

## Kajian aktivitas antibakteri, antioksidan, dan sitotoksik fungi endofit genus *Fusarium sp.* isolat daun meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.)

**Rollando, Martanty Aditya, Dion Notario, Eva Monica, Rehmadata Sitepu**  
Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang,  
Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

Submitted: 17-01-2017

Reviewed: 27-03-2017

Accepted: 12-04-2017

### ABSTRAK

Fungi endofit dimanfaatkan sebagai sumber daya baru untuk menghasilkan senyawa bioaktif seperti antibakteri, antioksidan dan antikanker. Penelitian ini bertujuan menganalisis daya antibakteri, antioksidan, sitotoksik fraksi hasil pemisahan ekstrak etil asetat dari miselium fungi endofit genus *Fusarium sp.* Fraksi dietil eter menunjukkan aktivitas antibakteri yang tinggi dengan nilai  $IC_{50}$  pada bakteri *E.coli* (20,75  $\mu\text{g/mL}$ ), *S.typhi* (35,08  $\mu\text{g/mL}$ ), dan *S.aureus* (51,96  $\mu\text{g/mL}$ ). Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa fraksi etanol 96% mempunyai aktivitas antioksidan dan kandungan fenolik total yang paling tinggi (75,85  $\pm$  0,11 mg GAE). Uji sitotoksik pada sel kanker payudara jenis T47D menunjukkan fraksi dietil eter mempunyai aktivitas tertinggi dengan  $IC_{50}$  sebesar 10,16 $\pm$ 0,88  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan fraksi n-heksan dan etanol.

**Kata kunci:** antibakteri, antioksidan, fungi endofit, kandungan fenolat total, sitotoksisitas

### ABSTRACT

Endophytic fungi used as a new resource to produce bioactive compounds such as antibacterial, antioxidant and anticancer. This study aimed to analyze the antibacterial, antioxidant, cytotoxic fraction from separation ethyl acetate extract of mycelium of endophytic fungi genus *Fusarium sp.* Diethyl ether fraction showed high antibacterial activity in *E.coli* (20.75  $\mu\text{g/mL}$ ), *S.typhi* (35.08  $\mu\text{g/mL}$ ), and *S.aureus* (51.96  $\mu\text{g/mL}$ ). Test showed that the antioxidant activity of ethanol 96% fraction has highest antioxidant activity and total phenolic content (75.85  $\pm$  0.87 mg GAE). Cytotoxic test on T47D breast cancer cells showed that the fraction of diethyl ether have highest activity with  $IC_{50}$  of 10.16  $\pm$  0.88  $\mu\text{g/mL}$  compared to n-hexane and ethanol fraction.

**Keywords:** antibacterial, antioxidant, cytotoxic, endhophyte, total phenolic.

---

#### Penulis Korespondensi:

Rollando

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang

Villa Puncak Tidar N-01, Malang 65151

Email: ro.llando@machung.ac.id

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara tropis yang kaya akan plasma nutfah tidak ternilai. Menurut Dewoto (2007), Indonesia memiliki lebih kurang 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies merupakan tumbuhan berkhasiat obat yang dapat dijadikan sumber isolat jamur endofit. Salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang memiliki banyak manfaat adalah tumbuhan meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.). Colpo *et al.*, (2014) menyatakan bahwa tumbuhan meniran dapat digunakan sebagai obat infeksi saluran kemih, imonomodulator, antiinflamasi, dan antiviral. Tanaman ini mengandung senyawa-senyawa yang berkhasiat antara lain lignan, glikosida, alkaloid, elagitanin, terpen dan fenilpropanoid, flavonoid dan polifenol, seperti kuersetin.

Mikroba endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikro (bakteri dan fungi) yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang (Strobel, 2003). Fungi endofit menghasilkan berbagai senyawa yang memiliki aktivitas biologi, antara lain alkaloid, terpenoid, fenolik, dan sebagainya (Tan dan Zou, 2001). Fungi endofit dapat menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif misalnya senyawa antioksidan, antikanker, antibakteri, antivirus, antifungi, antimalaria dan sebagainya (Kharwar *et al.*, 2009). Penelitian ini diharapkan dapat memperjelas dan memberikan informasi ilmiah tentang aktivitas fraksi n-heksan, dietil eter, dan etanol dari ekstrak etil asetat yang diambil dari sel fungi endofit genus *Fusarium sp.* yang diisolasi dari daun meniran (*Phyllanthus niruri* Linn.) sebagai antioksidan, antibakteri, dan sitotoksik secara *in vitro*.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu *vial*, tabung ependorf, otoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd.), kotak aseptis, cawan petri, Öse, *plug*, *shaking incubator*, *paper disc*, *microtiter plate 96-well*, mikropipet, inkubator (Sakura, Jepang), oven, dan alat gelas, neraca analitik (BP221S, Scaltec SBC 22, BP 160P), *Laminar Air Flow cabinet* (FARRco), *vortex (junke & kunkel)*, spektrofotometer UV-VIS, *vacuum rotary evaporator (Junke dan Kunkel)*, *waterbath* (labo-tech, Heraceus), shakker. Bahan utama yang digunakan adalah fungi endofit genus *Fusarium sp.* yang telah diisolasi dari daun meniran, Muller Hinton, PDB (*Potato Dextrose Broth*), PDA (*Potato Dextrose Agar*), NA (*Nutrient Agar*), dan NB (*Nutrient Broth*). Mikroba uji *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 15433, *Salmonella thypi* ATCC 23452, dan kontrol positif streptomisin. Lempeng *silica gel F<sub>254</sub>* (E.Merck, Jerman), dan silika gel 60 untuk kromatografi kolom. Asam galat, vitamin C, pelarut ekstraksi etil asetat kalium ferisianid, E. Merck, Darmstat, Jerman), dan fase gerak untuk pemisahan dan pemurnian air suling metanol, n-heksana, kloroform. Pelarut fraksinasi n-heksana, dietil eter, dan etanol. Hidrogen peroksida, dapar, fosfat, potassium, ferisianida, FeCl<sub>3</sub>. Kultur sel T47D ditumbuhkan pada media kultur DMEM *high glucose (Dulbecco's Modified Eagle Media)* (Gibco) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (FBS Qualified, Gibco, Invitrogen USA), penisilin-streptomisin 1,5% (v/v) (Gibco, Invitrogen USA dan Fungizone 0,5% v/v (Gibco). *Tissue Culture Dish* (IWAKI brand), tripsin-EDTA 0,25% (Gibco, Invitrogen Canada).

### Jalannya penelitian

#### Pengembangbiakan fungi endofit dan preparasi sampel

Produksi fungi endofit dilakukan dengan cara menumbuhkan fungi endofit dalam media PDB. Diambil koloni fungi endofit genus *Fusarium sp.* dari media PDA dengan menggunakan Öse sebanyak 5 *plug* berdiameter 0,5 cm yang telah dicetak dengan pelubang. Koloni tersebut diinokulasikan ke dalam 200 mL media PDB yang telah disterilkan pada labu Erlenmeyer 500 mL dan diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan putaran 1000 rpm, suhu ruangan selama 14 hari. Miselium dan filtrat dipisahkan dengan cara disaring. Miselium dikeringkan pada suhu 50 °C,-kemudian diserbuk.

### Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi menggunakan pelarut etil asetat. Serbuk miselium direndam dalam etil asetat (1:3) selama 48 jam dengan mengaduk sesering mungkin.

Selanjutnya filtrat etil asetat dipisahkan dari residunya dengan cara penyaringan. Residu yang diperoleh kemudian direndam lagi dengan etil asetat selama 24 jam sambil diaduk sesering mungkin. Setelah 24 jam dilakukan penyaringan untuk memperoleh filtrat etil asetat. Filtrat hasil ekstraksi pada 48 dan 24 jam diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu  $\pm 40$  °C sehingga diperoleh ekstrak pekat (Kharwar *et al.*, 2009).

### Fraksinasi ekstrak

Ekstrak pekat etil asetat difraksinasi dengan n-heksana, dietil eter dan etanol 96% secara berurutan dengan menggunakan kromatografi kolom. 200 mg ekstrak kental dilarutkan dengan 50 ml etil asetat, kemudian dimasukkan kedalam kolom kromatografi (30 x 1.5 cm) yang telah diisi dengan silika. Dimasukkan ke dalam kolom 200 ml n-heksana, cairan yang keluar ditampung ke dalam botol. Penampungan cairan n-heksana dihentikan ketika cairan n-heksana yang keluar dari kolom sudah terlihat bening. Fraksinasi menggunakan dietil eter dan etanol 96% juga dilakukan dengan cara yang sama seperti fraksinasi menggunakan n-heksana. Fraksi n-heksana, dietil eter, dan etanol 96% diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu  $\pm 40$  °C untuk memperoleh ekstrak kental n-heksana, dietil eter, dan etanol 96%. Semua fraksi pekat n-heksana, dietil eter, dan etanol 96% dikeringkan pada suhu  $\pm 50$  °C menggunakan oven.

### Skrining fraksi aktif

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode *disc diffusion* (Kirby-Bauer Test). Mikroba uji yang digunakan *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.thypi*. Dibuat seri konsentrasi fraksi uji 100; 50; 25; 12,5; dan 6,25  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  menggunakan DMSO 0.2%. Sebanyak 10  $\mu\text{L}$  senyawa uji dengan lima konsentrasi tersebut diteteskan pada *paper disc* sehingga jumlah ekstrak pada setiap *paper disc* berturut-turut adalah 1000; 500; 250; 125; dan 62,5  $\mu\text{g}$ . Sebelum ditempelkan pada media berisi bakteri uji, *paper disc* yang berisi senyawa analit ditunggu sampai kering, yang menandakan pelarutnya sudah menguap. Digunakan kontrol positif 10  $\mu\text{L}$  streptomisin 10 mg/mL dan kontrol pelarut 10  $\mu\text{L}$  etanol absolut steril (harus diuapkan). Kultur bakteri uji diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam, diamati zona hambatan di sekeliling *paper disc* dengan mengukur diameter zonaambat, dan diperoleh fraksi aktif (Hudziki, 2009).

### Penentuan $\text{IC}_{50}$ dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) fraksi

Kadar Bunuh Minimum ditentukan dengan metode mikrodilusi. Ke dalam sumur *microtiter plate 96-well* dimasukkan 50  $\mu\text{L}$  media Muller Hinton, 50  $\mu\text{L}$  suspensi mikroba uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 dan diencerkan (1:10) dan 100  $\mu\text{L}$  fraksi aktif dengan seri konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; dan 3,91  $\mu\text{g}/\text{mL}$  sehingga konsentrasi akhir larutan adalah 250; 125; 62,5; 31,25; 15,63; 7,81; 3,91; dan 1,96  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Sebagai kontrol negatif dimasukkan ke sumuran dengan mencampurkan 100  $\mu\text{L}$  fraksi setiap konsentrasi dan 100  $\mu\text{L}$  media tanpa bakteri, kontrol bakteri uji digunakan sebanyak 50  $\mu\text{L}$  bakteri uji dan 150  $\mu\text{L}$  media, dan kontrol positif digunakan larutan streptomisin 10 mg/mL sebanyak 100  $\mu\text{L}$ , bakteri uji sebanyak 50  $\mu\text{L}$ , dan 50  $\mu\text{L}$  media.

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Densitas sel diukur menggunakan instrumen *microplate reader* dengan mengamati absorbansi pada panjang gelombang 595 nm. Selanjutnya absorbansi suspensi sel bakteri uji yang telah diberi perlakuan larutan uji dibandingkan dengan absorbansi suspensi sel bakteri tanpa perlakuan uji (kontrol). Nilai  $\text{IC}_{50}$  didapatkan dengan membuat grafik antara kadar isolat (absis) dengan persen penghambatan pertumbuhan bakteri uji (ordinat) dan dianalisis menggunakan metode Litchfield dan Wilcoxon (analisis probit) (Zellagui *et al.*, 2012).

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan mengambil cairan dari tiap *microtiter plate 96-well* sebanyak 3  $\mu\text{L}$  lalu digoreskan pada media NA steril tanpa penambahan mikroba dan senyawa uji. Goresan pada media NA yang terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai nilai KBM.

### Determinasi kandungan fenolat total dalam fraksi

Kandungan fenolat total tiap fraksi diestimasi menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan standar asam galat. Setiap fraksi dilarutkan dalam metanol (2 mg/mL) dan ditambah 500 µL reagen Folin-Ciocalteu (50%), kemudian ditambah 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 20%, dan ditambah air suling sampai volume akhir 5 mL (Javanmradi *et al.*, 2003). Campuran didiamkan pada suhu ruangan selama 20 menit, kemudian absorbansi diukur pada panjang gelombang 765 nm. Prosedur yang sama juga dilakukan untuk larutan standar asam galat dalam metanol dengan konsentrasi 30, 45, 60, 75, 90 µg/mL. Kurva standar kalibrasi asam galat dibuat untuk menghitung persamaan garis regresi dan diperoleh persamaan :  $y = 0,0134x + 3,187$  dengan  $R^2 = 0,9997$ , yang dipergunakan untuk menghitung kadar total fenolik dalam setiap fraksi.

### Uji aktivitas antioksidan dengan metode peroksida

Kemampuan fraksi untuk menangkap hidrogen peroksida dilakukan berdasarkan metode Kumaran dan Karunakaran (2007). Larutan hidrogen peroksida (40 mmol/L) dibuat dengan menggunakan dapar fosfat (50 mmol/L, pH 7,5). Absorbansi hidrogen peroksida diukur pada panjang gelombang 230 nm menggunakan spektrofotometer. Fraksi dilarutkan dalam air suling sehingga diperoleh konsentrasi 2 mg/mL. Larutan kemudian ditambahkan hidrogen peroksida dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 230 nm setelah 10 menit. Larutan kontrol dibuat dengan mencampur dapar fosfat tanpa penambahan hidrogen peroksida. Persentase kemampuan fraksi dalam menangkap hidrogen peroksida dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Penangkapan H}_2\text{O}_2 (\%) = [(A_i - A_t) / A_i] \times 100$$

A<sub>i</sub>: Absorbansi kontrol, A<sub>t</sub>: Absorbansi sampel

### Uji aktivitas antioksidan dengan penurunan reduksi

Potensi reduksi setiap fraksi diukur menggunakan metode Oyaiju (1986). Setiap fraksi dan standar (2 mg/mL) dalam 1 mL air suling dicampur dengan dapar fosfat (2,5 mL, 0,2 mol/L, pH 6,6) dan kalium ferisianida (2,5 mL, 1% b/v). Selanjutnya disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Lapisan atas larutan diambil sebanyak 2,5 mL 1% b/v, kemudian dicampur dengan air suling (2,5 mL) dan FeCl<sub>3</sub> (0,5 mL, 0,1% b/v). Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm menggunakan spektrofotometer.

### Uji sitotoksik fraksi dengan metode MTT

Uji sitotoksitas menggunakan metode MTT. Sel kanker payudara T47D ditumbuhkan dengan media kultur RPMI, sel normal Vero dalam media kultur M199, masing-masing berisi FBS 10%, penisilin-streptomisin 1%, dan fungizon 0,5%. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 7,81 ; 15,62 ; 31,25 ; 62,5 ; 125 ; 250 ; 500 µg/ml. Viabilitas sel ditentukan dengan absorbansi pada λ 595 nm menggunakan *plate reader*. Data absorbansi perlakuan dikonversi ke dalam persen viabilitas dan digunakan untuk menghitung IC<sub>50</sub>. *Selectivity Index* (SI) merupakan hasil bagi antara IC<sub>50</sub> sel Vero dan IC<sub>50</sub> sel T47D.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengembangbiakan fungi endofit dan preparasi sampel

Fungi endofit genus *Fusarium sp.* hasil isolasi dari daun meniran (memiliki karakteristik yaitu koloni fungi berwarna putih (Gambar 1). Identifikasi morfologi fungi dilakukan di Laboratorium Mikologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Genus *Fusarium*. memiliki ciri-ciri, yaitu: miselium yang memadat dan berbentuk seperti spiral, tersusun atas pigmen hifa yang berwarna gelap, dan memproduksi sklerotia dengan bentuk seragam. Ciri-ciri tersebut sesuai dengan yang dipaparkan oleh Sharma yang menunjukkan fungi genus *Fusarium sp.* (Sharma, 1989).



**Gambar 1. (a). Morfologi *Fusarium sp.* umur 7 hari pada media natrium agar (NA). Perbesaran mikroskop 10X  
(b). Kultur fungi *Fusarium sp.* hari ke-14 pada media *potato dextrose broth* (PDB)**

### Penapisan fraksi aktif

Fraksi dietil eter mempunyai aktivitas yang lebih baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji dari pada fraksi n-heksana dan etanol 96% (Tabel I). Fraksi n-heksana dan etanol 96% menghambat pertumbuhan *S.aureus*, *E.coli* dan *S.Thypi* pada level konsentrasi tertinggi (1000 µg). Fraksi dietil eter menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan *S.aureus*, *E.coli*, dan *S.thypi* pada setiap konsentrasi uji.

Berdasarkan keseluruhan aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji, fraksi dietil eter mempunyai aktivitas yang lebih besar daripada fraksi n-heksana dan fraksi etanol 96%, namun, berdasarkan tujuan penapisan aktivitas antibakteri, maka ketiga fraksi tersebut mempunyai potensi untuk dilakukan uji aktivitas (secara mikrodilusi). *Fusarium sp.* mempunyai senyawa aktif bikaverin yang terbukti dapat membunuh bakteri *S.aureus*, *E.coli*, *p.aureginosa* yang resisten terhadap antibiotik golongan penisilin (Deshmukh *et al.*, 2014).

### Uji fraksi aktif

Fraksi dietil eter lebih aktif dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi etanol 96% terhadap bakteri uji *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhi* (Tabel II). Hal tersebut ditunjukkan dengan menganalisis nilai  $IC_{50}$ . Misalnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.thypi*, fraksi dietil eter memerlukan konsentrasi 35,08 µg/mL dalam menghambat 50% pertumbuhan bakteri dibandingkan fraksi n-heksana yang memerlukan konsentrasi lebih tinggi yaitu 134,11 µg/mL.

Fraksi dietil eter mempunyai kemampuan membunuh bakteri atau nilai KBM lebih rendah dibandingkan fraksi n-heksana dan fraksi etanol 96% terhadap bakteri *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhi*. Misalnya dalam membunuh bakteri *S.aureus*, fraksi dietil eter dapat membunuh 99,9% bakteri pada konsentrasi 125 µg/mL, sedangkan fraksi etanol 96%,-memerlukan dosis yang lebih tinggi dari 500 µg/mL.

### Analisis kandungan fenolik total

Tabel III menunjukkan kandungan fenolik total dengan rentang yang cukup lebar. Nilai bervariasi dari 12,87 – 75,85 mg GAE/g bobot kering fraksi. Kandungan tertinggi terdapat pada fraksi etanol 96% (75,85 ± 0,11 mg GAE), kemudian diikuti oleh fraksi dietil eter dan fraksi n-heksana.

**Tabel I. Hasil pengamatan uji *disc diffusion* fraksi terhadap bakteri uji**

Fraksi	Daya tampung (µg)	Zona Hambatan Pertumbuhan (mm)				
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
n-heksana	62,5	ND	ND	ND	24	ND
	125	ND	ND	ND		
	250	ND	ND	ND		
	500	ND	ND	5		
	1000	8	9	3		
dietil eter	62,5	2	ND	1	22	ND
	125	3	5	2		
	250	6	6	8		
	500	8	10	9		
	1000	16	13	14		
etanol	62,5	ND	ND	ND	18	ND
	125	ND	ND	ND		
	250	ND	ND	ND		
	500	ND	2	7		
	1000	1	3	10		

Keterangan: ND = *not detected* (tidak terdeteksi adanya aktivitas)

**Tabel II. Nilai IC<sub>50</sub> dan nilai KBM setiap fraksi terhadap bakteri uji**

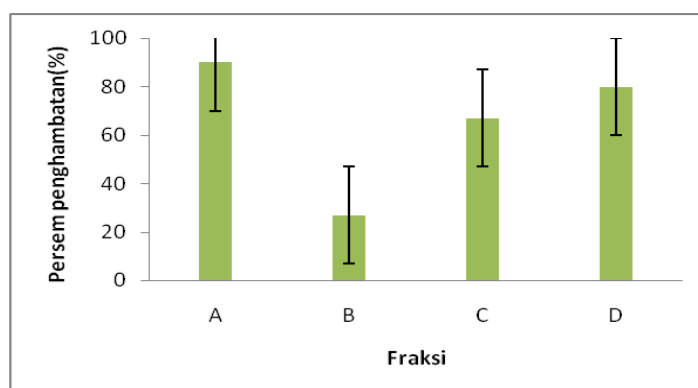
BAKTERI	SENYAWA					
	Fraksi n-heksana		Fraksi dietil eter		Fraksi etanol 95%	
	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)
<i>E.coli</i>	109,98	>500	20,75	125	117,24	>500
<i>S.aureus</i>	265,46	>500	51,96	250	102,64	>500
<i>S.typhi</i>	134,11	>500	35,08	125	89,76	>500

**Tabel III. Kandungan fenolik total fraksi**

Fraksi	Kandungan Fenolik Total (mg GAE/g Fraksi)
n-heksana	12,87 ± 0,96
dietil eter	67,98 ± 0,32
etanol 96%	75,85 ± 0,11

#### Uji aktivitas antioksidan dengan metode peroksida

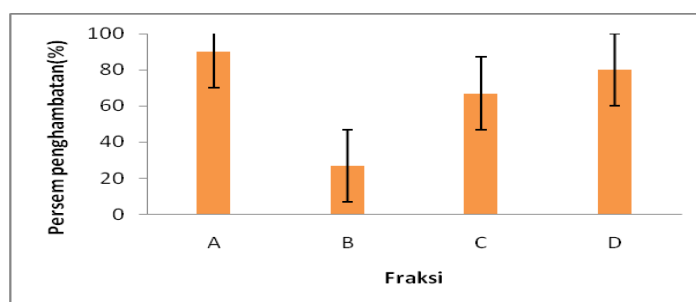
Aktivitas potensial penangkapan reduksi hidrogen peroksida dari semua fraksi menunjukkan rentang aktivitas 34 – 85% (Gambar 3). Aktivitas reduksi dari vitamin C yang digunakan sebagai kontrol positif sebesar 95%. Fraksi etanol 95% menunjukkan aktivitas paling besar dari semua fraksi, yaitu sebesar 85% kemudian diikuti oleh fraksi dietil eter sebesar 76%.



**Gambar 2. Aktivitas penangkapan hidrogen peroksida A: Vitamin C, B: n-heksana, C: dietil eter, D: etanol 96%**

### Uji aktivitas antioksidan dengan metode penurunan reduksi.

Kemampuan reduksi pada metode penurunan reduksi diukur dari perubahan ion  $\text{Fe}^{3+}$  menjadi  $\text{Fe}^{2+}$ . Fraksi etanol 96% dan fraksi dietil eter menunjukkan nilai absorbansi yang tinggi yang mengindikasikan potensi kemampuan yang besar dalam proses reduksi dan kemampuan mendonor elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Aktivitas reduksi vitamin C sebesar 90% dan fraksi etanol 96% mempunyai aktivitas penurunan reduksi terbesar yaitu 80% (Gambar 3).



**Gambar 3. Aktivitas kemampuan reduksi: A: Vitamin C, B: n-heksana, C: dietil eter, D: etanol 96%**

### Hubungan kandungan fenolik total dengan aktivitas antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode peroksida dan penurunan reduksi menunjukkan hasil yang konsisten (Gambar 2 dan 3). Fraksi etanol mempunyai kandungan fenolik total terbesar dari semua fraksi ( $65,70 \pm 0,87$  mg GAE). Fraksi etanol 96% mempunyai aktivitas antioksidan terkuat di antara semua fraksi, kemudian diikuti oleh fraksi dietil eter dan n-heksana. Pelarut etanol merupakan pelarut yang polar dan dapat menarik senyawa polar seperti senyawa fenolik. Dari data tersebut menunjukkan senyawa fenolik mempunyai peran dalam menurunkan aktifitas radikal bebas. Senyawa fenol mempunyai gugus hidroksi yang mempunyai peran utama dalam menangkap radikal bebas. Senyawa fenol dan terpen merupakan senyawa yang bertanggungjawab terhadap penurunan aktivitas peroksidasi lipid (Gulcin, 2006).

### Uji sitotoksik fraksi

Berdasarkan parameter  $\text{IC}_{50}$ , fraksi dietil eter mempunyai aktivitas sitotoksik lebih besar dibandingkan fraksi n-heksana dan etanol terhadap sel T47D (Tabel IV). Nilai  $\text{IC}_{50}$  yang didapatkan pada perlakuan fraksi n-heksana, dietil eter dan etanol menunjukkan bahwa semua fraksi memiliki potensi sebagai agen sitotoksik karena didapatkan nilai  $\text{IC}_{50}$  yang lebih kecil dari  $100 \mu\text{g/mL}$  (Prayong *et al.*, 2008).

Nilai selektivitas suatu senyawa bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan suatu senyawa antikanker terhadap sel normal (Ueda *et al.*, 2002). Fraksi dietil eter lebih selektif membunuh sel

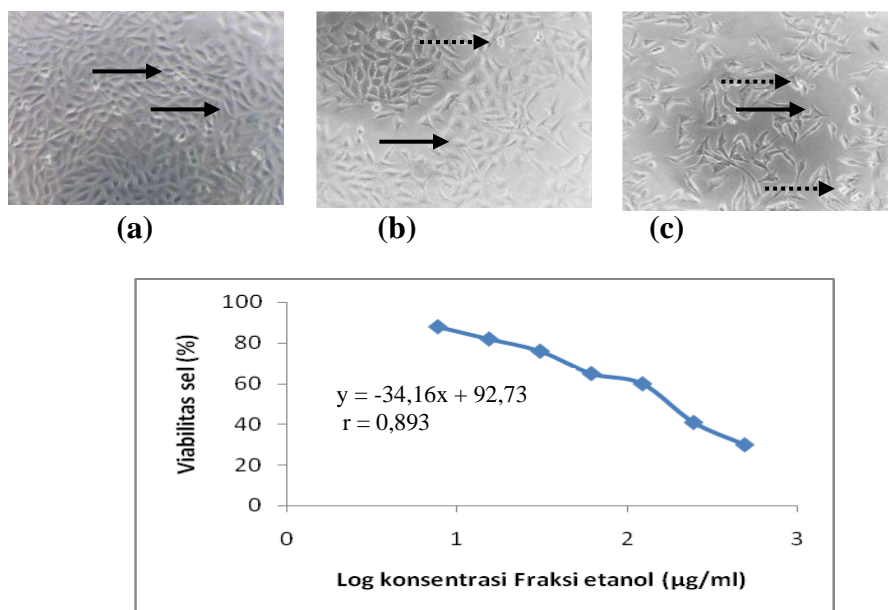
kanker payudara T47D dibandingkan fraksi n-heksana dan etanol. Hal tersebut terlihat dari nilai SI fraksi dietil eter yang tinggi, 8 kali lipat dibanding dengan fraksi n-heksana dan lebih tinggi 3 kali lipat dibandingkan fraksi etanol.

**Tabel IV. Hasil uji sitotoksik setiap fraksi**

Fraksi	IC <sub>50</sub> T47D (µg/mL)	IC <sub>50</sub> Vero (µg/mL)	Selectivity index (SI)
n-heksana	102,75±0,66	276,88±1,63	2,70
dietil eter	10,16±0,88	254,87±0,23	25,08
etanol	56,86±1,54	318,77±0,24	5,60

Profil morfologi sel akibat perlakuan fraksi dietil eter diamati. Perlakuan fraksi dietil eter menyebabkan sel T47D mengalami perubahan morfologi yaitu inti sel tampak mengerut, terlihat sel yang mengalami kematian, dan jumlah sel berkurang, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 4).

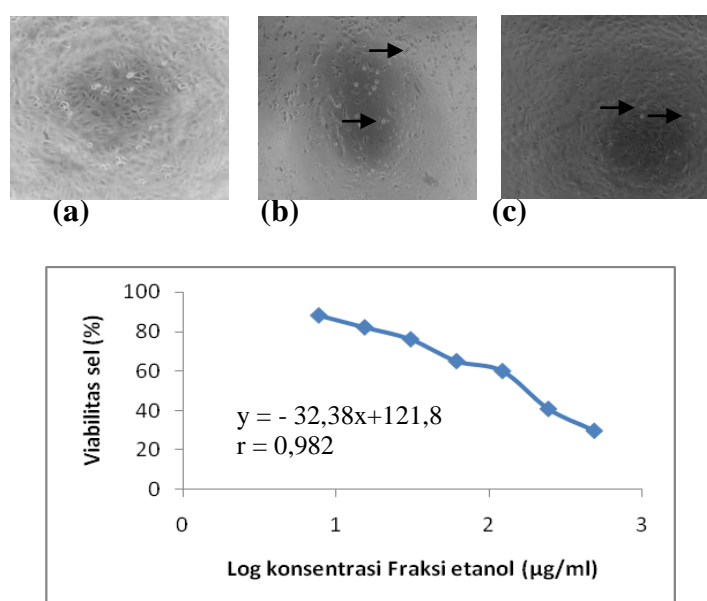
Efek sitotoksis fraksi dietil eter terhadap sel Vero berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> dan profil morfologi sel menunjukkan efek yang lebih rendah jika dibandingkan terhadap sel T47D. Perlakuan fraksi dietil eter juga menyebabkan sel Vero mengalami perubahan morfologi, yaitu sel mengecil, membulat dan tidak lagi menempel pada dasar sumuran, namun diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk menghasilkan efek yang sama terhadap sel T47D, sedangkan sel tanpa perlakuan menunjukkan morfologi yang normal (Gambar 5).



**Gambar 4. Efek perlakuan fraksi dietil eter terhadap sel T47D.**

Keterangan: Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) kontrol sel; (b) Fraksi dietil eter 5 µg/mL; (c) 10 µg/mL. Morfologi sel T47D yang hidup ditunjukkan dengan gambar panah (→) dan sel yang mengalami perubahan morfologi ditunjukkan dengan tanda panah putus (- -▶). Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari perhitungan regresi linier log konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel dengan taraf kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ).





**Gambar 5.**Efek perlakuan fraksi dietil eter terhadap sel Vero.

Keterangan: Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 100x. (a) kontrol sel; (b) Fraksi dietil eter 250 µg/mL; (c) 500 µg/mL. Perubahan morfologi sel Vero ditunjukkan dengan gambar panah (←→). Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari perhitungan regresi linier log konsentrasi dibandingkan dengan % viabilitas sel dengan taraf kepercayaan 95% (p<0,05).

## KESIMPULAN

Uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa fraksi dietil eter mempunyai aktivitas paling tinggi berdasarkan nilai KBM terhadap bakteri uji *E.coli*, *S.aureus*, dan *S.typhi*. Uji kandungan fenolik total menunjukkan bahwa fraksi etanol 96% mempunyai kandungan fenolik total terbesar dan mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi. Uji sitotoksik menunjukkan fraksi dietil eter mempunyai aktivitas sitotoksik tertinggi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Colpo, E., Vilanova, C.D.D.A., Pereira, R.P., Reetz, L.G.B., Oliveira, L., Farias, I.L.G., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Rocha, J.B.T., 2014. Antioxidant effects of *Phyllanthus niruri* tea on healthy subjects. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 7, 113–118.
- Deshmukh, R., Mathew, A., Purohit, H.J., 2014. Characterization of antibacterial activity of bikaverin from *Fusarium* sp. HKF15. *J. Biosci. Bioeng.* 117, 443–448. doi:10.1016/j.jbiosc.2013.09.017
- Dewoto, R., 2007. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Majalah Kedokteran Indonesia*, 57: 5–6.
- Gulcin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006, 78(8): 803-811.
- Huang,D., Ou,B., Proir,RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 2005, 53(6): 1841-1856.
- Hudziki, J., 2009, Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol.
- Javanmardi, J., Stusshnoff, C., Locke, E., and Vivanco, J.M., 2003, Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Occimum* accessions, *J.Food Chem*,83, 547-550.
- Kharwar, R.N., Verma, V.C., Kumar, A., Gond, S.K., Harper, J.K., Hess, W.M., dkk., 2009, Javanicin, an antibacterial naphthaquinone from an endophytic fungus of neem, *Chloridium* sp. *Current microbiology*, 58: 233–238.

- Kumaran, A. dan Karunakaran, R.J., 2007, Activity-guided isolation and identification of free radical-scavenging components from an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 100: 356–361.
- Prayong, P., Barusrux, S., and Weerapreeyakul, N., 2008, Cytotoxic activity screening of some indigenous Thai plants. *Fitoterapia*, 79: 598-601.
- Sharma, O.P., 1989, *Textbook of Fungi*. Tata McGraw-Hill Education.
- Strobel, G.A., 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes and infection / Institut Pasteur*, 5: 535–544.
- Tan, R.X. dan Zou, W.X., 2001, Endophytes: a rich source of functional metabolites. *Natural product reports*, 18: 448–459.
- Ueda, J.Y., Tezuka, Y., Banskota, A.H., Tran, Q.L., Hariyana, Y., Saiki, I., dkk., 2002, Antiproliferative Activity of Vietnamase Medical Plants. *Biol.Pharm, Bull*, 25: 753–760.
- Zellagui, A., Gherraf, N., Ladjel, S., dan Hameurlaine, S., 2012. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils from *Launaea resedifolia* L. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*, 2: 2.