



Analisis Profil HPLC-PDA Berkombinasi dengan LC-ESI-MS dan Aktivitas Biologi dari Ekstrak Jamur Endofit, *Penicillium simplicissimum*, yang Diisolasi dari Rimpang Jahe Merah

Rini Muharini^{a*}, E. Ersando^a, Yeni Triana^a, Maharani Nukila^a, Rahmad Ulwan^a, M. Masriani^a, Peter Proksch^b

^aProgram Studi Pendidikan Kimia, FKIP, Universitas Tanjungpura

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak 78124

^bInstitute of Pharmaceutical Biology and Biotechnology, Heinrich-Heine University Düsseldorf
Universitätsstraße 1, Düsseldorf 40225 Germany

*Corresponding author: rini.muharini@fkip.untan.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.18.2.56860.158-164

Received 30 November 2022, Accepted 13 June 2022, Published 30 September 2022

Kata kunci:

antibakteri;
fitokimia;
Penicillium simplicissimum;
sitotoksik.

ABSTRAK. Rimpang jahe merah digunakan sebagai tumbuhan obat tradisional dan diketahui mengandung senyawa-senyawa berkhasiat. Dekade ini eksplorasi mikroorganisme yang bersimbiosis dengan tumbuhan obat mendapat perhatian besar guna mencari alternatif sumber senyawa berkhasiat obat. Penelitian ini bertujuan memperoleh informasi profil kimia ekstrak *Penicillium simplicissimum*, jamur endofit yang diisolasi dari rhizoma jahe merah, menentukan daya hambatnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dan mengevaluasi aktivitas sitotoksiknya terhadap sel limfoma tikus L-5178Y, sel kanker payudara (T47D dan 4T1) dan sel kanker usus (WiDr). Skrining fitokimia melalui teknik KLT dan pereaksi spesifik memperlihatkan adanya golongan senyawa alkaloid, triterpenoid, dan sterol pada ekstrak. Analisa data *high-performance liquid chromatography* dengan detektor *photodiode array* (HPLC-PDA) yang dikombinasikan dengan data LC-ESI-MS serta perbandingan data literatur memberikan dugaan bahwa salah satu komponen senyawa utama adalah citreonigrin F, yang diisolasi sebelumnya dari *P. citreonigrin*. Evaluasi aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak *P. simplicissimum* tidak memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan kedua bakteri uji. Akan tetapi, ekstrak *P. simplicissimum* memberikan penghambatan yang lemah terhadap sel limfoma tikus L-5178Y pada konsentrasi 10 µg/mL dan aktivitas sitotoksik yang moderat terhadap sel kanker payudara dan sel kanker usus dengan $IC_{50} > 100$ µg/mL. Temuan ini menunjukkan bahwa jamur endofit *P. simplicissimum* yang diisolasi dari jahe merah ini memiliki potensi untuk dieksplorasi lebih lanjut guna memperoleh senyawa berkhasiat obat.

Keywords:

antibacteria;
phytochemistry;
Penicillium simplicissimum;
citotoxic.

ABSTRACT. Profiling Analysis of HPLC-PDA Combined with LC-ESI-MS and Biological Activity of an Endophytic Fungi *P. Simplicissimum* Extract Isolated from Red Ginger Rhizome. Red ginger rhizome has been used traditionally as a medicinal plant, and its active principal constituents have been known. In the recent decade, the exploration of endophytes in medicinal plants received huge interest in finding new bioactive compound sources. This research aims to obtain the chemical profile of an endophytic fungi *P. simplicissimum* extract isolated from Red ginger rhizome. This study also further evaluates its antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and its cytotoxicity against L-5178, 4T1, T47D, and WiDr cell lines. The phytochemical screening of the extract using the TLC technique and specific reagents shows the existence of alkaloids, triterpenoids, and sterol. The further analysis using high-performance liquid chromatography with photodiode array detector (HPLC-PDA) and LC-MS/MS data, as well as literature comparison, indicated that one of the major compounds was citreonigrin F, which isolated previously from *P. citreonigrin*. The evaluation of antibacterial activity showed that *P. simplicissimum* extract did not inhibit the growth of both bacteria tested. However, *P. simplicissimum* extract showed a weak inhibition against L-5178Y rat lymphoma cells at a concentration of 10 µg/mL and a moderate cytotoxic activity against breast cancer cells and colon cancer cells with $IC_{50} > 100$ µg/mL. Nevertheless, this study showed that *P. simplicissimum* isolated from red ginger could be further explored for its bioactive compounds.

PENDAHULUAN

Jahe merah sebagai tumbuhan obat telah lama digunakan secara tradisional dalam mengatasi masalah pencernaan, meredakan rematik, mengatasi nyeri sendi dan otot, menurunkan asam urat, dan memberikan efek afrodisiak. Kajian farmakologi pada ekstrak rimpang jahe merah melaporkan bahwa salah satu kemampuan tumbuhan ini adalah antibakteri melawan bakteri Gram-negatif, yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*,

dan *Salmonella typhimurium*, serta bakteri Gram-positif, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* (Pamungkas and Dewi, 2013; Rialita *et al.*, 2015). Selain itu, ekstrak jahe merah juga menunjukkan potensi sebagai antioksidan (Ghasemzadeh *et al.*, 2016; Supu *et al.*, 2019), dan antikanker (Zhang *et al.*, 2022). Sementara itu, jamur endofit merupakan jamur yang hidup dalam jaringan internal tumbuhan dan dikenal sebagai mikroorganisme sumber penghasil senyawa-senyawa aktif antimikroba dan sitotoksik pada sel kanker (Ancheeva *et al.*, 2020). Meskipun mekanisme hubungan dan interaksinya dengan tumbuhan inangnya masih belum sepenuhnya dipahami, jamur endofit berperan dalam melindungi tumbuhan inangnya dari serangan mikroorganisme patogen terhadap tumbuhan tersebut, mengontrol pertumbuhan tumbuhan inang, dan terlibat dalam akumulasi produksi senyawa metabolit sekunder (Aly *et al.*, 2011). Dalam rangka eksplorasi jamur endofit yang hidup pada tumbuhan obat tradisional, mengungkap hubungan antara kedua organisme, dan pencarian sumber baru senyawa berpotensi obat, isolasi jamur-jamur endofit dari rimpang jahe merah telah dilakukan.

Jamur endofit *Penicillium simplicissimum* telah berhasil diisolasi dari rimpang jahe merah, *Zingiber officinale* var. *rubrum*. Penemuan *P. simplicissimum* dari rimpang jahe merah dalam studi ini dilaporkan untuk pertama kali. Jamur endofit *P. simplicissimum* termasuk dalam genus *Penicillium*, yaitu genus yang diketahui membantu pertumbuhan tumbuhan saat dalam kondisi stres melalui produksi senyawa hormon pertumbuhan giberelin dan asam indolasetat (Waqas *et al.*, 2012). Beberapa penelitian sebelumnya melaporkan isolasi *P. simplicissimum* dari organisme dan lingkungan hidup yang berbeda, yaitu dari tanah (Dai *et al.*, 2020), akar tumbuhan kapas (Yuan *et al.*, 2017), tumbuhan bakau (Xu *et al.*, 2016), hingga dari air danau yang memiliki tingkat salinitas tinggi (Ebada and Ebrahim, 2020).

Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari jamur endofit dari berbagai habitat tersebut dilaporkan menunjukkan aktivitas biologi antiinflamatori (Dai *et al.*, 2020), antifungal terhadap *Verticillium dahliae* (Yuan *et al.*, 2017), antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, dan sitotoksik terhadap sel kanker (Ebada and Ebrahim, 2020). Namun, penelusuran literatur menunjukkan belum ada laporan ilmiah mengenai aktivitas biologi, baik dari ekstrak maupun senyawa metabolit sekunder, jamur endofit *P. simplicissimum* yang diisolasi dari jahe merah.

Lebih jauh, hingga saat ini kandungan minyak atsiri jahe merah banyak dilaporkan dalam publikasi ilmiah. Minyak atsiri rimpang jahe merah diantaranya merupakan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid dan fenolik. Gingerol dan shogaol diketahui sebagai senyawa metabolit sekunder utama pada rimpang jahe merah. Sementara itu, golongan senyawa metabolit sekunder yang dilaporkan dari *P. simplicissimum* sejauh ini adalah dihidroisokumarin (Xu *et al.*, 2016), alkaloid (Dai *et al.*, 2020; Shiono *et al.*, 2000), meroterpenoid (Komai *et al.*, 2005) dan poliketida (Komai *et al.*, 2006), masing-masing dari asal dan lingkungan hidup yang berbeda. Hal ini memberikan dugaan komposisi dan jenis senyawa metabolit sekunder pada *P. simplicissimum* dari jahe merah akan berbeda dengan temuan sebelumnya. Dugaan ini seiring dengan teori yang menyatakan bahwa produksi senyawa metabolit sekunder mikroorganisme, dalam hal ini jamur endofit, sangat dipengaruhi oleh faktor habitat dan kondisi lingkungannya (Aly *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2016).

Data Globocan (2020) mengungkapkan bahwa kanker payudara dan kolorektal/usus merupakan penyakit kanker dengan prevalensi terbesar di dunia (Globocan, 2020). Di Indonesia, jumlah kasus kanker payudara menempati urutan teratas, sedangkan kanker usus berada di urutan empat. Tingginya kasus ini akan berdampak pada tingginya kebutuhan akan ketersediaan obat antikanker. Sementara, obat kanker bernilai mahal, jumlahnya terbatas, dan produksinya lama. Saat ini, skrining antikanker berupa uji sitotoksik sel kanker payudara dan sel kanker usus pada ekstrak mikroorganisme sangat menarik perhatian guna memperoleh sumber baru senyawa antikanker.

Dengan demikian, kajian kimiawi, pengujian aktivitas antibakteri *E. coli*, dan pengujian sitotoksik pada *P. simplicissimum* yang diperoleh dari jahe merah yang tumbuh di Indonesia perlu dilakukan. Pada tulisan artikel ini, peneliti mendeskripsikan dua senyawa metabolit sekunder utama yang terdeteksi pada ekstrak etil asetat *P. simplicissimum*. Selanjutnya, evaluasi aktivitas antibakteri ekstrak *P. simplicissimum* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker 4T1, T47D, WiDr, dan L5178Y dipaparkan.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah instrumentasi kromatografi cair kinerja tinggi fasa terbalik atau *reverse-phase high performance liquid chromatography* (RP-HPLC) dengan detektor *photodiode array* (PDA) (sistem Dionex P580-PDA (UVD340s)), instrumentasi *liquid chromatography* (LC) yang dihubungkan dengan spektrometer massa (MS) yang menggunakan teknik ionisasi semprotan elektrik

(*electrospray ionization*, ESI) LCMS HP1100 Agilent Finnigan LCQ Deca XP Thermoquest spectrometer, dan peralatan gelas. Pelarut yang digunakan pada instrumentasi HPLC-PDA dan LC-ESI-MS adalah pelarut dengan tingkat kemurnian kromatografi dan spektrofotometri. Pereaksi-pereaksi spesifik fitokimia yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff (Merck), Mayer, Wagner, Salkowsky, Liebermann-Burchard, Shinoda, dan FeCl₃ (Merck) 0,5%. Larutan CeSO₄ (Merck) 0,15% digunakan untuk pereaksi penampak noda pada plat KLT (Merck). Plat aluminium kromatografi lapis tipis berlapis silika gel F254 digunakan dalam pengujian dengan teknik KLT. Kertas cakram antibiotik (Macherey-nagel) berukuran 6 mm diaplikasikan dalam uji antibakteri. Bakteri *E. coli* dan *S. aureus* merupakan bakteri uji gram negatif dan positif, yang digunakan. Kloramfenikol (Merck) digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian antibakteri. Sel kanker 4T1, T47D, WiDr, dan L5178Y adalah sel kanker uji dengan sel normal vero sebagai pembanding.

Penyiapan Ekstrak *P. simplicissimum* dan pengujian fitokimia

Ekstrak *P. simplicissimum* (2 g) telah disiapkan sebelumnya melalui proses maserasi dengan menggunakan pelarut etil asetat (Sticher, 2008) pada *P. simplicissimum* yang dibiakkan pada media padat nasi. Ekstrak *P. simplicissimum* (1 mg) dilarutkan dengan etanol dalam tabung reaksi. Larutan ekstrak dianalisa kandungan senyawa metabolit sekunder melalui uji fitokimia dengan pereaksi-pereaksi kimia spesifik dan teknik KLT.

Analisis HPLC-PDA dan LC-MS

Ekstrak *P. simplicissimum* dianalisis dengan instrumentasi HPLC-PDA dan instrumentasi HPLC yang dihubungkan dengan spektrometer massa, yaitu *liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectra* (LC-ESI-MS) untuk memperoleh informasi kompleksitas komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak dan senyawa-senyawa utama berdasarkan data kromatogram HPLC, spektrum ultra ungu (*Ultra violet*, UV), dan spektrum massa. Ekstrak sebanyak 25 µL (1 µg/mL, metanol) diinjeksikan ke dalam loop alat instrumentasi HPLC-PDA dan dioperasikan selama 1 jam dengan panjang gelombang 235 nm, laju alir 1 mL/min, dan menggunakan gradiasi eluen metanol-air ((10:90) – (100:0)). Selanjutnya, data spektra massa masing-masing komponen senyawa yang terdeteksi pada LC diperoleh dengan cara menginjeksikan 1 ppm ekstrak (dalam metanol) ke alat instrumentasi LC-ESI-MS.

Pengujian Antibakteri

Uji antibakteri pada ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan menggunakan metoda daya hambat cakram yang mengikuti protokol standar *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CSLI) edisi 11 (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012). Daya hambat dinyatakan sebagai diameter penghambatan dalam millimeter (mm). Biakan murni *E. coli* dan *S. aureus* yang digunakan dalam penelitian selalu diremajakan. Konsentrasi ekstrak adalah 20 mg/mL dalam DMSO (Merck) dan pengukuran dilakukan secara triplo. Kertas cakram dengan ukuran diameter 6 mm digunakan sebagai wadah penempatan sampel ekstrak pada media agar. Seluruh peralatan dan bahan disterilkan dengan menggunakan alat autoclaf pada suhu 121 °C. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol.

Pengujian Aktivitas Sitotoksik

Ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan evaluasi aktivitas sitotoksik terhadap sel limfoma tikus L5178Y, sel kanker payudara T47D dan 4T1, serta sel kanker usus WiDr, yang dibandingkan dengan pengujian terhadap sel normal Vero dengan menggunakan metoda 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT) (Masriani *et al.*, 2014). Konsentrasi ekstrak *P. simplicissimum* untuk pengujian sitotoksik terhadap sel limfoma L-5178Y adalah 10 µg/mL, sedangkan pada eksperimen uji sitotoksik terhadap sel kanker 4T1, T47D, dan WiDr, konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15, 625, dan 7, 8125 µg/mL.

Pengujian Statistik

Pengukuran penghambatan sel kanker pada setiap konsentrasi dilakukan secara triplo. Data yang diperoleh dinyatakan sebagai rata-rata (mean) ± standar deviasi. Perbedaan nilai daya hambat antar konsentrasi dilakukan melalui perhitungan statistik *one-way ANOVA* dengan harga $p < 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

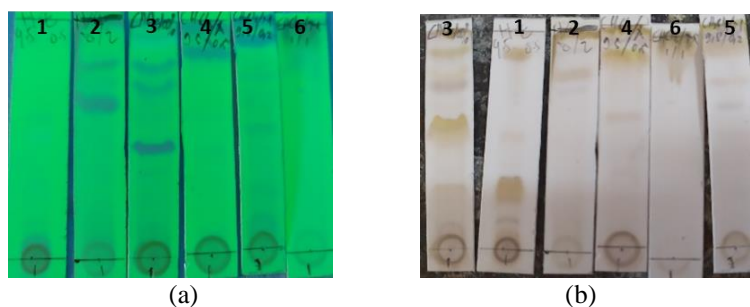
Aliquot dari 2 g ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan uji fitokimia untuk memperoleh informasi golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Hasil uji memperlihatkan keberadaan golongan senyawa fenolik, alkaloid, triterpenoid, dan steroid (Tabel 1). Berdasarkan pengamatan intensitas warna dan banyaknya endapan yang terbentuk, komponen dengan konsentrasi terbesar yang terkandung dalam ekstrak *P. simplicissimum* adalah alkaloid.

Tabel 1. Data hasil uji fitokimia ekstrak *P. simplicissimum*.

Pereaksi	Hasil	Indikasi
FeCl ₃ 5%	+	Fenolik
Shinoda	-	-
Dragendorff	++	alkaloid
Wagner	++	alkaloid
Mayer	++	alkaloid
Salkowsky	+	triterpenoid
Liebermann-Burchard	++	sterol

Analisa kromatogram KLT dan HPLC mengindikasikan bahwa komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak *P. simplicissimum* memiliki tingkat kepolaran semi polar. Hal ini ditunjukkan oleh faktor retensi noda-noda KLT dari ekstrak yang berada di bawah Rf 0,5 pada sistem eluen non polar (*n*-heksana – etil asetat (9,5:0,5) dan (8:2)), di atas Rf 0,5 pada eluen semi polar (kloroform 100%, kloroform – aseton (9,5:0,5)), dan di atas Rf 0,8 pada eluen polar (kloroform – metanol (9,8:0,2 dan 1:1)) (Gambar 1). Selain itu, data kromatogram HPLC yang dioperasikan dengan menggunakan sistem fasa terbalik dan durasi waktu 60 menit memperlihatkan sinyal-sinyal senyawa yang terdeteksi pada rentang waktu retensi t_R 20 hingga 35 menit (Gambar 2).

Analisa KLT lebih lanjut menunjukkan senyawa-senyawa yang mengandung kromofor relatif sedikit. Asumsi bahwa sederhananya kompleksitas senyawa yang berkromofor ini juga didukung dengan penampilan kompleksitas puncak yang diperlihatkan oleh kromatogram HPLC. Dua komponen senyawa yang muncul pada waktu retensi t_R 24,533 dan 27,543 menit pada kromatogram HPLC merupakan komponen senyawa dominan (Gambar 2).

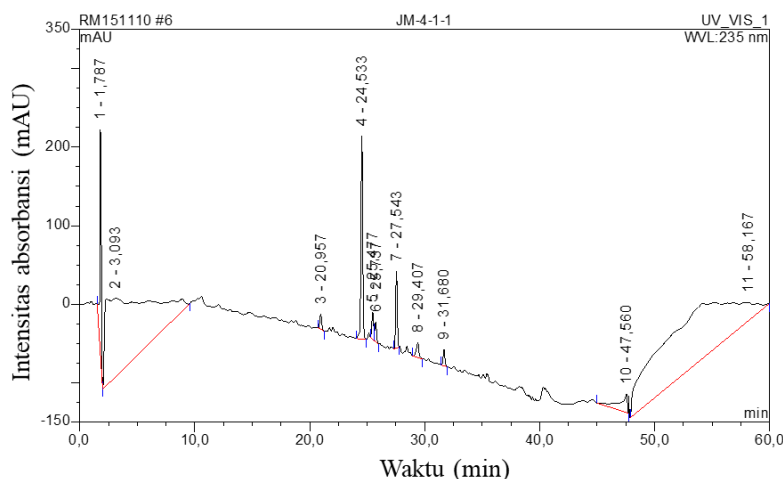


Gambar 1. Kromatogram KLT dari ekstrak *P. simplicissimum* pada sistem eluen *n*-heksana – etil asetat (9,5 : 0,5)¹ dan (8:2)², kloroform 100%³, kloroform – aseton (9,5:0,5)⁴ kloroform – metanol (9,8:0,2)⁵ dan (1:1)⁶: (a) penampilan kromatogram KLT di bawah lampu UV 254 nm (b) penampilan kromatogram KLT setelah direaksikan dengan pereaksi penampak noda CeSO₄ 0,15% dan pemanasan.

Hasil fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini memperlihatkan keberadaan alkaloid pada *P. simplicissimum* isolat dari rimpang jahe merah (Tabel 1). Penelusuran literatur memberikan informasi bahwa *P. simplicissimum* yang diisolasi dari organisme lain mengandung senyawa-senyawa alkaloid, diantaranya adalah pesimkuinolon A-H (Dai *et al.*, 2020) dan okaramina J-R (Shiono *et al.*, 1999; Shiono *et al.*, 2000).

Senyawa A terdeteksi pada sinyal yang muncul pada t_R 24,533 menit dalam HPLC yang menandakan bahwa senyawa ini bersifat semi polar. Senyawa ini memberikan panjang gelombang maksimum pada λ_{maks} 274 nm yang menunjukkan adanya kromofor ikatan rangkap terkonjugasi yang cukup panjang atau aromatik. Data spektra massa untuk senyawa ini menunjukkan ion pseudomolekular pada m/z 505 [M+H]⁺ dan 503 [M-H]⁻, yang menandakan berat molekul senyawa ini adalah 504. Lebih lanjut, munculnya fragmen pada m/z 487 [M+H-H₂O]⁺ mengindikasikan adanya gugus hidroksi dalam struktur senyawa ini. Berdasarkan data-data tersebut, perkiraan golongan ataupun jenis senyawa A ini belum dapat teridentifikasi. Merujuk pada data fisikokimia senyawa-senyawa yang ditemukan sebelumnya dari spesies jamur endofit ini, senyawa A diduga senyawa yang berbeda

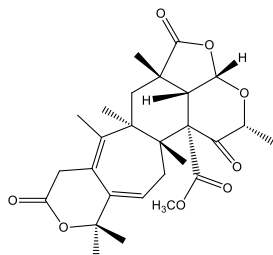
dari senyawa-senyawa tersebut. Dengan demikian, peluang mendapatkan senyawa baru dari *P. simplicissimum* dari jahe merah ini menjadi terbuka.



Gambar 2. Kromatogram HPLC dari ekstrak *P. simplicissimum*.

Senyawa B diperlihatkan melalui sinyal yang muncul pada t_R 27,543 menit yang menunjukkan senyawa ini bersifat lebih non polar dari pada senyawa A. Data spektrum UV memberikan panjang gelombang maksimum λ_{maks} 244 nm yang mengindikasikan adanya kromofor berupa ikatan rangkap terkonjugasi (Pavia *et al.*, 2009). Berat molekul senyawa dominan kedua ini adalah 472 yang dianalisa dari munculnya ion pseudomolekular pada m/z 473 $[M+H]^+$ dan 471 $[M-H]^-$. Melalui kombinasi penggunaan basis data yang tersimpan pada instrumen dan teknik ko-kromatografi, senyawa B menunjukkan data waktu retensi, spektrum UV, dan spektra massa yang identik dengan senyawa citreonigrin F (Gambar 3), suatu senyawa meroterpenoid. Senyawa citreonigrin F diisolasi sebelumnya dari *P. citreonigrum* oleh grup riset Proksch (Rusman, 2006).

Citreonigrin F dilaporkan tidak menunjukkan aktivitas antimikroba dan sitotoksik terhadap sel limfoma L-5178Y (Rusman, 2006). Meski demikian, penelusuran literatur mengungkapkan bahwa senyawa-senyawa meroterpenoid memiliki sifat aktivitas biologis dengan spektrum yang luas, yaitu antibakteri, antiinflamasi, dan anti kanker (Avunduk, 2020). Senyawa meroterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang unik dengan struktur yang sangat bervariasi. Kerangka struktur kelompok senyawa bahan alam ini terdiri atas kerangka poliketida dan terpena. Dengan teridentifikasinya keberadaan citreonigrin F pada ekstrak *P. simplicissimum*, senyawa-senyawa yang sejenis diduga terkandung di dalam ekstrak. Berdasarkan data fisikokimia senyawa meroterpena yang telah dilaporkan sebelumnya, terutama kelompok citreonigrin, pola spektrum UV yang diberikan adalah satu puncak dengan panjang gelombang maksimum 220 – 270 nm (Rusman, 2006). Oleh karena itu, analisa pola spektrum UV senyawa minor pada kromatogram HPLC-PDA ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan. Hasil analisa menunjukkan keberadaan senyawa yang sejenis dengan citreonigrin F. Dengan demikian, prospek perolehan senyawa sejenis yang aktif secara biologis dari *P. simplicissimum* ini cukup besar.



Gambar 3. Struktur senyawa citreonigrin F.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan terhadap bakteri Gram-positif, *S. aureus*, dan bakteri gram-negatif *E. coli* dengan menggunakan teknik daya hambat cakram. Kedua jenis bakteri ini digunakan untuk mengetahui spektrum antibakteri dari ekstrak *P. simplicissimum*. Hasil uji antibakteri

memperlihatkan bahwa ekstrak *P. simplicissimum* tidak dapat menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji yang ditunjukkan dalam *Supplementary Information* (SI) **Tabel S1 – S3** dan **Tabel 2**.

Sitotoksitas ekstrak dalam penelitian ini dievaluasi dengan menggunakan metoda MTT. Dimana kriteria sitotoksitas ekstrak diklasifikasikan menjadi 3 kategori berdasarkan nilai IC_{50} nya, yaitu sitotoksik sangat aktif dengan nilai $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$, sitotoksik moderat dengan $100 \mu\text{g/mL} < IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$, dan non sitotoksik dengan $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (Prayong *et al.*, 2008). Pengujian aktivitas sitotoksik ekstrak *P. simplicissimum* dilakukan terhadap kultur sel kanker payudara 4T1, dan T47D, serta kultur sel kanker usus WiDr. Hasil uji memberikan nilai IC_{50} 296,81; 216,44; dan 310,19 $\mu\text{g/mL}$, terhadap kultur sel kanker 4T1, T47D, dan WiDr secara berurutan. Data hasil uji ini memperlihatkan bahwa ekstrak *P. simplicissimum* bersifat sitotoksik secara moderat terhadap sel-sel kanker tersebut. Hasil uji sitotoksitas ini adalah pertama kali yang dilaporkan dari ekstrak *P. simplicissimum*.

Tabel 2. Data hasil uji antibakteri dan sitotoksik ekstrak *P. simplicissimum*.

Antibakteri (d, mm)		Sitotoksik (IC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)		
<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	4T1	T47D	WiDr
6	6	296,81	216,44	310,19

KESIMPULAN

Ekstrak *P. simplicissimum* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, triterpenoid, sterol, dan fenolik. Berdasarkan analisa data HPLC-PDA dan LC-MS *P. simplicissimum* yang diisolasi dari jahe merah ini, salah satu komponen utama, yaitu senyawa B, diduga merupakan citreonigrin F, suatu senyawa meroterpenoid. Ekstrak jamur endofit *P. simplicissimum* tidak memberikan sifat antibakteri terhadap bakteri uji. Namun, ekstrak jamur endofit *P. simplicissimum* bersifat sitotoksik moderat terhadap sel kanker uji.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada FKIP Universitas Tanjungpura atas pemberian dana hibah PNBPDIPA FKIP Untan 2021 untuk penelitian ini.

INFORMASI PENDUKUNG

Informasi pendukung (*Supplementary Information*, SI) artikel ini dapat dilihat pada tautan <https://jurnal.uns.ac.id/alchemy/rt/suppFiles/50170/0>.

DAFTAR PUSTAKA

- Aly, A. H., Debbab, A., and Proksch, P., 2011. Fungal endophytes: Unique Plant Inhabitants with Great Promises. *Applied Microbiology and Biotechnology* 90 (6), 1829–1845. doi: 10.1007/s00253-011-3270-y.
- Ancheeva, E., Daletos, G., and Proksch, P., 2020. Bioactive Secondary Metabolites from Endophytic Fungi. *Current Medicinal Chemistry* 27 (11), 1836–1854. doi: 10.2174/0929867326666190916144709.
- Avunduk, S., 2020. Cytotoxicity Meroterpenes: A Review. *Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Research* 3 (2), 1–11.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved standard - Eleventh edition* (Vol. 32). doi: M02-A11.
- Dai, C., Chen, C., Guan, D., Chen, H., Wang, F., Wang, W., Zang, Y., Li, Q., Wei, M., Li, X., Zhang, X., Wang, J., Zhou, Q., Zhu, H., and Zhang, Y., 2020. Pesimquinolones Produced by *Penicillium simplicissimum* and Their Inhibitory Activity on Nitric Oxide Production. *Phytochemistry* 174, 112327. doi: 10.1016/j.phytochem.2020.112327.
- Ebada, S. S., and Ebrahim, W., 2020. Quinoisobutyride A, An Acyclic Antibacterial Tetrapeptide Incorporating an Unprecedented Heterocyclic Amino Acid Residue from the Hypersaline Lake-Derived Fungus *Penicillium simplicissimum* Strain WSH17. *Phytochemistry Letters* 36, 5–98. doi: 10.1016/j.phytochem.2020.01.022.
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z. E., and Rahmat, A., 2016. Variation of the Phytochemical Constituents and Antioxidant Activities of *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade Associated with Different Drying Methods and Polyphenol Oxidase Activity. *Molecules* 21 (6). doi: 10.3390/molecules21060780.
- Globocan, 2020. *Globocan 2020: new global cancer data*. <https://www.uicc.org/news/globocan-2020-new-global-cancer-data> (diakses pada 4 April 2022).

- Jia, M., Chen, L., Xin, H. L., Zheng, C. J., Rahman, K., Han, T., and Qin, L. P., 2016. A Friendly Relationship Between Endophytic Fungi and Medicinal Plants: A Systematic Review. *Frontiers in Microbiology* 7, 1–14. doi: 10.3389/fmicb.2016.00906.
- Komai, S.I., Hosoe, T., Itabashi, T., Nozawa, K., Okada, K., Takaki, G.M.C., Yaguchi, T., Takizawa, K., Fukushima, K., and Kawai, K. I. 2005. Two New Merotrienoids, Penisimplicin A and B, Isolated from *Penicillium simplicissimum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53(99), 1114–1117.
- Komai, S. I., Hosoe, T., Itabashi, T., Nozawa, K., Yaguchi, T., Fukushima, K., and Kawai, K. I., 2006. New Penicillide Derivatives Isolated from *Penicillium simplicissimum*. *Journal of Natural Medicines* 60 (3), 185–190. doi: 10.1007/s11418-005-0028-9.
- Masriani, Mustofa, Jumina, Sunarti, and Enawaty, E., 2014. Cytotoxic and Pro-Apoptotic Activities of Crude Alkaloid from Root of Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* (Miers) Diels) in Human Breast Cancer T47D Cell Line. *Scholars Academic Journal of Biosciences* 2 (5), 336–340.
- Pamungkas, Y. P., and Dewi, M., 2013. Efek Antibakteri Perasan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* secara In vitro. *Jurnal Farmasetis* 2 (2), 46–51.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, J.S., and Vyvyan, J.R., 2009. Introduction to Spectroscopy 4th ed. Brooks/Cole, Belmont, USA.
- Prayong, P., Barusrux, S., and Weepreeyakul., 2008. Cytotoxic Activity Screening of Some Indigenous Thai Plants. *Fitoterapia* 79, 598 – 601. doi:10.1016/j.fitote.2008.06.007
- Rialita, T., Rahayu, W.P., Nuraida, L., and Nurtama, B., 2015. Aktivitas Antimikroba Minyak Esensial Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dan Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan. *Agritech* 35(1), 43–52.
- Rusman, Y., (2006). Isolation of New Secondary Metabolites from Spong-Associated and Plant-Derived Endophytic Fungi. *Ph.D. Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*, 303.
- Shiono, Y., Akiyama, K., Hayashi, H., 1999. New Okaramine Congeners, Okamines J, K, L, M and Related Compounds, from *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 63 (11), 1910–1920. doi: 10.1271/bbb.63.1910.
- Shiono, Y., Akiyama, K., and Hayashi, H., 2000. Okaramines N, O, P, Q and R, New Okaramine Congeners, from *Penicillium simplicissimum* ATCC 90288. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 64, 103–110. doi: 10.1271/bbb.64.103.
- Sticher, O., 2008. Natural Product Isolation. *Natural Product Reports* 25, 517–554. doi: 10.1039/b700306b.
- Supu, R. D., Diantini, A., and Levita, J., 2019. Red ginger (*Zingiber officinale* var. *rubrum*): its Chemical Constituents, Pharmacological Activities, and Safety. *Fitofarmaka: Jurnal Ilmiah Farmasi* 8 (1), 23–29. doi: 10.33751/jf.v8i1.1168.
- Waqas, M., Khan, A. L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S. M., Kim, Y. H., and Lee, I. J., 2012. Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host-Plant Growth During Stress. *Molecules* 17(9), 10754–10773. doi: 10.3390/molecules170910754.
- Xu, R., Li, X. M., and Wang, B. G., 2016. Penisimplicins A–C, Three New Dihydroisocoumarins from *Penicillium simplicissimum* MA-332, a Marine Fungus Derived from the Rhizosphere of the Mangrove Plant *Bruguiera sexangula* var. *rhynchopetala*. *Phytochemistry Letters* 17, 114–118. doi: 10.1016/j.phytol.2016.07.003.
- Yuan, Y., Feng, H., Wang, L., Li, Z., Shi, Y., Zhao, L. H., Feng, Z., and Zhu, H., 2017. Potential of Endophytic Fungi Isolated from Cotton Roots for Biological Control against Verticillium Wilt Disease. *PLoS ONE* 12 (1), 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0170557.
- Zhang, S., Kou, X., Mak, K., Balijepalli, M.K., and Pichika, M.R., 2022. *Zingiber officinale* var. *rubrum*: Red Ginger's Medicinal Uses. *Molecules* 27, 775. doi: 10.3390/molecules27030775.