁽¹¹⁾.

Berdasarkan hasil-hasil penelitian tersebut dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efek sitotoksiknya terhadap sel kanker secara *in vitro*. Pada penelitian ini digunakan sel MCF-7 (sel kanker payudara manusia) karena tingkat kejadian kanker payudara yang tinggi di Indonesia dan pengujian sitotoksik dengan menggunakan sel MCF-7 masih jarang dilakukan.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Supernatan hasil fermentasi isolat KVM/a dan KIVM/b kapang endofit buah mahkota dewa, diekstraksi dengan pelarut semipolar (etil asetat), kemudian ekstrak dievaporasi sehingga didapat ekstrak kental.

Sel MCF-7 (sel kanker payudara manusia), cisplatin (Platosin®), DMSO (dimetil sulfoksida), medium kultur RPMI 1640, FCS (*Fetal Calf Serum*), streptomisin, natrium bikarbonat, dinatrium hidrogen fosfat, kalium dihidrogen fosfat, natrium klorida, kalium klorida, air suling steril, etanol absolut, merah netral, tripsin, biru tripan, SDS (*sodium dodecyl sulphate*), kloroform, metanol, asam asetat, *n*-heksan, etil asetat.

Labu kultur jaringan 25 ml (*Tissue Culture Flask*, Nunclon), pelat kultur jaringan 96 sumuran (*Tissue Culture Plate 96 well*, Nunclon), LAF kabinet (*Laminar Air Flow Biological Safety Cabinet*, Forma Scientific), inkubator sel dengan aliran CO₂ 5% (Forma Scientific), tangki nitrogen cair (Locator JR Thermolyne), alat suntik 3 ml (Terumo), tabung *Eppendorf* 1,5 ml, pipet serologik 10 ml (Falcon), tabung *sentrifuge* (Falcon), alat *sentrifuge* (Porta Centrifuge), penyaring steril berdiameter pori 0,22 µm (Nalgene), mikropipet (*Eppendorf*™), timbangan analitik (Precisa 300 A), pH meter (Meterlab), mikroskop (Nikon SE), mikroskop invertir (Nikon TMS), hemositometer (Improved Neubauer, Superior Marienfeld), ELISA *plate reader* (Stat Fx 2100).

METODE. Kromatografi lapis tipis preparatif (KLT preparatif). KLT preparatif dilakukan pada lempeng kaca dengan penyerap silika gel GF₂₅₄. Ekstrak ditotolkan dalam bentuk pita kemudian dieluasi dengan eluen (*n*-heksan-etil asetat-metanol = 7 : 2 : 1), setelah dieluasi lempeng dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Kromatogram berbentuk pita ditandai, kemudian dikerok dan diekstraksi dengan pelarut yang sesuai, masing-masing filtrat diuapkan sampai diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan larutan uji. Masing-masing ekstrak kental ditimbang, kemudian dilarutkan dalam DMSO. Encerkan dengan medium RPMI 1640 sehingga didapat larutan stok 2000 bpj kemudian dari larutan stok tersebut dibuat larutan uji dengan konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 bpj.

Pembuatan larutan kontrol positif. Larutan induk cisplatin dengan konsentrasi 1 mg/ml diencerkan dengan medium RPMI 1640 hingga didapat satu seri konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 bpj.

Pembuatan larutan blanko DMSO. Larutan DMSO dipipet sebanyak 100 µl, tambahkan 900 µl medium RPMI 1640, didapat konsentrasi 10%, kemudian diencerkan dengan medium RPMI 1640 hingga didapat satu seri konsentrasi 2,5; 5; dan 7,5%.

Pencairan sel MCF-7 (Thawing). Tabung yang berisi sel dikeluarkan dari tangki nitrogen cair, kemudian dibenamkan dalam penangas air suhu 37°C selama beberapa saat hingga mencair. Seluruh cairan sel dipipet kemudian dimasukkan ke tabung sentrifus dan tambahkan 5 ml medium RPMI 1640 kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit, supernatan dibuang dan pellet disuspensikan dalam 6 ml medium RPMI 1640 yang mengandung FCS 20%. Masukkan ke dalam

labu kultur, lalu diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ selama 1 hari.

Sub kultur. Kultur sel yang telah diinkubasi selama 1 hari dicuci dua kali dengan 6 ml PBS sambil di goyang-goyangkan, kemudian tambahkan 3 ml PBS dan 1 ml tripsin (untuk melepaskan sel-sel yang melekat pada dasar labu kultur), inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂. Tambahkan 1 ml medium RPMI 1640 ke dalam labu kultur, setelah itu seluruh cairan sel di dalam labu kultur dipipet dan dipindahkan ke dalam tabung sentrifus kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pellet disuspensikan dalam 6 ml medium RPMI 1640 yang mengandung FCS 10%. Suspensi sel dibagi menjadi dua bagian dan dimasukkan ke dalam dua labu kultur yang baru. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ sampai tingkat kepadatannya baik, yaitu jika sel telah memenuhi seluruh permukaan labu kultur.

Perhitungan kepadatan sel MCF-7. Kultur sel dicuci dua kali dengan PBS 6 ml sambil digoyang-goyangkan, kemudian tambahkan 3 ml PBS dan 1 ml tripsin 0,25% (untuk melepaskan sel-sel yang melekat pada dasar labu kultur), inkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator CO₂ selama 10 menit. Tambahkan 1 ml medium RPMI 1640 ke dalam labu kultur. Setelah itu seluruh cairan sel di dalam labu kultur dipipet dan dipindahkan ke dalam tabung sentrifus, lalu sentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Supernatan dibuang dan pellet disuspensikan dalam 1 ml medium RPMI 1640.

Kepadatan sel dihitung menggunakan hemositometer, yaitu dengan mencampurkan 100 µl suspensi sel dengan 900 µl larutan biru tripan, kocok hingga homogen dan ambil sebanyak 10 µl, masukkan ke dalam hemositometer untuk dihitung.

Kepadatan sel dihitung dari jumlah rata-rata sel dalam keempat bidang besar dikalikan faktor pengenceran dibagi volume satu bidang besar.

$$\text{Kepadatan sel} = \frac{\text{rata-rata jumlah sel} \times 10}{10^{-4} \text{ ml}}$$

Perhitungan penyediaan suspensi sel MCF-7.

Suspensi sel, digunakan untuk uji sitotoksik yaitu untuk mengisi pelat kultur jaringan sebanyak 96 sumuran dengan tiap sumur berisi 100 µl suspensi sel dengan kepadatan 30000 sel/ml. Maka perlu dibuat suspensi sel dengan perhitungan sebagai berikut:

$$P_1 \cdot V_1 = P_2 \cdot V_2$$

Keterangan: P₁: kepadatan sel hasil perhitungan, V₁: volume suspensi sel yang akan diambil, P₂: kepadatan sel yang dikehendaki, V₂: volume total suspensi sel yang akan diisikan ke dalam sumur uji.

Uji sitotoksik terhadap sel MCF-7. Ke dalam pelat kultur jaringan 96 sumuran dimasukkan 100 µl suspensi sel. Inkubasi selama 24 jam dalam inkubator CO₂ suhu 37°C. Setelah 24 jam, tambahkan masing-masing 100 µl larutan uji, blanko DMSO dan larutan kontrol positif cisplatin ke dalam masing-masing sumuran yang telah ditentukan. Kontrol ada tiga, terdiri dari kontrol DMSO (sel + medium + DMSO), kontrol positif (sel + medium + cisplatin), dan kontrol negatif (sel + medium). Inkubasi kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂ suhu 37°C. Setelah 24 jam, medium kultur dalam tiap sumur dibuang, kemudian tambahkan 200 µl larutan merah netral 0,02 % ke dalam tiap sumur.

Inkubasi kembali dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 2 jam. Setelah 2 jam, larutan merah netral dalam tiap sumur dipipet dan dibuang, lalu tiap sumur dicuci dengan 200 µl PBS. Selanjutnya ke dalam tiap sumur ditambahkan 200 µl larutan SDS 1%, kemudian diinkubasi kembali dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C selama 30 menit. Setelah 30 menit ukur serapannya menggunakan ELISA plate reader pada panjang gelombang 562 nm.

Pengolahan data. Untuk mengetahui berapa besar persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7, dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$P = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan: P: Persentase penghambatan proliferasi sel, A: Absorbansi sel hidup pada kontrol, B: Absorbansi sel hidup pada perlakuan.

Data persentase penghambatan proliferasi sel diolah dengan menggunakan analisis regresi linier untuk mendapatkan nilai IC₅₀.

Analisis data hasil percobaan dilakukan dengan metode analisis varian satu arah (ANOVA) dengan bantuan SPSS 12,0 for windows.

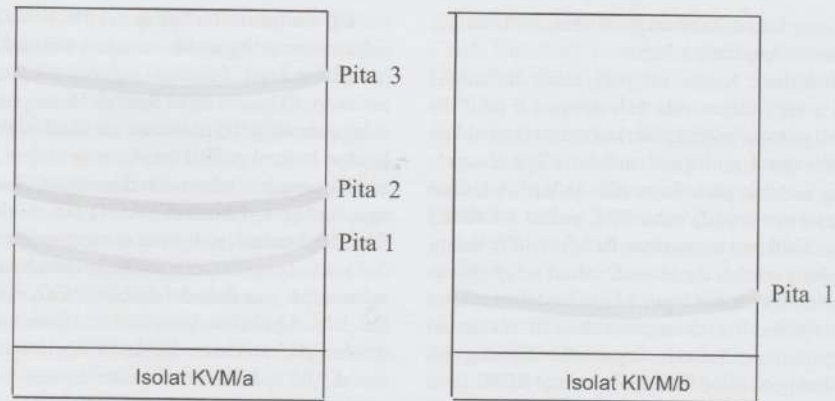
H₀ = tidak ada perbedaan yang bermakna

H₁ = ada perbedaan bermakna

Jika F_{hitung} < F_{tabel}, maka hipotesis H₀ diterima yang berarti tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Sebaliknya jika F_{hitung} > F_{tabel}, maka hipotesis H₀ ditolak yang berarti menunjukkan perbedaan bermakna, analisis kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), sehingga dapat lebih jelas diketahui perlakuan mana saja yang mempunyai perbedaan yang bermakna atau tidak antara kelompok satu dengan yang lainnya⁽¹²⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Masing-masing pita nomor 1 dari isolat KVM/a dan KIVM/b dikerok kemudian diekstraksi dengan



Gambar 1. Kromatogram KLT Preparatif fraksi semi polar dibawah sinar UV 366 nm.

etil asetat, ekstrak yang diperoleh diuapkan sehingga diperoleh ekstrak kental dari fraksi semipolar yang selanjutnya diuji dan dibandingkan efek sitotoksiknya terhadap sel kanker secara *in vitro*.

Uji sitotoksik terhadap sel MCF-7. Pada tabel 3 terlihat bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ dan diperoleh signifikansi 0,000 yang berarti ada perbedaan bermakna pada data persen penghambatan proliferasi sel MCF-7 antar kelompok perlakuan. Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT), sehingga dapat lebih jelas diketahui perlakuan mana saja yang mempunyai perbedaan yang bermakna atau tidak antara kelompok satu dengan yang lainnya.

Hasil uji BNT menunjukkan bahwa antara

kontrol positif dengan isolat KIVM/b, KVM/a dan blanko DMSO terdapat perbedaan yang bermakna pada data persen penghambatan proliferasi sel MCF-7. Antara isolat KIVM/b dengan isolat KVM/a tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada data persen penghambatan proliferasi sel MCF-7. Antara blanko DMSO dengan isolat KVM/a dan isolat KIVM/b terdapat perbedaan yang bermakna pada data persen penghambatan proliferasi sel MCF-7.

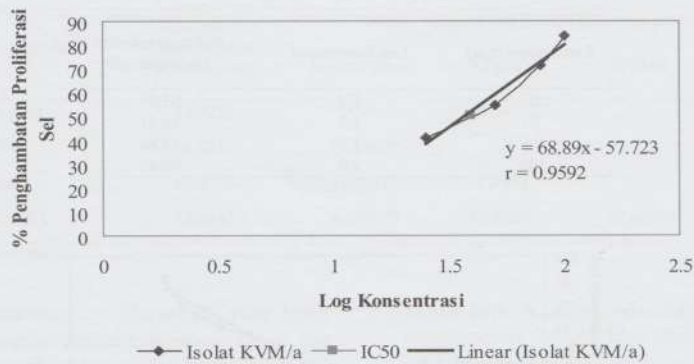
Berdasarkan hasil KLT preparatif, dipilih fraksi semi polar dari isolat KVM/a dan KIVM/b, kemudian bercak pita biru pada UV 366 nm dikerok dan diekstraksi dengan etil asetat yang selanjutnya diuji efek sitotoksiknya terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*.

Tabel 1. Hasil KLT preparatif

Isolat	Pita	Warna	hRf (mm)
KVM/a	1	Biru muda	16,3
	2	Hijau muda	35,0
	3	Biru muda	80,0
KIVM/b	1	Biru muda	13,8

Tabel 2. Hasil uji sitotoksik fraksi semi polar dari isolat KVM/a terhadap sel MCF-7

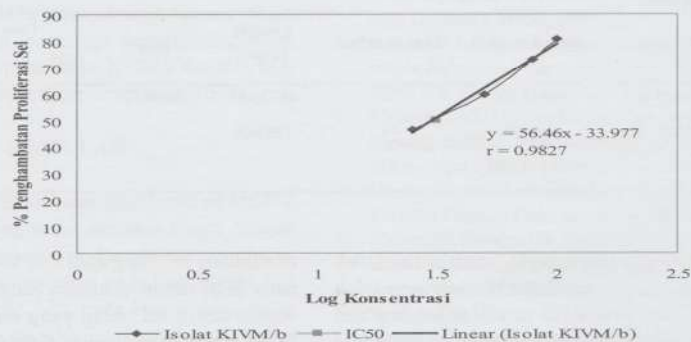
Konsentrasi (bpj)	Log konsentrasi	% Penghambatan proliferasi sel	Nilai IC_{50} (bpj)
25	1,4	41,24	36,26
50	1,7	54,92	
75	1,9	71,48	
100	2,0	83,70	



Gambar 2. Grafik hubungan antara log konsentrasi fraksi semi polar isolat KVM/a dengan persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7.

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik fraksi semi polar dari isolat KIVM/b terhadap sel MCF-7

Konsentrasi (bpj)	Log konsentrasi	% Penghambatan proliferasi sel	Nilai IC ₅₀ (bpj)
25	1,4	46,45	30,48
50	1,7	59,39	
75	1,9	72,84	
100	2,0	80,63	



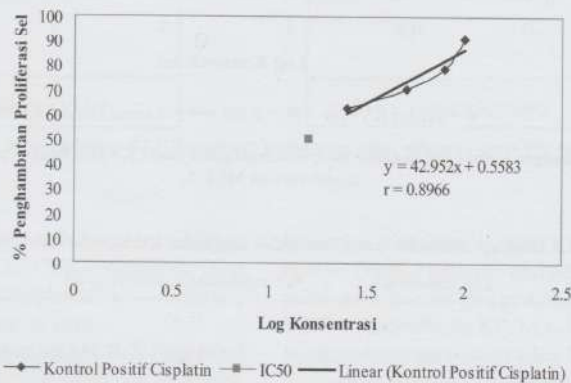
Gambar 3. Grafik hubungan antara log konsentrasi fraksi semi polar isolat KIVM/b dengan persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7

Uji sitotoksik secara *in vitro* lebih cepat, murah, dan hanya membutuhkan sedikit bahan uji jika dibandingkan dengan pengujian secara *in vivo* dan juga dapat membatasi penggunaan banyak hewan percobaan⁽¹³⁾. Pada penelitian ini digunakan sel MCF-7 (sel kanker payudara) karena tingkat kejadian kanker payudara yang tinggi di Indonesia dan pengujian sitotoksik dengan menggunakan sel MCF-7 masih jarang dilakukan.

Sebelum dilakukan pengujian, terlebih dahulu dilakukan perhitungan jumlah kepadatan sel. Jumlah kepadatan sel yang dikehendaki adalah 30000 sel/ml, karena pada kepadatan tersebut pertumbuhan sel telah mencapai fase log, pada fase ini sel dalam keadaan aktif dengan tingkat pertumbuhan yang tinggi, sehingga merupakan waktu yang tepat untuk melakukan *sampling*⁽¹³⁾. Kepadatan sel dihitung pada hemositometer menggunakan pewarna biru tripan.

Tabel 4. Hasil uji sitotoksik kontrol positif cisplatin terhadap sel MCF-7

Konsentrasi (bpj)	Log konsentrasi	% Penghambatan proliferasi sel
25	1,4	62,83
50	1,7	70,41
75	1,9	78,84
100	2,0	90,82



Gambar 4. Grafik hubungan antara log konsentrasi kontrol positif cisplatin dengan persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7.

Tabel 5. Ringkasan ANOVA dari kelompok perlakuan terhadap persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7.

Sumber varian	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Kuadrat tengah	F _{hitung}	F _{tabel}		Sig.
					0,05	0,01	
Kelompok perlakuan	14618,062	3	4872,687	26,472	2,82	4,26	0,000
Galat percobaan	8098,907	44	184,066				
Total	22716,969	47					

Cara ini pelaksanaannya cepat, mudah, dan tidak memerlukan banyak peralatan⁽¹⁴⁾. Sel yang telah diberi perlakuan, diamati di bawah mikroskop dan terlihat bahwa sel yang hidup melekat pada dinding sumur dan berbentuk seperti beras, sedangkan sel yang mati mengambang di atas permukaan medium dan berbentuk serpihan yang berwarna hitam. Selanjutnya ditambahkan pewarna merah netral yang merupakan pewarna yang dapat berpenetrasi ke dalam membran sel dan akan terakumulasi dalam lisosom sel yang hidup⁽³⁸⁾. Proses ini memerlukan waktu inkubasi selama 2 jam agar semua sel yang hidup dapat terwarnai dengan sempurna. Setelah itu medium dibuang, kemudian tiap sumuran dicuci dengan larutan PBS untuk membuang sisa merah netral yang tidak terpakai untuk mewarnai sel dan

membuang sel yang mati dan sudah tidak melekat pada dasar sumur, sehingga yang terdapat di dalam sumur hanya sel hidup yang telah terwarnai dan melekat pada dasar sumur. Setelah itu ditambahkan larutan SDS untuk melisiskan sel sehingga merah netral yang telah terikat pada sel akan keluar, kemudian diukur serapannya menggunakan ELISA plate reader pada panjang gelombang 562 nm.

Grafik hubungan antara log konsentrasi fraksi semi polar isolat KVM/a dan KIVM/b, kontrol positif cisplatin dan blanko DMSO dengan persen penghambatan proliferasi sel menunjukkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi maka persen penghambatan proliferasi sel juga meningkat. Akan tetapi ada hasil yang menyimpang, seperti pada isolat KIVM/b pada konsentrasi 100 bpj memberikan

Tabel 6. Uji beda nyata terkecil (BNT)

Kelompok perlakuan	Rata-rata % penghambatan proliferasi sel	Selisih nilai rata-rata % penghambatan proliferasi sel			
		Kontrol positif	KIVM/b	KVM/a	Blanko DMSO
Kontrol positif	76,1250	-	-	-	-
KIVM/b	64,8275	11,2975*	-	-	-
KVM/a	62,8333	13,2917*	1,9942	-	-
Blanko DMSO	29,3642	46,7608*	35,4633*	33,4691*	-

* ada perbedaan bermakna

persen penghambatan proliferasi sel yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 75 bpj, dan pada kontrol positif cisplatin pada konsentrasi 75 bpj memberikan persen penghambatan proliferasi sel yang lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 50 bpj (Tabel 2). Hal ini mungkin disebabkan karena jumlah sel yang terdapat dalam setiap sumuran tidak sama, atau disebabkan karena menempelnya larutan sampel pada dinding sumuran, sehingga tidak terjadi kontak dengan sel.

Nilai IC_{50} diperoleh dari analisis regresi linier antara log konsentrasi kelompok perlakuan dengan persen penghambatan proliferasi sel MCF-7. Menurut Mans *et al.*⁽¹⁵⁾ suatu ekstrak tanaman atau senyawa hasil isolasi dinyatakan memiliki efek sitotoksik jika nilai $IC_{50} \leq 50$ bpj⁽¹⁴⁾. Pada penelitian ini didapatkan nilai IC_{50} dari fraksi semi polar isolat KVM/a dan KIVM/b berturut-turut sebesar 36,26 bpj dan 30,48 bpj. Sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi semi polar isolat KVM/a dan KIVM/b memiliki efek sitotoksik terhadap sel MCF-7.

SIMPULAN

Persentase penghambatan proliferasi sel MCF-7 pada masing-masing isolat semakin tinggi dengan meningkatnya konsentrasi. Persentase penghambatan proliferasi sel tertinggi pada konsentrasi 100 bpj yaitu sebesar 83,70% pada Fraksi semi polar isolat KVM/a dan 80,63% pada semi polar isolat KIVM/b.

Fraksi semi polar dari isolat KVM/a dan KIVM/b menunjukkan efek sitotoksik terhadap sel MCF-7 dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 36,26 bpj dan 30,48 bpj.

DAFTAR PUSTAKA

- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia harper. Edisi 22. Diterjemahkan oleh Hartono Andry. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 1995. hal. 791-3, 796.

- Tapan Erik. Kanker, antioksidan dan terapi komplementer. Jakarta: Elex Media Komputindo; 2005. hal. 40-61.
- Sugiyanto, Sudarto, Edy M, Agung EN. Aktivitas anti karsinogenik senyawa yang berasal dari tumbuhan. Majalah Farmasi Indonesia 2003;14(3):132-41.
- Harmanto N. Mahkota dewa: Obat pusaka para dewa. Jakarta: Agromedia Pustaka; 2005. hal. 9-13.
- Maksum. R. Peranan bioteknologi dan mikroba endofit dalam pengembangan obat herbal. Jurnal farmasi ui [serial online]. Desember 2005;2(3):113-26. Diambil dari: <http://www.jurnal.farmasi.ui.ac.id/pdf/2005/vo2no3/maksum0203%5B1%5D.pdf>. Diakses 24 Februari, 2006.
- Petrini O, Sieber TN, Toti L, Viret O. Ecology, metabolite production, and substrate utilization in endophytic fungi. Natural Toxins 1992;1:185-96.
- Pengakuan untuk pemburu mikroba. Diambil dari: <http://www.lipi.go.id/www/www.cgi?baca&1077973061.htm>. Diakses 1 Maret, 2006.
- Wahyudi P. Isolasi mikroorganisme endofit tanaman tropis Indonesia. Laporan Teknis. Jakarta:BPPT 1997; 1-6.
- Wulandari AS. Uji pendahuluan metabolit sekunder kapang endofit buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl) dengan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) [skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2005.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE, McLaughlin JL. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. Drug Information Journal 1982;45:31-4.
- Verawati. Uji toksisitas supernatan hasil fermentasi isolat KVM/a dan KIVM/b kapang endofit buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) secara *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila; 2006.
- Darling DC, Morgan SJ. Animal cells culture and media essential data. Chichester: John Wiley and Sons; 1994.
- Freshney I. Culture of animal cells: A manual of basic technique. 3rd ed. New York: Wiley-Liss Inc; 1994. hal. 85-8, 154-5, 260-70, 287.

14. Wilson AP. Cytotoxicity and viability assays. Dalam: Masters JRW, editor. *Animal cell culture: A practical approach*. 3rd ed. New York: Oxford University Press; 2000. hal. 263, 264, 272.
15. Mans Denis RA, Adriana B Da Rocha, Gilberto S. Anticancer drugs discovery and development. Targeted plants collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compound. The