

**METABOLIT SEKUNDER MINOR DARI JAMUR *Diaporthe* sp. GNBP-10
DARI BATANG TUMBUHAN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN UJI
ANTIPROLIFERASINYA TERHADAP BERBAGAI JENIS SEL KANKER**

Skripsi Sarjana Kimia

Oleh :

LILIA REVANITA

06 132 041



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2010

ABSTRAK

METABOLIT SEKUNDER MINOR DARI JAMUR *Diaporthe* sp. GNB-10 DARI BATANG TUMBUHAN GAMBIR (*Uncaria gambir* Roxb.) DAN UJI ANTIPROLIFERASINYA TERHADAP BERBAGAI JENIS SEL KANKER

Oleh
Lilia Revanita

Sarjana Sain (S.Si) dalam bidang Kimia FMIPA Universitas Andalas
Dibimbing oleh Dr. Mai Efdi dan Dr. Andria Augusta

Mikroba endofit dari tumbuhan obat memiliki potensi yang besar dalam usaha penemuan jenis antikanker baru. Jamur endofit *Diaporthe* sp. GNB-10 merupakan jamur endofit yang berasosiasi pada tumbuhan gambir dan telah diketahui memproduksi 2 metabolit utama, yaitu (+)-2,2'-episitokirin A dan (+)-1,1'-Bislunatin yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker. Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi senyawa metabolit minor dari jamur endofit *Diaporthe* sp. GNB-10, mengkarakterisasi senyawa tersebut, serta melihat aktivitas antiproliferasinya terhadap sel HeLa (kanker cervic), MCM-B2 (kanker mamae), K562 (leukemia), dan A549 (kanker paru). Fraksi uji didapatkan dari hasil kromatografi kolom Sephadex LH-20 terhadap ekstrak etil asetat hasil maserasi jamur endofit yang telah ditumbuhkan selama 1 bulan. Fraksi-fraksi yang didapat dikelompokkan berdasarkan persamaan profil KLT dan diperoleh 11 fraksi. Fraksi 11 dimurnikan kembali dengan kromatografi kolom Sephadex LH-20 sehingga didapatkan 4 fraksi; F11a, F11b, F11c, dan F11d. Hasil karakterisasi dengan menggunakan analisis ¹H-NMR dan ¹³C-NMR menunjukkan bahwa diduga senyawa F11c adalah golongan antrakuinon. Selanjutnya senyawa F11c diuji aktivitas antiproliferasinya terhadap keempat jenis sel kanker dengan metoda *direct counting (trypan blue)* dengan menggunakan hemositometer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa F11c memiliki potensi paling tinggi dengan IC₅₀ 3,075 µg/ml, yaitu terhadap sel MCM-B2.

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu masalah utama di dunia yang diindikasikan memiliki tingkat insidensi tinggi di beberapa negara di dunia. Penanganan kanker dengan agen kemoterapi masih menjadi pilihan dalam pengobatan kanker. Namun adanya mekanisme *Multi Drug Resistance* (MDR) mengakibatkan berkurangnya efikasi obat kemoterapi¹. Beberapa penelitian mulai diarahkan pada pengujian potensi bahan alam sebagai agen kemoprevensi yang berfungsi sebagai agen pendamping kemoterapi. Tujuannya adalah untuk meningkatkan sensitifitas sel kanker serta mengurangi efek yang ditimbulkan oleh agen kemoterapi. Agen kemoprevensi yang dimaksud disini umumnya memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan tumor melalui mekanisme *cell cycle arrest*², pemacuan apoptosis³, ataupun menghambat ekspresi protein yang berperan dalam *Multi Drug Resistance*⁴.

Usaha penemuan antikanker baru dari berbagai sumber banyak dilakukan oleh para ahli diantaranya dari tumbuhan, hewan, organisme laut, dan mikroba. Namun akhir-akhir ini mikroba banyak dipilih sebagai sumber penghasil senyawa biotif, karena mikroba lebih mudah penanganannya. Golongan mikroba ini meliputi jamur/fungi, bakteri, dan aktinomisetes. Dari golongan mikroba yang mampu menghasilkan senyawa bioaktif ini, ada satu kelompok mikroba yang akhir-akhir ini mendapat perhatian para peneliti, yaitu mikroba endofit. Dilihat dari segi efisiensi, hal ini sangat menguntungkan, karena siklus hidup mikroba endofit lebih singkat dibandingkan siklus hidup tumbuhan inangnya, sehingga dapat menghemat waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan senyawa tersebut, dan jumlah senyawa yang diproduksi dapat dibuat dalam skala yang besar.

Isolat mikroba endofit dari tumbuhan obat memiliki potensi yang besar dalam usaha penemuan jenis antikanker baru ataupun jenis obat baru lainnya. Hal ini didasarkan pada penelitian terdahulu yang menemukan bahwa obat antikanker yang potensial yaitu taxol mampu dihasilkan oleh fungi endofit yang dihasilkan oleh tanaman obat *Taxus brevifolia*⁵. Dengan dasar itulah perlu dilakukan

penelitian untuk mengetahui senyawa yang berpotensi sebagai antikanker yang dihasilkan oleh jamur endofit yang berasosiasi pada tumbuhan gambir.

Salah satu jamur endofit, yaitu *Diaporthe* sp. yang diisolasi dari gambir telah diketahui memproduksi 2 metabolit utama, yaitu (+)-2,2'-episitoskirin A dan (+)-1,1'-Bislunatin⁶. Untuk itu perlu dieksplorasi lebih lanjut metabolit-metabolit minor lainnya yang diproduksi oleh jamur endofit tersebut.

1.2. Rumusan Masalah

Pencarian senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker terus dilakukan guna mendapatkan hasil yang lebih baik. Senyawa bahan alam memiliki peranan yang sangat penting dalam penemuan senyawa antikanker. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi untuk menghasilkan senyawa-senyawa antibiotik adalah jamur endofit. Sejauh ini, metabolit minor yang diproduksi oleh jamur endofit *Diaporthe* sp. GNBP-10 belum pernah dilaporkan sama sekali.

1.3. Hipotesis

Metabolit minor dari ekstrak etil asetat jamur endofit *Diaporthe* sp. GNBP-10 mempunyai kemampuan antiproliferasi terhadap sel HeLa (kanker cervic), MCM-B2 (kanker mammae), K562 (leukemia), dan A549 (kanker paru).

1.4. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa metabolit minor dari jamur endofit *Diaporthe* sp. GNBP 10 yang berasosiasi dengan tumbuhan gambir (*Uncaria gambier* Roxb), mengkarakterisasi senyawa tersebut, serta melihat aktivitas antiproliferasi terhadap sel kanker HeLa, MCM-B2, K562, dan A549 secara in vitro.

1.5. Manfaat

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memperoleh metabolit baru yang diproduksi jamur endofit *Diaporthe* sp. GNBP 10 yang memiliki peluang untuk dikembangkan menjadi obat antikanker yang aman dan efektif

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan Penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak etil asetat jamur endofit *Diaporthe sp.* GNBP-10 fraksi 11c terhadap sel lestari kanker HeLa, MCM-B2, K562, dan A549 dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Dari data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$, diduga metabolit minor F11c ini merupakan senyawa golongan antrakuinon.
2. Peningkatan aktivitas antiproliferasi senyawa F11c terhadap sel kanker terjadi seiring dengan peningkatan dosis.
3. Senyawa isolasi memiliki senstifitas yang paling tinggi terhadap sel kanker MCM-B2 dibandingkan ketiga sel lainnya.
4. Senyawa F11c ekstrak memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi salah satu obat anti kanker.

5.2. Saran

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini antara lain adalah penentuan struktur dari senyawa F11c serta penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme aksi komponen aktif senyawa F11c yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dalam upaya penemuan obat antikanker yang lebih spesifik dan efektif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Conze, D., Weiss, L., Regnen, P.S., Bhushan, A., Weaver, D., Johnson, P., and Rincon, M. Autocrine Production of Interleukin 6 Causes Multi Drug Resistance In Breast Cancer Cells. *Cancer Research*, 61, 8851-8858 (2001).
2. Shapiro, G.I., and Harper, J.W. Anticancer Drug Targets: Cell Cycle and Checkpoint Control, *J. Clin. Invest.* 104, 1645-1653 (1999).
3. Fisher, D.E. Apoptosis in Cancer Therapy: Crossing The Threshold, *Cell*. 78. 539-542 (1994).
4. Kitagawa, S. Inhibitory Effect of Polyphenols on P-Glycoprotein-Mediated Transport, *Biol. Pharm. Bull.*, 29, 1-6 (2006).
5. Stierle, A., Strobel, G. and Stierle, D. Taxol and Taxane Production by *Taxomyces andreanae*, an Endophytic fungus of Pacific Yew. *Science* 260:214-216 (1993).
6. Agusta, A., K. Ohashi and H. Shibuya. Bisanthraquinone Metabolites Produced by the Endophytic Fungus *Diaporthe* sp. *Chem. Pharm. Bull.* 54(4) : 579-582 (2006a).
7. www.proseanet.org/florakita. diakses 10 maret 2010.
8. Tan, RX and WX Zou. Endopytes: A Rich Source of Functional Metabolites. *Nat. Prod. Rep.* 18: 448-459 (2001).
9. Strobel GA., and B. Daisy. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. And Mol. Biology Rev.* 67(4):491-502 (2003).
10. Strobel GA., RV. Miller, C. Miller, M. Condrón, DB. Teplow, and WM. Hess. Cryptocandin, A Potent Antimycotic from Endophytic Fungus *Cryptosporiopsis quercina*. *Microbiology* 145: 1919-1926 (1999).
11. Guo B., J. S. NG, Y. Huang, C. Leong, W. Ong, and BK. Carte. Cytotoxic acid A and B, novel tridepside from the endophytic fungus *Cytospora* sp. *J. Nat. Prod.* 63: 602-604 (2000).
12. Strobel, GA. Microbial gifts from rain forest. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 14-20 (2002).
13. Lu H., WX. Zou, JC. Meng, J. HU, and RX Tan. New Bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Sci.* 151: 73-76 (2000).