

**UJI TOKSISITAS ISOLAT HASIL FERMENTASI KAPANG ENDOFIT DARI  
TANAMAN *Garcinia tetrandra* Pierre dan  
*Garcinia mangostana* Linn DENGAN METODE BSLT**

**WIDIAWATI PUSPITASARI**

**0305250689**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
DEPARTEMEN FARMASI  
PROGRAM SARJANA EKSTENSI  
DEPOK  
2008**

**UJI TOKSISITAS ISOLAT HASIL FERMENTASI KAPANG ENDOFIT DARI  
TANAMAN *Garcinia tetrandra* Pierre dan  
*Garcinia mangostana* Linn DENGAN METODE BSLT**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Farmasi**

**WIDIAWATI PUSPITASARI  
0305250689**



**DEPOK  
2008**

**SKRIPSI : UJI TOKSISITAS ISOLAT HASIL FERMENTASI KAPANG  
ENDOFIT DARI TANAMAN *Garcinia tetrandra* Pierre dan  
*Garcinia mangostana* Linn DENGAN METODE BSLT**

**NAMA : WIDIAWATI PUSPITASARI**

**NPM : 0305250689**

**SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI**

**DEPOK, JULI 2008**



**Dr. Atiek Soemiati, MS**

**PEMBIMBING I**



**Dr. Abdul Mun'im, MS**

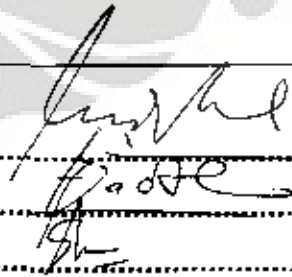
**PEMBIMBING II**

**Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana :**

**Penguji I : Prof. Dr. Endang Hanani, MS.....**

**Penguji II : Dra. Farida Ibrahim, Apt.....**

**Penguji III : Santi Purna Sari, MSi.....**



## KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Dr. Atiek Soemiati, MS, selaku pembimbing skripsi yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Abdul Mun'im, MS, selaku ketua program Ekstensi Farmasi FMIPA UI dan pembimbing skripsi yang bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Maksun Radji, M. Biomed, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Sembah sujud ananda kepada Bapak dan MamiQ tercinta atas kasih sayang, doa dan keikhlasan hati serta pengorbanan yang tiada henti-hentinya dicurahkan kepada penulis.

5. Staf pengajar dan seluruh karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI, atas didikan dan bantuannya selama ini.
6. Kakak-kakakku, adik serta keponakan-keponakanku tersayang yang selalu memberikan perhatian, pengertian, dukungan serta doa selama penulis menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
7. Untuk Anak Lanang (Anto) terima kasih atas semua rasa sayang dan dukungannya selama ini.
8. Sahabat-sahabat senasib terutama di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi atas kebersamaan dan kekompakan selama penelitian ini.
9. Sahabatku Dijah, Hanifah, Incip, Ade Laura, Haniefah, Rustianti, Renita, Ryeke, Dina, Oki dan Yuz atas dukungan yang telah diberikan selama ini.
10. Teman-teman ekstensi Farmasi UI khususnya angkatan 2005, semoga kita dapat menjalin kerjasama yang lebih baik untuk selanjutnya.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam skripsi ini. Namun, besar harapan penulis agar penelitian ini dapat menyumbangkan manfaat ilmu pengetahuan, khususnya di bidang farmasi dan masyarakat pada umumnya.

Penulis

2008

## ABSTRAK

Endofit adalah mikroorganisme yang membentuk koloni di dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala negatif pada inangnya. Kapang adalah salah satu bentuk mikroorganisme endofit yang paling banyak ditemukan. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba endofit dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang pada umumnya menunjukkan potensi sebagai antikanker.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas isolat hasil fermentasi kapang endofit dari tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre dan *Garcinia mangostana* Linn, diperoleh 20 isolat. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah uji kematian larva *Artemia salina* Leach, dikenal dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Isolat kapang endofit difermentasi dengan media *Potato Dextrose Yeast* (PDY), kemudian diekstraksi dengan etil asetat dan *n*-butanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai *Lethal Concentration* (LC<sub>50</sub>) dari 20 isolat kapang endofit baik dari ekstrak etil asetat maupun *n*-butanol memiliki syarat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> < 1000 µg/ml.

Kata kunci : Kapang endofit;toksisitas;Artemia salina;BSLT;LC<sub>50</sub>

x + 88 hlm.;gbr.;lamp.;tab.

Bibliografi: 27 (1994 – 2007)

## ABSTRACT

Endophyte is microbes that colonize living tissues without causing any negative effect to their host plants. Molds are one of the endophyte most frequently isolated. Secondary metabolite which is produced by endophyte microbe reported possesses antimicrobial activity which is generally have potensial as anticancer.

The aim of this research is to know the toxicity of fermentation product of endophyte mold that was isolated from plant *Garcinia tetrandra* Pierre and *Garcinia mangostana* Linn, got 20 isolates endophyte mold. The method that was used in this research was the lethality test of *Artemia salina* Leach larvae, which is known as *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). The isolate of endophyte molds were fermented in medium *Potato Dextrose Yeast* (PDY) and then were extracted with ethyl acetic and *n* - buthanol. The result of this research showed that *lethal concentration* (LC<sub>50</sub>) from 20 isolates of endophyte mold from ethyl acetic extracts and *n* - buthanol extracts had toxicity with LC<sub>50</sub> < 1000 µg/ml.

Word key: Endophyte mold;toxicity;Artemia salina;BSLT;LC<sub>50</sub>

x + 88 hlm.:gbr.:lamp.:tab.

Bibliografi : 27(1994 – 2007)

## DAFTAR ISI

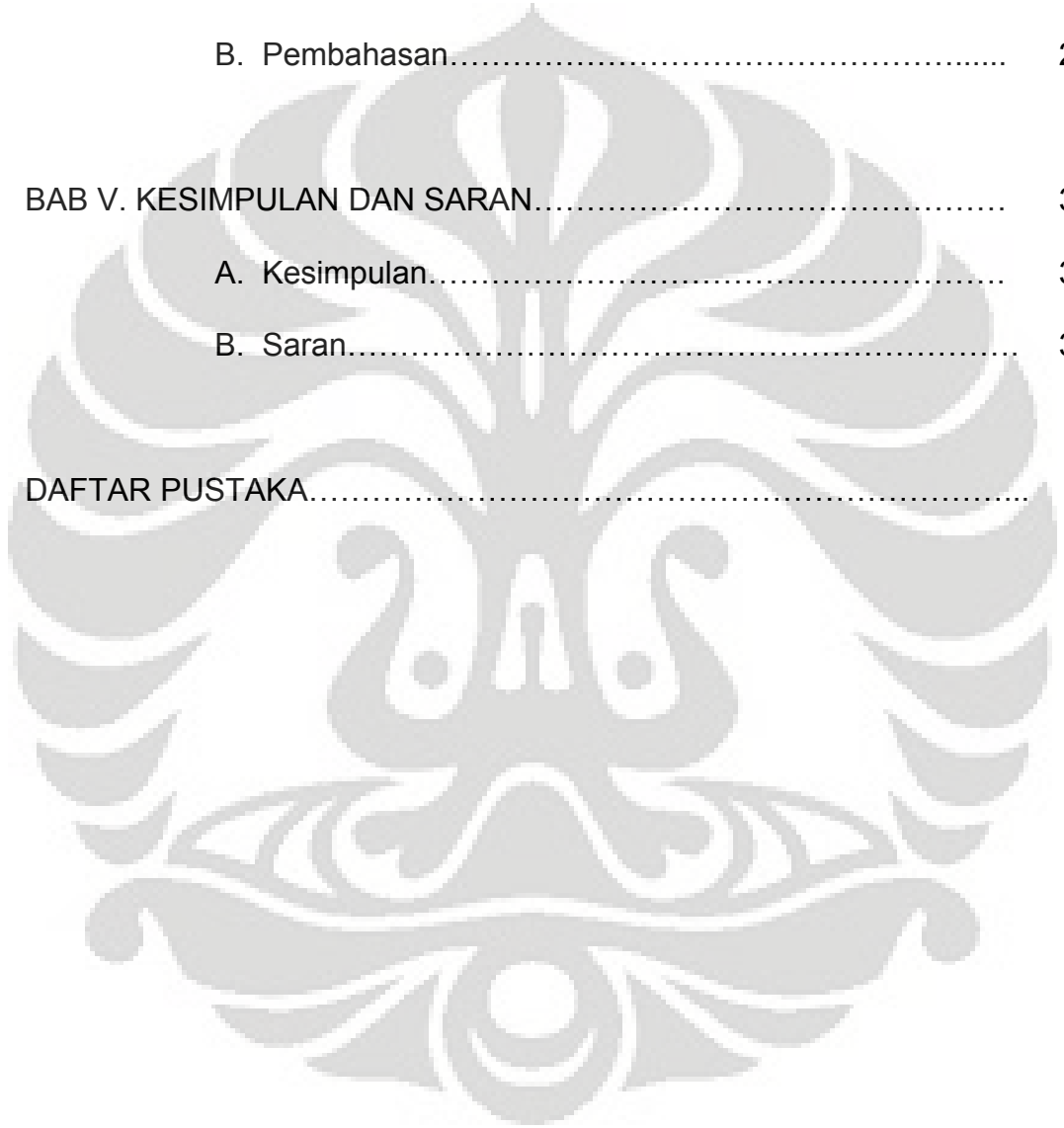
Halaman

KATA PENGANTAR.....	i
ABSTRAK.....	iii
ABSTRACT.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Mikroba Endofit.....	5
B. Metabolit Sekunder Kapang Endofit.....	6
C. <i>Garcinia mangostana</i> L dan <i>Garcinia tetrandra</i> P.....	8
1. Nama lain.....	9
2. Kandungan kimia.....	9



3. Deskripsi.....	9
4. Manfaat.....	10
D. Fermentasi.....	10
E. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT.....	11
1. <i>Artemia salina</i> Leach.....	12
2. BSLT.....	13
BAB III. BAHAN DAN CARA KERJA.....	15
A. Bahan Uji.....	15
B. Hewan Uji.....	15
C. Medium.....	15
D. Bahan Kimia.....	15
E. Alat Kerja.....	16
F. Cara Kerja.....	16
1. Pembuatan Medium Peremajaan Isolat Kapang Endofit.....	16
2. Pembuatan Medium Fermentasi Kapang Endofit.....	16
3. Peremajaan Isolat Kapang Endofit.....	17
4. Fermentasi dan Ekstraksi Kapang Endofit.....	17
5. Uji Toksisitas dengan BSLT.....	18
- Penetasan <i>Artemia salina</i> Leach.....	18
- Uji Toksisitas.....	19

G. Pengamatan Kapang Endofit.....	20
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
A. Hasil.....	21
B. Pembahasan.....	29
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
A. Kesimpulan.....	35
B. Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman <i>Garcinia tetrandra</i> Pierre dan <i>Garcinia mangostana</i> Linn...	41
2. Isolat kapang endofit C41 secara makroskopis dan mikroskopis.....	42
3. Isolat kapang endofit F12 secara makroskopis dan mikroskopis.....	43
4. Isolat kapang endofit E12 secara makroskopis dan mikroskopis.....	44
5. Isolat kapang endofit A32 secara makroskops dan mikroskopis.....	45
6. Isolat kapang endofit D12 secara makroskopis dan mikroskopis.....	46
7. Isolat kapang endofit A31 secara makroskopis dan mikroskopis.....	47
8. Isolat kapang endofit D21 secara makroskopis dan mikroskopis.....	48
9. Isolat kapang endofit E22 secara makroskopis dan mikroskopis.....	49
10. Isolat kapang endofit D4M secara makroskopis dan mikroskopis.....	50
11. Isolat kapang endofit D5A secara makroskopis dan mikroskopis.....	51
12. Isolat kapang endofit D5C secara makroskopis dan mikroskopis.....	52
13. Isolat kapang endofit R2B secara makroskopis dan mikroskopis.....	53
14. Isolat kapang endofit D10 secara makroskopis dan mikroskopis.....	54
15. Isolat kapang endofit R7 secara makroskopis dan mikroskopis.....	55
16. Isolat kapang endofit R13A secara makroskopis dan mikroskopis.....	56
17. Isolat kapang endofit R6 secara makroskopis dan mikroskopis.....	57
18. Isolat kapang endofit R9M secara makroskopis dan mikroskopis.....	58
19. Isolat kapang endofit R15B secara makroskopis dan mikroskopis.....	59
20. Isolat kapang endofit R13B secara makroskopis dan mikroskopis.....	60
21. Isolat kapang endofit R20 secara makroskopis dan mikroskopis.....	61

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Isolat – Isolat kapang Endofit.....	63
2. Hasil uji toksisitas ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) terhadap ekstrak etil asetat isolat kapang endofit.....	64
3. Hasil uji toksisitas ( <i>Brine Shrimp Lethality Test</i> ) terhadap ekstrak <i>n</i> -butanol isolat kapang endofit .....	65
4. Nilai LC <sub>50</sub> isolat kapang endofit.....	66

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema cara kerja.....	67
2. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit C41.....	68
3. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit F12.....	68
4. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit E12.....	69
5. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit A32.....	69
6. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D12.....	70
7. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit A31.....	70
8. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit E22.....	71
9. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D21.....	71
10. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit F12.....	72
11. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit E12.....	72
12. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit A32.....	73
13. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit D12.....	73
14. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak	

<i>n</i> - butanol isolat kapang endofit A31.....	74
15. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit E22.....	74
16. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit C41.....	75
17. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit D21.....	75
18. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D4M.....	76
19. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D5A.....	76
20. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D5C.....	77
21. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R2B.....	77
22. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit D10.....	78
23. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R7.....	78
24. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R13A.....	79
25. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R6.....	79
26. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R9M.....	80
27. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R15B.....	80
28. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak etil asetat isolat kapang endofit R13B.....	81
30. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak	

etil asetat isolat kapang endofit R20.....	81
31. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit D4M.....	82
32. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit D5A.....	82
33. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit D5C.....	83
34. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R2B .....	83
35. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> -butanol isolat kapang endofit D10 .....	84
36. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R7. ....	84
37. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> -butanol isolat kapang endofit R13A.....	85
38. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R6.....	85
39. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R9M.....	86
40. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R15B.....	86
41. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R13B.....	87
42. Hasil perhitungan LC <sub>50</sub> dengan program analisa probit untuk ekstrak <i>n</i> - butanol isolat kapang endofit R20.....	87
43. Rumus Perhitungan LC <sub>50</sub> dengan Metode Interpolasi Linear ( <i>Linear Interpolation method</i> ).....	88

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. LATAR BELAKANG**

Indonesia adalah Negara yang mempunyai keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia (1). Salah satu kekayaan Indonesia yang belum banyak diteliti adalah metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba endofit (2), mikroba endofit mempunyai arti ekonomis penting di masa depan karena menyimpan potensi tak terbatas yang saat ini belum diaplikasikan, dalam bidang Industri Farmasi dan Pertanian sebagai sumber bahan baku obat, enzim dan senyawa biologis yang berkhasiat lainnya (3). Beberapa dekade terakhir (sejak 1986) banyak penelitian yang dilakukan terhadap organisme endofit karena kemampuannya menghasilkan metabolit sekunder yang bermanfaat (4).

Mikroba yang hidup di alam ini tersebar luas, hampir di semua bagian bumi ini terdapat mikroba tidak hanya yang hidup dengan melakukan kontak langsung dengan lingkungan tetapi berjuta-juta jenis mikroba juga ditemukan hidup di dalam jaringan hidup manusia, tanaman, hewan, ataupun jenis avertebrata. Salah satu jenis mikroba yang hidup di dalam jaringan hidup tanaman dikenal sebagai mikroba endofit (5).



Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup didalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya (1). Mikroba endofit yang terdapat di alam dapat berupa fungi (kapang dan khamir), bakteri, mycoplasma dan archaeobakteria. Namun, antara kapang dan bakteri endofit yang paling banyak ditemukan adalah kapang endofit sebanyak dua per tiga dari jumlah mikroorganisme (6). Fungi atau kapang endofit organisme yang hidup didalam jaringan tanaman, dan mampu meningkatkan daya tahan tanaman terhadap kondisi buruk, dapat memproduksi fitohormon, enzim dan bahan obat (7).

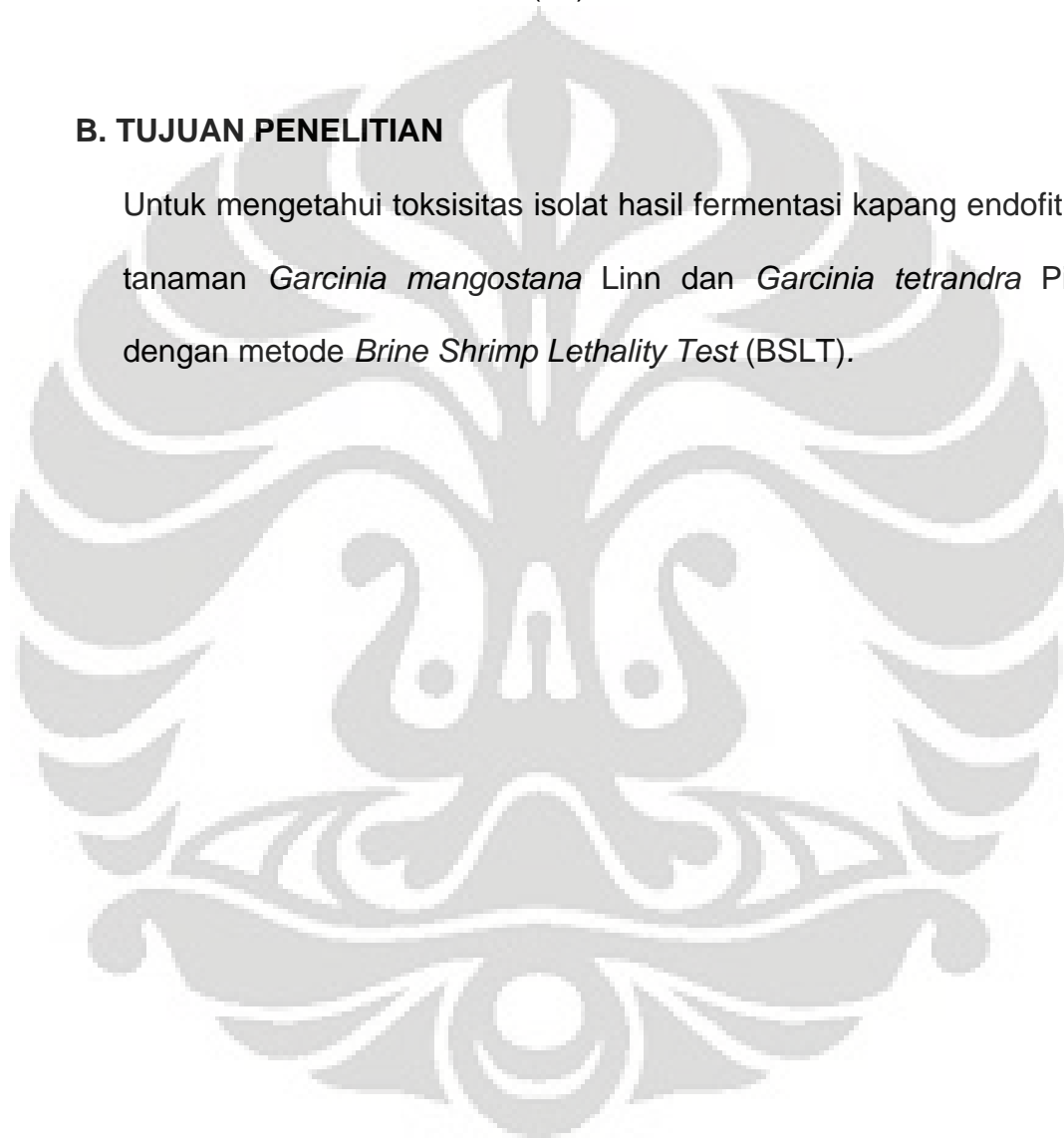
Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroba endofit ini diketahui dapat memiliki aktivitas antimikroba, antioksidan, antibiotika, antivirus, antikanker, antimalaria, antidiabetes dan immunosupresif (1,5). Alam Indonesia dengan hutan hujan tropisnya yang memiliki keanekaragaman jenis tanaman tinggi ditumbuhi *Garcinia*. Senyawa xanton yang terdapat pada genus *Garcinia* diketahui memiliki beberapa aktivitas biologis seperti antimikroba, antimalaria dan antioksidan (8,9,10)

Peneliti terdahulu melaporkan bahwa senyawa xanton bersifat sitotoksik (*in vivo*), sedangkan secara *in vitro* senyawa ini mempunyai daya aktivitas sebagai antitumor, antijamur, antibakteri, antituberkulosis dan antiradang (12). Penelitian menunjukkan pula

bahwa sebagian besar tanaman yang mempunyai aktivitas antimikroba pada umumnya menunjukkan potensi sebagai antikanker karena toksisitas yang dimiliki tersebut dapat pula bekerja mempengaruhi fase tertentu dari siklus sel tumor (13).

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Untuk mengetahui toksisitas isolat hasil fermentasi kapang endofit dari tanaman *Garcinia mangostana* Linn dan *Garcinia tetrandra* Pierre dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Mikroba Endofit

Sejak penemuan endofit di Darnel (Jerman) pada tahun 1994, masih ada perbedaan pendapat diantara para ahli tentang definisi baku dari mikroba endofit (4). Bacon (1999) mendefinisikan endofit sebagai mikroorganisme yang membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit pada inangnya (4). Petrini (1988) juga telah memberikan definisi bahwa mikroba endofit adalah semua jenis mikroorganisme yang sebagian atau seluruh hidupnya berada dalam tanaman inangnya (5).

Hubungan endofit dengan inangnya yang bersifat simbiosis mutualisme atau komensalisme terjadi akibat adanya kesetimbangan interaksi antara endofit dengan inangnya. Namun seiring dengan luasnya pengamatan keragaman dari endofit terlihat bahwa hubungan endofit dengan inangnya yang bersifat simbiosis mutualisme atau komensalisme dapat berubah menjadi parasitisme apabila keseimbangan interaksi antara tanaman inang dengan endofit terganggu. Perubahan

interaksi tersebut dapat terjadi karena perubahan keseimbangan nutrisi, perubahan inang dan faktor genetik (4, 14).

Tipe interaksi antara mikroba endofit dengan tanamannya merupakan hubungan yang saling menguntungkan, yaitu tanaman memberikan nutrisi bagi mikroba, sementara mikroba mentransformasikannya dan menghasilkan senyawa bioaktif (6). Kapang endofit dapat diisolasi dari hampir semua jaringan tanaman, namun memerlukan seleksi dan skrining yang ketat untuk dapat mengidentifikasi kapang endofit yang menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis. Perlu dilakukan skrining berulang-ulang dengan berbagai tehnik agar didapat tehnik skrining yang efektif dan efisien (5).

## **B. Metabolit Sekunder Kapang Endofit**

Perkembangan penelitian endofit ini membuka pemikiran untuk melakukan riset lebih lanjut apakah senyawa karakteristik tersebut dihasilkan oleh tumbuhan inang, mikroba endofit ataukah hasil interaksi diantara keduanya. Peluang yang lain kemungkinan pemanfaatan mikroba endofit yang menghasilkan metabolit sekunder sebagai sumber yang kaya untuk

mendapatkan bahan bioaktif dan senyawa bermanfaat dengan potensi sebagai obat dan bidang pertanian (3).

Sejauh ini studi yang dilakukan terhadap endofit dari jaringan tanaman yang kontak langsung dengan udara (daun, ranting, cabang dan batang) memberikan peluang nilai ekonomi yang tinggi, yaitu diantaranya mampu menghasilkan metabolit sekunder seperti enzim-enzim perombak (*degrading enzymes*), zat pengatur tumbuh tanaman, antifungal dan antibiotik (6).

Banyak kapang endofit yang mampu menghasilkan senyawa – senyawa bioaktif. Sebagai contoh adalah kapang endofit *Taxomyces andreanae* yang mampu menghasilkan senyawa antikanker, yaitu *Taxol*. Senyawa ini ternyata juga dihasilkan oleh tumbuhan inangnya yaitu *Taxus brefolia*. Kapang endofit umumnya mampu menghasilkan senyawa yang sama dengan senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan inangnya (7).

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder sesuai dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder dari mikroba endofit yang diisolasi dari tanamannya. Dari sekitar 300.000 jenis tanaman yang tersebar di muka bumi ini, masing-masing tanaman mengandung satu atau lebih mikroba endofit yang

terdiri dari bakteri dan jamur (1). Setiap tanaman tingkat tinggi dapat mengandung beberapa mikroba endofit yang mampu menghasilkan senyawa biologi atau metabolit sekunder yang diduga sebagai akibat koevolusi atau transfer genetik dari tanaman inangnya ke dalam mikroba endofit (1).

### C. *Garcinia mangostana* Linn dan *Garcinia tetrandra* Pierre

Berdasarkan taksonominya, tanaman *Garcinia mangostana* Linn dan *Garcinia tetrandra* Pierre diklasifikasikan sebagai berikut (13) :

Regnum : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Parietales

Famili : Cluciceae

Genus : *Garcinia*

Spesies : 1. *Garcinia mangostana* Linn

2. *Garcinia tetrandra* Pierre

### 1. Nama lain

- *Garcinia mangostana* Linn : Buah manggis
- *Garcinia tetrandra* Pierre : Manggis putih atau manggis hutan (kandis)

### 2. Kandungan Kimia

*Garcinia tetrandra* Pierre ini mengandung kira-kira 50 % senyawa xanton (memiliki aktivitas biologi maupun farmakologi seperti antioksidan dan antimikroba), camboginol dan cambogin. Pada *Garcinia mangostana* Linn komponen utama adalah xanton ( $\alpha$  – mangostin,  $\beta$  – mangostin,  $\gamma$  – mangostin), triterpenoid dan 3,4',5-dihydroxy-3',4,5 – trimethoxybiphenyl.

### 3. Deskripsi

*Garcinia tetrandra* Pierre umumnya tersebar di P. Kalimantan, P. Mindanau dan P. Palo. Tumbuhan dari genus *Garcinia* ini biasanya pohonnya kecil atau sedang, jarang ditemukan pohon besar dan ketinggiannya sampai 30 m, kulit batangnya coklat tua atau hitam biasanya bergetah kuning kadang putih, bunganya uniseksual. *Garcinia mangostana* Linn umumnya tersebar P. Mindanau, P. Kalimantan, Jawa Barat, Sumatra Barat, Riau, Jawa Timur dan Sulawesi Utara. Tumbuhan genus *Garcinia* ini ketinggian pohonnya 7-20 m, biasanya tumbuh di daerah tropis, batang tegak, kulit batang coklat, memiliki getah kuning, daun tunggal dan bunganya biseksual.

### 4. Manfaat

Secara tradisional buah manggis digunakan untuk obat sariawan, wasir dan luka. Kulit buah sebagai pewarna termasuk tekstil, air rebusannya

dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Batang pohon dipakai sebagai bahan bangunan, kayu bakar/kerajinan. Buah manggis putih (kandis) dapat digunakan sebagai bumbu dapur. Pemanfaatan lain adalah sebagai sumber bahan pewarna.

#### **D. Fermentasi**

Fermentasi adalah proses produksi energi dalam sel dalam keadaan anaerobik (tanpa oksigen) atau proses yang memanfaatkan kemampuan mikroba untuk menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder dalam suatu lingkungan yang dikendalikan (15). Dalam bioproses, fermentasi memegang peranan penting karena merupakan proses utama bagi produksi senyawa-senyawa berbasis biologi. Senyawa yang dihasilkan merupakan hasil metabolit dari mikroba, seperti antimikroba, asam-asam organik, aldehyd dan alkaloid (15).

Medium yang digunakan dalam fermentasi harus memenuhi syarat seperti : mengandung nutrisi yang dibutuhkan bagi pertumbuhan sel mikroba. Mengandung nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi mikroba, tidak mengandung zat yang dapat membahayakan pertumbuhan sel dan tidak terdapat kontaminan yang dapat meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat (15).



### E. Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test*

. Uji toksisitas ditujukan untuk memaparkan adanya efek toksik dan untuk menilai batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan suatu senyawa terhadap sel hidup. Pengukuran toksisitas dapat ditentukan dengan cara kuantitatif yang bermanfaat untuk menyatakan keamanan dan tingkat berbahaya dari zat tersebut (16).

Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan lain-lain. Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap organisme hewan dapat digunakan untuk menapis ekstrak tumbuhan yang mempunyai bioaktivitas (17).

#### 1. *Artemia salina* Leach (larva udang)

Salah satu organisme yang sangat sesuai untuk hewan uji tersebut adalah *Brine Shrimp* (udang laut). *Brine Shrimp Lethality Test* sudah digunakan untuk berbagai sistem *bioassay* yaitu untuk menganalisis residu pestisida, mikotoksin, polutan pada air sungai, anestetik, toksin dll (18).

*Artemia salina* atau *Brine shrimp* merupakan kelompok udang-udangan dari phylum Arthropoda. Mereka berkerabat dekat dengan zooplankton lain seperti copepode dan daphnia (kutu air). *Artemia* hidup di danau-danau garam yang

ada di seluruh dunia. Udang ini toleran terhadap selang salinitas yang sangat luas, mulai dari nyaris tawar hingga jenuh garam. Apabila kadar garam kurang dari 6% telur artemia akan tenggelam sehingga telur tidak bisa menetas. Kadar garam lebih dari 25% telur akan tetap berada dalam kondisi tersuspensi, sehingga dapat menetas dengan normal (19,20).

Siklus Hidup *Artemia salina* Leach bisa dimulai dari saat menetasnya kista atau telur, setelah 15-20 jam pada suhu 25° C kista akan menetas menjadi embrio. Dalam waktu beberapa jam embrio ini masih akan tetap menempel pada kulit. Pada fase ini embrio akan menyelesaikan perkembangannya kemudian berubah menjadi naupli yang sudah akan berenang bebas. Artemia yang baru menetas tidak akan makan, karena mulut dan anusnya belum terbentuk dengan sempurna. Setelah 12 jam menetas mereka akan ganti kulit dan memasuki tahap larva kedua. Dalam fase ini mereka akan mulai makan dengan pakan berupa mikro alga, bakteri dan detritus organik lainnya. Pada dasarnya mereka tidak peduli (tidak memilih jenis pakan yang dikonsumsinya selama bahan tersebut tersedia di air dengan ukuran yang sesuai (20).

## 2. BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

BSLT merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari alam. Metode ini pertama kali digunakan untuk menentukan keberadaan residu insektisida atau DDT, parathion dieldrin dan lain-lain

Metode BSLT ini sering digunakan untuk penapisan awal terhadap zat aktif dari tanaman karena murah, cepat, mudah dan hasilnya dapat dipercaya. Selain itu metode ini juga dapat dipakai untuk penapisan awal senyawa-senyawa yang diduga berkhasiat sebagai antikanker. Uji ini sering sekali mempunyai korelasi positif dengan potensinya sebagai antikanker (17). Metode *bioassay* dengan BSLT dapat digunakan untuk laboratorium skala kecil karena pengerjaannya sederhana atau tidak membutuhkan biaya mahal, metode ini sering digunakan karena metode ini peka, cepat, mudah dan sederhana (21). Hasil uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian anak udang *Artemia salina* Leach. Karena pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam tumbuhan tertentu dan dosis yang telah ditentukan. Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya  $LC_{50}$  selama 24 jam (22). Toksisitas ditentukan dengan melihat harga  $LC_{50}$  yang dihitung berdasarkan Analisis probit. Ekstrak ditentukan dengan melihat  $LC_{50}$  nya lebih kecil atau sama dengan  $1000 \mu\text{g/ml}$  ( $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ ) (19).

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Bahan Uji

Isolat kapang endofit dari tanaman *Garcinia mangostana* Linn yang diperoleh dari peneliti di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Farmasi, FMIPA-UI, dan isolat kapang endofit dari tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre yang diperoleh dari penelitian terdahulu di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Farmasi, FMIPA-UI.

#### B. Hewan Uji

*Artemia salina* Leach (larva udang).

#### C. Medium

- a. Medium yang digunakan untuk pemurnian dan peremajaan kapang endofit yaitu *Potato Dextrose Agar (PDA)*.
- b. Medium yang digunakan untuk fermentasi kapang endofit yaitu *Potato Dextrose Broth (PDB)* dan *Yeast Extract*.

#### D. Bahan Kimia

Pelarut kimia yang digunakan untuk ekstraksi adalah etil asetat dan *n*-butanol. Bahan kimia yang ditambahkan pada medium fermentasi

adalah kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ). Bahan kimia yang digunakan untuk medium penetasan *Artemia salina* Leach yaitu NaCl dan  $\text{NaHCO}_3$ . Bahan kimia yang digunakan untuk identifikasi secara mikroskopik adalah *Lactofenol Cotton Blue* (LFCB).

#### **E. Alat**

*Laminair Air Flow (LAF)*, incubator, oven, autoklaf, *orbital shaker*, timbangan analitik, *vortex mixer*, *sentrifuge*, *hotplate*, *aerator* dan alat pengaduk, mikropipet, pipet tetes, vial dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di Laboratorium Mikrobiologi.

#### **F. Cara Kerja**

##### **1. Pembuatan Medium Fermentasi Kapang Endofit**

PDB ditimbang sebanyak 24 g/l, *yeast extract* sebanyak 2 g/l, dan  $\text{CaCO}_3$  sebanyak 5 g/l, dimasukkan dalam labu bulat tambahkan sedikit  $\text{CaCO}_3$  dan dicek pH 6. Medium lalu dipanaskan hingga jernih lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^\circ \text{C}$ , selanjutnya medium ini disebut medium PDY (*Potato Dextrose Yeast*).

##### **2. Pembuatan Medium Peremajaan Isolat Kapang Endofit**

PDA (*Potato Dextrose Agar*) ditimbang sebanyak 39 g/l, dimasukkan dalam labu bulat, dilarutkan dalam aquadest, dan

dicek pH 6, kemudian dipanaskan hingga jernih lalu disterilisasi dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C.

### 3. Peremajaan Isolat Kapang Endofit

Kapang endofit yang tumbuh pada medium CMM selanjutnya dimurnikan dalam medium PDA dengan cara, hifa diambil menggunakan stik steril dan dipindahkan ke cawan petri yang berisi PDA, kemudian diinkubasi selama 5 - 7 hari pada suhu kamar. Tiap koloni kapang endofit yang berbeda ditransfer ke dalam masing-masing satu cawan petri yang berisi PDA hingga didapat isolat murni. Isolat murni yang didapat dikultur dalam agar miring dan pengerjaan dilakukan duplo untuk dijadikan *working culture* dan *stock culture*.

### 4. Fermentasi dan Ekstraksi Kapang Endofit

Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit dapat diperoleh melalui sistem fermentasi. Fermentasi kapang endofit dilakukan pada saat isolat berumur 2 - 3 minggu (23). Koloni kapang endofit yang telah murni diambil kira-kira 2 x 2 cm (hifa dan agar) lalu diinokulasikan masing-masing ke dalam labu Erlenmeyer yang berisi 50 mL medium PDY. Kultur tersebut selanjutnya di*shaker* pada kecepatan 150 rpm selama 14 hari pada suhu kamar (23).

Kultur hasil fermentasi diekstraksi menggunakan etil asetat dan *n*-butanol. Biomassa dan supernatan dimasukkan dalam tabung sentrifugasi ± 15 mL lalu ditambahkan pelarut etil asetat atau *n*-butanol ± 15 mL lalu divortex selama 10 menit lalu disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Ekstrak etil asetat dan *n*-butanol diambil menggunakan *syringe* 5 cc, selanjutnya dimasukkan dalam vial kering yang telah ditimbang sebelumnya lalu dikeringkan pada suhu kamar selama 1 minggu hingga didapat ekstrak kering. Berat ekstrak kering dihitung berdasarkan berat vial yang berisi ekstrak kering dikurangi dengan berat vial yang kosong. Berat ekstrak yang didapat 20 mg untuk mendapatkan konsentrasi 5mg/mL tambahkan terlebih dahulu dua sampai lima tetes DMSO, kemudian dilarutkan dengan metanol 4 mL. Masing-masing ekstrak kering dilarutkan dalam metanol *p.a* dengan bantuan DMSO hingga diperoleh larutan dengan konsentrasi 5 mg/mL untuk dijadikan sebagai larutan induk.

## 5. Uji Toksisitas dengan BSLT

### a. Penetasan *Artemia salina* Leach

Penetasan telur *Artemia salina* dilakukan pada wadah bening seperti gelas kimia yang diberi sekat dari bahan plastik, negatif film atau kaca dengan menggunakan media air lau buatan yang berisi

larutan NaCl 15 g/l dan NaHCO<sub>3</sub> 0,15 g/l. Wadah penetasan dibagi menjadi dua bagian (terang dan gelap) oleh suatu sekat berlubang. Bagian gelap digunakan untuk meletakkan telur yang akan ditetaskan. Sekat berlubang menjadi jalan bagi larva yang telah lahir untuk bergerak secara alamiah ke arah terang. Selama penetasan perlu diberi penerangan dengan cahaya lampu pijar/neon 40 - 60 watt agar suhu penetasan 26° - 28° C tetap terjaga (24). Digunakan juga aerator yang berfungsi untuk mensuplai oksigen yang dibutuhkan untuk penetasan, setelah 24 jam larva menetes dan selanjutnya dipindahkan ke wadah lain. Larva berumur 48 jam siap digunakan untuk uji toksisitas (20).

#### b. Uji Toksisitas

Ekstrak kering dibuat larutan induk 5000 ppm. Dibuat serangkaian konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dengan mengambil larutan masing-masing 4 $\mu$ L, 40 $\mu$ L dan 400 $\mu$ L dengan menggunakan mikropipet. Larutan dimasukkan dalam *multiwell* dan dibiarkan hingga kering dan tidak berbau pelarut. Sepuluh larva udang kemudian dimasukkan kedalam masing-masing lubang *multiwell*. Kemudian ditambahkan air laut buatan hingga 2 mL. Sebagai kontrol digunakan satu lubang *multiwell* yang mengandung pelarut metanol. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dan tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah



larva yang mati. Nilai LC<sub>50</sub> ditentukan dengan program komputer probit pada taraf kepercayaan 95%.

## 6. Pengamatan Kapang Endofit

Identifikasi makroskopik dilakukan dengan mengamati morfologi dan pertumbuhan koloni, sedangkan pengamatan mikroskopik dilakukan dengan cara bagian hifa kapang endofit dipindahkan pada kaca objek lalu ditetaskan 1-2 tetes *Lactofenol cotton blue* (LFCB) dan ditutup dengan gelas penutup. Preparat tersebut diamati secara mikroskopik menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400 x lalu difoto menggunakan kamera digital (24).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL

##### 1. Isolat Kapang Endofit

Isolat kapang endofit yang diteliti dari tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre yaitu 8 isolat sedangkan isolat kapang endofit dari tanaman *Garcinia mangostana* Linn yaitu 12 isolat.

##### 2. Identifikasi Kapang Endofit

Hasil identifikasi kapang endofit melalui pengamatan makroskopik dan mikroskopik adalah sebagai berikut :

###### a. Isolat C41

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna kuning kehijauan. Pertumbuhan morfologi kapang endofit ini pada usia 7-9 hari mencapai diameter 5 cm, ketika sudah tua hifa akan berwarna hijau tua. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 4.

###### b. Isolat FI2

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki 3 warna yaitu lapisan luar berwarna coklat muda, lapisan kedua berwarna hitam dan lapisan dalam berwarna putih.

Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 10 hari mencapai diameter 4 - 5 cm, ketika sudah tua hifa secara keseluruhan berwarna hitam. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 6.

c. Isolat E12

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna putih kecoklatan dan hijau. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 14 hari mencapai diameter 3 cm, ketika sudah tua hifa akan berwarna kecoklatan. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 8.

d. Isolat A32

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna kuning kecoklatan dan hitam pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 14 hari mencapai diameter 5 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 10.

e. Isolat D12

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna kuning kecoklatan dan hijau pada bagian dalam, bentuk morfologi seperti bunga. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 10 hari mencapai diameter 4 cm. Pengamatan

mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 12.

f. Isolat A31

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna putih seperti salju. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 14 hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 14.

g. Isolat D21

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna putih kekuningan. Pertumbuhan morfologi pada usia 14 hari mencapai diameter 5 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 16.

h. Isolat E22

Kapang endofit dari batang tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre ini memiliki warna kuning kecoklatan. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 12 hari mencapai diameter 5 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 18.

i. Isolat D4M

Kapang endofit dari daun tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna hitam dan coklat pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 4 cm.

Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 20.

j. Isolat D5A

Kapang endofit dari daun tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna hitam pada bagian luar dan keabuan pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 18 hari mencapai diameter 2 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 22.

k. Isolat D5C

Kapang endofit dari daun tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna hitam keabuan dan berbulu. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari hanya mencapai 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 24.

l. Isolat R2B

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna coklat kehitaman dan berbulu. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 - 25 hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 26.

m. Isolat D10

Kapang endofit dari daun tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna hitam pada bagian luar dan coklat keabuan dalam.

Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 28.

n. Isolat R7

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna coklat pada bagian luar dan keabuan pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 4 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 30.

o. Isolat R13A

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna putih keabuan dan berbulu. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 32.

p. Isolat R6

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna coklat dan keabuan pada permukaan kapang. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopik pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 34.

## q. Isolat R9M

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna kuning keemasan dengan warna coklat muda pada bagian permukaan. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai diameter 5 cm. Pengamatan mikroskopis pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 36.

## r. Isolat R15B

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna putih keabuan pada bagian dalam dan coklat pada permukaan. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21 hari mencapai 4 cm. Pengamatan mikroskopis pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 38.

## s. Isolat R13B

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki 3 lapisan, warna kuning kecoklatan pada bagian luar, putih dan keabuan pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 25 hari mencapai 5 cm. Pengamatan mikroskopis pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 40.

## t. Isolat R20

Kapang endofit dari ranting tanaman *Garcinia mangostana* Linn ini memiliki warna kuning pada bagian luar dan coklat keabuan pada bagian dalam. Pertumbuhan morfologi kapang endofit pada usia 21

hari mencapai diameter 3 cm. Pengamatan mikroskopis pada perbesaran 400 x memiliki hifa dan konidia seperti pada Gambar 42.

### 3. Uji Toksisitas Menggunakan Metode BSLT

Uji dilakukan dengan menghitung larva udang yang telah mati setelah 24 jam. Data ini kemudian diolah menggunakan program probit analysis untuk memperoleh nilai  $LC_{50}$ . Hasil yang memenuhi syarat toksik dengan nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  adalah sebagai berikut :

#### 1. Isolat kapang endofit *Garcinia tetrandra* Pierre :

- a. Isolat D21 untuk ekstrak etil asetat 67,590  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 16,232  $\mu\text{g/mL}$ .
- b. Isolat E22 untuk ekstrak etil asetat 2,833  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 0,274  $\mu\text{g/mL}$ .
- c. Isolat F12 untuk ekstrak etil asetat 72,561  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 37,443  $\mu\text{g/mL}$ .
- d. Isolat E12 untuk ekstrak etil asetat 90,270  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 15,402  $\mu\text{g/mL}$ .
- e. Isolat D12 untuk ekstrak etil asetat 32,511  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 14,887  $\mu\text{g/mL}$ .
- f. Isolat C41 untuk ekstrak etil asetat 13,382  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 16,934  $\mu\text{g/mL}$ .
- g. Isolat A32 untuk ekstrak etil asetat 97,098  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 30,765  $\mu\text{g/mL}$ .



- h. Isolat A31 untuk ekstrak etil asetat 30,958  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 45,726  $\mu\text{g/mL}$ .

2. Isolat kapang endofit *Garcinia mangostana* Linn

- a. Isolat D4M untuk ekstrak etil asetat 9,382  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 16,934  $\mu\text{g/mL}$ .
- b. Isolat D5A untuk ekstrak etil asetat 6,615  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 10,280  $\mu\text{g/mL}$ .
- c. Isolat D5C untuk ekstrak etil asetat 21,176  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 10,280  $\mu\text{g/mL}$ .
- d. Isolat R7 untuk ekstrak etil asetat 11,244  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 8,459  $\mu\text{g/mL}$ .
- e. Isolat R13B untuk ekstrak etil asetat 10,280  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 13,719  $\mu\text{g/mL}$ .
- f. Isolat D10 untuk ekstrak etil asetat 3,087  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 0,637  $\mu\text{g/mL}$ .
- g. Isolat R13A untuk ekstrak etil asetat 14,671  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 13,719  $\mu\text{g/mL}$ .
- h. Isolat R6 untuk ekstrak etil asetat 2,833  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 11,244  $\mu\text{g/mL}$ .
- i. Isolat R15B untuk ekstrak etil asetat 2,833  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 13,719  $\mu\text{g/mL}$ .
- j. Isolat R9M untuk ekstrak etil asetat 325,045  $\mu\text{g/mL}$  dan ekstrak *n* - butanol 747,187  $\mu\text{g/mL}$ .

- k. Isolat R20M untuk ekstrak etil asetat 4,172 µg/mL dan ekstrak *n* - butanol 11,244 µg/mL.
- l. Isolat R2B untuk ekstrak etil asetat 15,402 µg/mL dan ekstrak *n* - butanol 13,382 µg/mL.

Nilai LC<sub>50</sub> secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 4.

## B. PEMBAHASAN

*Garcinia* merupakan salah satu genus tanaman yang tumbuh di Indonesia, senyawa xanton yang terdapat pada genus *Garcinia* diketahui memiliki beberapa aktivitas biologi. Tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah *Garcinia tetrandra* P dan *Garcinia mangostana* L (9,10). Pada penelitian kali ini dilakukan pemurnian isolat kapang endofit yang tumbuh pada media CMM. Purifikasi ini bertujuan untuk mendapatkan kultur endofit yang benar-benar murni. Proses purifikasi membutuhkan media yang baik untuk pertumbuhan sebagian besar jamur, media PDA (*Potato Dextrose Agar*) umumnya mengandung karbohidrat yang lebih mudah dicerna oleh kapang endofit dibandingkan media CMM, sehingga pertumbuhan endofit pada media ini umumnya lebih cepat. Jika kemurnian dari kapang endofit diragukan ulangi pemurnian hingga kapang diyakini telah benar-benar murni. Isolat kapang yang murni diseleksi berdasarkan pengamatan secara makroskopis. Selanjutnya koloni kapang endofit dimurnikan pada media PDA

miring (*slant*) untuk mempersempit luas daerah pertumbuhan kapang, dikerjakan secara duplo untuk dijadikan *stock culture* dan *working culture*.

Fermentasi dilakukan terhadap kapang endofit yang benar-benar murni. Fermentasi dilakukan dalam 50 mL sampai 100 mL media PDY yang mengandung karbon yang bersumber PDB (*Potato Dextrose Broth*) dan yeast ekstrak dalam labu erlenmeyer. Tujuan dari fermentasi ini adalah untuk mendapatkan suspensi koloni kapang endofit dan menghasilkan metabolit sekunder. Optimasi media fermentasi perlu dilakukan untuk mendapatkan metabolit sekunder yang maksimal. Kultur fermentasi diinkubasi pada suhu kamar selama 14 hari, dimana kapang endofit sudah mencapai fase stasioner, yaitu fase jumlah sel yang bertambah dan jumlah sel yang mati relatif seimbang. Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang horizontal, banyak senyawa metabolit sekunder dapat dipanen pada fase ini (25). Keadaan aerasi aktif dapat dilakukan dengan cara mengocok substrat pada suatu *rotary shaker* atau *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm. kalsium karbonat ( $\text{CaCO}_3$ ) ditambahkan kedalam kultur fermentasi untuk menjaga stabilitas pH.

Ekstraksi hasil fermentasi dilakukan dengan menggunakan dua pelarut organik yaitu etil asetat dan *n* – butanol. Digunakan dua jenis pelarut yang berbeda polaritasnya karena belum diketahui sifat dari metabolit sekunder yang dihasilkan oleh kapang endofit. Pelarut polar yang digunakan adalah *n* – butanol dan semipolar adalah etil asetat. Kemudian campuran hasil fermentasi dan pelarut dihomogenkan dengan *vortex mixer* dimana bagian

kapang, supernatan dan pelarut dapat bercampur lalu disentrifugasi pada suhu rendah untuk mencegah kerusakan dari bahan aktif (23). Ekstrak diambil dengan menggunakan *syringe* lalu dimasukkan kedalam vial kering yang telah ditimbang sebelumnya kemudian dikeringanginkan pada suhu kamar. Setelah pelarutnya menguap ekstrak kering ditimbang kemudian dilarutkan dengan metanol dan bantuan DMSO untuk meningkatkan kelarutan, dibuat larutan induk dengan konsentrasi 5 mg/mL.

Sebelum dilakukan uji toksisitas, telur-telur *Artemia* ditetaskan menggunakan media penetasan yaitu air laut buatan yang mengandung 15 g natrium klorida dan 0,15 g natrium bikarbonat. Pada saat penetasan digunakan aerator dengan kekuatan aerasi yang rendah sehingga gelembung udara yang dihasilkan tidak terlalu besar. Gelembung udara yang dihasilkan dapat membantu mengaduk telur-telur *Artemia* agar tidak mengendap, karena bila mengendap telur sulit untuk menetas menjadi larva (26). Penggunaan aerator pada penetasan larva *Artemia salina* berfungsi sebagai sumber oksigen (19). Setelah menetas dalam waktu 24 jam lalu dipindahkan dalam wadah baru yang mengandung air laut buatan. Hal ini dilakukan agar tidak bercampur dengan telur yang belum menetas. Larva yang telah berumur 48 jam siap dilakukan uji toksisitas karena larva yang telah berumur 48 jam ini dinding selnya masih lunak sehingga mudah ditembus oleh larutan yang memiliki konsentrasi yang lebih tinggi (13).

Wadah yang digunakan untuk uji BSLT yaitu *multiwell* dikarenakan massa ekstrak yang tidak banyak dan jumlah ekstrak yang akan diuji banyak

sehingga lebih praktis menggunakan *multiwell* dibandingkan vial. Dibuat larutan induk dengan konsentrasi 5 mg/mL dan dibuat serangkaian konsentrasi sebesar 10, 100, 1000 ppm dengan mengambil dari larutan induk sebesar 4  $\mu$ L, 40  $\mu$ L, 400  $\mu$ L dengan menggunakan mikropipet, lalu dimasukkan kedalam tiap - tiap sumur pada *multiwell*. Larutan uji dalam tiap sumur diuapkan sampai kering dan tidak berbau pelarut. Untuk kontrol negatif (blanko) diberi perlakuan yang sama seperti larutan uji tetapi tanpa ekstrak lalu masukkan sepuluh ekor larva *Artemia* kedalam masing – masing sumur dan volume air laut buatan yang ditambahkan 2 mL. Pengamatan dilakukan dalam 24 jam dan tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati dan diolah menggunakan probit Analisis.

Pada percobaan ini didapatkan hasil dari 40 jumlah ekstrak yang diuji, hasil paling baik ditunjukkan oleh isolat E22 dari fraksi *n* - butanol dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 0,274  $\mu$ g/mL pada tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre, sedangkan pada tanaman *Garcinia mangostana* Linn ditunjukkan oleh isolat D10 dari fraksi butanol dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 0,637  $\mu$ g/mL. Pada umumnya semua isolat kapang endofit baik dari ekstrak etil asetat maupun *n* - butanol memenuhi syarat toksik dengan nilai  $LC_{50} < 1000$   $\mu$ g/mL. Ekstrak yang memberikan efek adalah ekstrak dari fraksi *n*- butanol. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak dari fraksi *n* - butanol pada isolat kapang endofit bersifat polar (Tabel 2 dan Tabel 3).

Isolat – isolat yang berpotensi memiliki aktivitas biologis yaitu isolat E22 dan D10, kemudian dilakukan pengamatan secara makroskopis dan

mikroskopis. Isolat E22 dan isolat D10 diduga termasuk genus *Microspora sp*, tapi diperlukan identifikasi secara molekuler agar dapat diketahui dengan tepat taksonomi kapang endofit isolat tersebut (Tabel 4).



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

- Metabolit sekunder dari 20 isolat kapang endofit pada tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre dan *Garcinia mangostana* Linn memenuhi syarat toksik yang memiliki nilai  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ .

#### B. SARAN

1. Optimasi media fermentasi serta optimasi waktu fermentasi terhadap isolat kapang endofit yang mempunyai aktivitas agar didapat senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas yang maksimal.
2. Perlu dilakukan identifikasi lanjutan terhadap kapang endofit yang belum teridentifikasi. Identifikasi dapat dilakukan secara molekuler untuk memastikan identitas kapang endofit.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Radji, M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
2. Bacon, C. W. & Hinton, D. M. 2002. Endophytic and biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. *Biological Control*, **23** :272-284.
3. Indrayanto, G. Sugijanto, E. N. Zaini, C. N. 2004. Isolasi dan Determinasi Berbagai Jamur Endofit Dari Tanaman *Aglaia elliptica*, *Aglaia eusideroxylon*, *Aglaia odorata* dan *Aglaia odoratissima*. *Jurnal Penelitian Medika Eksakta* vol. 5 No. 2 : 131-141.
4. Strobel, G. & D. Bryn. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Product. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **67** : 491-502.
5. Wahyudi, P. 1997. Mikroba Endofitik Sebagai Penghasil Materi yang Bermanfaat. Sub Direktorat Bioteknologi, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu Dasar dan Terapan. Badan Pengkajian dan Pengembangan Teknologi: 1 - 9.
6. Wahyudi, P. 1997. Tehnik Skrining Mikroba Endofit Penghasil Antibiotik. Sub Direktorat Bioteknologi, Deputi Bidang Pengkajian Ilmu Dasar dan Terapan. Badan Pengkajian dan Pengembangan Teknologi : 1 - 9.



7. Strobel, GA. 2002. Microbial Gift From Rain Forest. *Journal Plant Pathologi*. 24 : 14 – 20.
8. Milasari, Dewi. 2007. Isolasi, Identifikasi dan Profil KLT Metabolit Jamur Endofit dari *Agaves amaniensis*. Airlangga University.
9. Nugroho, N.B. & Sukmadi. 1999. Isolasi dan Seleksi Mikroba Endofit Tanaman Hutan Sumatera Barat Sebagai Mikroorganisme Penghasil Senyawa antijamur. Pertemuan Ilmiah Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia, Padang, 2-3 Agustus :1-6.
10. Saxena, S. Paint, N. Jain, D. Bakhuri, R. Antimalarial Agents from Plant Sources. *Current Science*. 2003. 1314-1329.
11. Hay, A. Helexbeux, J. Duval, O. Labared, M. Grellier, P. Richommo, P. Antimalarial Xanthones from *Callophilium caledonium* and *Garcinia viellardii*. *Life Science*. 2003. 75: 3077-3085.
12. Jamal, Y. Praptiwi. & Agusta, A. 2001. Penapisan Fitokimia, uji toksisitas dan antibakteri dari Ekstrak Kulit Batang *Garcinia celebica* dan *Garcinia tetandra*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 12 (4), 181-185.
13. Taqwim, F. S. 2007. Uji Toksisitas dan Uji Antibakteri Metabolit Sekunder Kapang Endofit *Garcinia forbesii* King dan *Garcinia porrecta* Wall terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella thyposa* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi Sarjana Farmasi, FMIPA UI, Depok.
14. Kogel, K. H. P. Franken & R. Huckelhoven. 2006. Endophyte or Parasite What Decides?. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 9 ; 358-363.

15. Anonim. Modul Tehnik Fermentasi Departemen Kimia ITB. 12 September 2005 : 24 hlm. [http:// www. Che.itb. ac.id/download/modul\\_7\\_mei\\_2007, pk 20.37.](http://www.Che.itb.ac.id/download/modul_7_mei_2007_pk_20.37)
16. Trenggono, S. Bambang. Pengaruh Penambahan Puder Dentin Sapi pada Media Kultur Sel Terhadap Pertumbuhan Osteoblas Kranium Kelinci. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Trisakti, Jakarta. Indonesia.
17. Meyer B N, N. R Ferrigni, J. E Putnam, L B Jacobsen, Nichols & J L Mclaughlin. 1982. Brine Shrimp : A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medika* 45, 31-32.
18. Lenny, Sofia. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kandungan Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Brine Shrimp. USU.
19. Harmita. Radji, M. 2005. Analisis Hayati. Departemen Farmasi, FMIPA. Universitas Indonesia, Hal : 22-23.
20. Purwakusuma, W. *Artemia salina (Brine Shrimp)*. 2002. [http : //o-fish.com / Pakan Ikan 1 / Artemia. htm](http://o-fish.com/Pakan_Ikan_1/Artemia.htm). 29 November 2007, pkl 20:30.
21. Lieberman, M. 1999. A Brine Shrimp Bioassay for Measuring Toxicity and Remediation of Chemicals. *Journal of Chemical Education* Vol.76 No. 12 : 1689-1691.
22. Sukadirman. Rahman, A. Pratiwi, F. N. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Ekstrak Eter dengan Ekstrak Metanol. *Majalah Farmasi Airlangga*, Vol 4, No. 3.

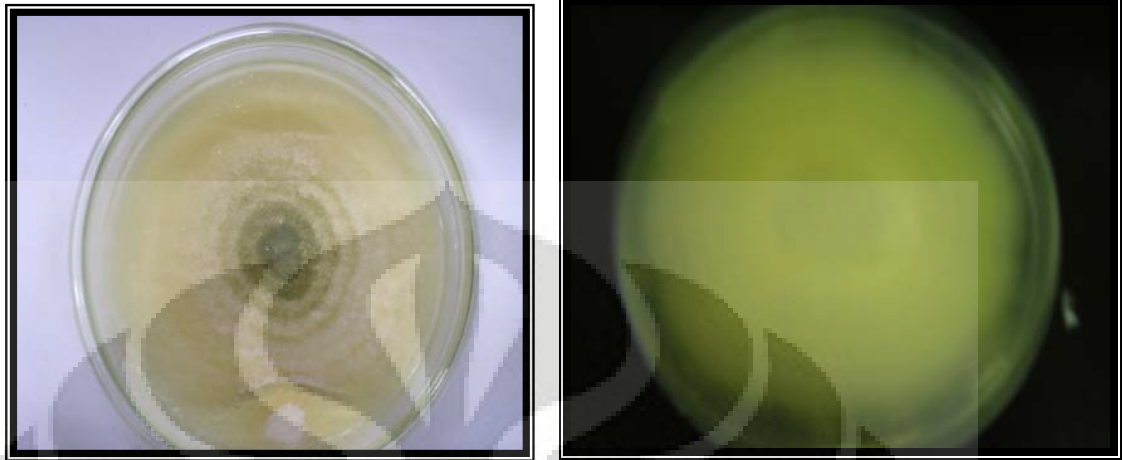
23. Inesia, I. 2007. Uji Aktivitas Antioksidan Metabolit Sekunder Kapang Endofit yang Diisolasi dari Akar, Daun *Garcinia nigrolineata* Planch. dan Batang *Garcinia celebica* L. Skripsi Sarjana Farmasi. FMIPA UI, Depok. 20-21.
24. Anonim. Lactofenol Cotton Blue Stain. [www. Hardydiagnostic.com/catalog/2/hugo/LactofenolCottonBLStn](http://www.Hardydiagnostic.com/catalog/2/hugo/LactofenolCottonBLStn). Htm. 30 November 2007, pkl 20.00.
25. Gandjar, I. Sjamsuridzal, W. Oetari, A. 2006. Mikologi. Yayasan Obor Indonesia, Jakarta. 39-41.
26. Purnamasari, I. 2007. Skrining Ketoksikan dan Penelitian Pola Kromatogram Ekstrak Metanol dan Fraksi Aktif Daun Jamblang (*Syzygium cumini* (L.)). Skripsi Sarjana Farmasi. FMIPA UI, Depok.
27. <http://www.doctorfungus.com/imageban/index.enlarge.pl> 14 Mei 2008, pukul 10.30 WIB



Gambar 1. Tanaman *Garcinia tetrandra* Pierre



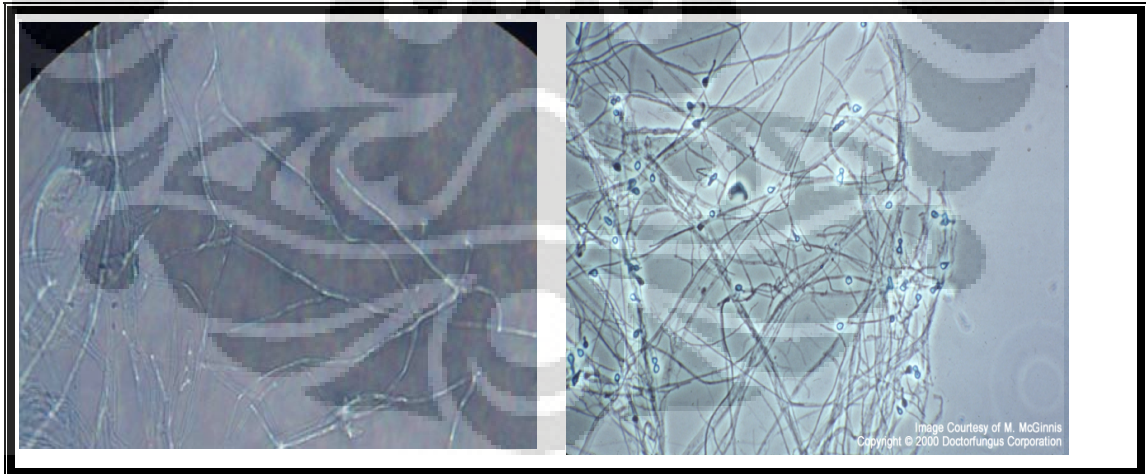
Gambar 2. Tanaman *Garcinia mangostana* Linn



a.

b.

Gambar 3. Isolat kapang endofit C41 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



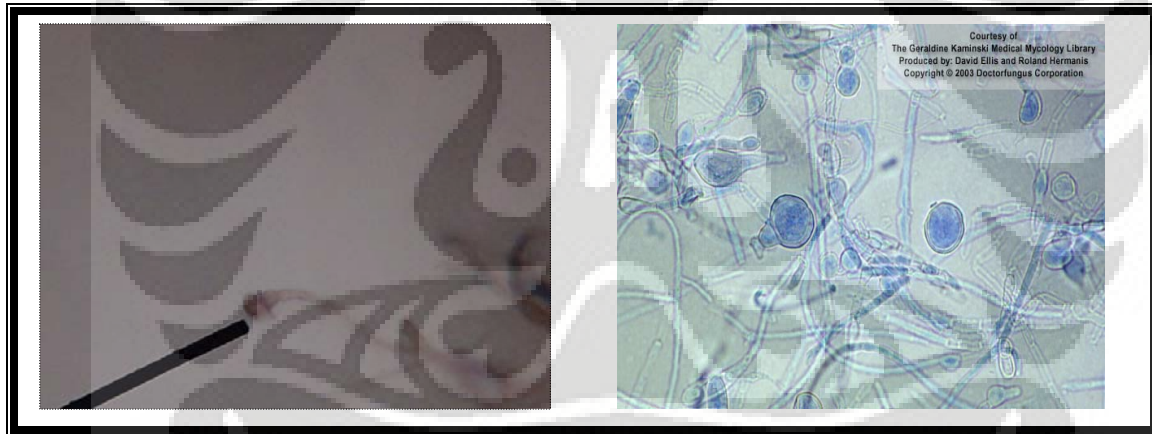
a.

b.

Gambar 4. Isolat kapang endofit C41 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Emonsia Parva) (27).



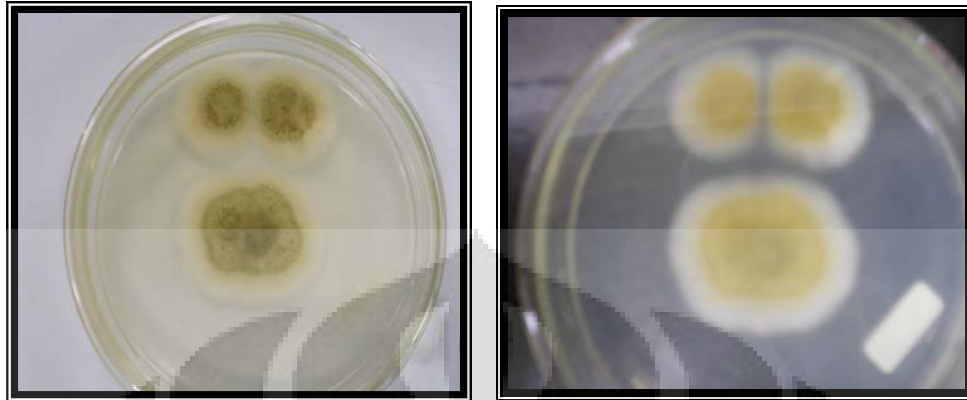
Gambar 5. Isolat kapang endofit F12 secara makroskopis tampak depan



a.

b.

Gambar 6. Isolat kapang endofit F12 secara makroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Epidermophyton*) (27).



a.

b.

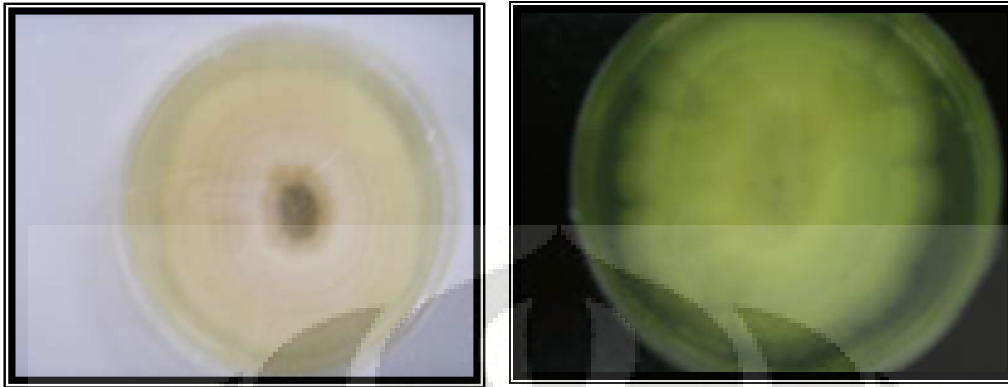
Gambar 7. Isolat kapang endofit E12 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



a.

b.

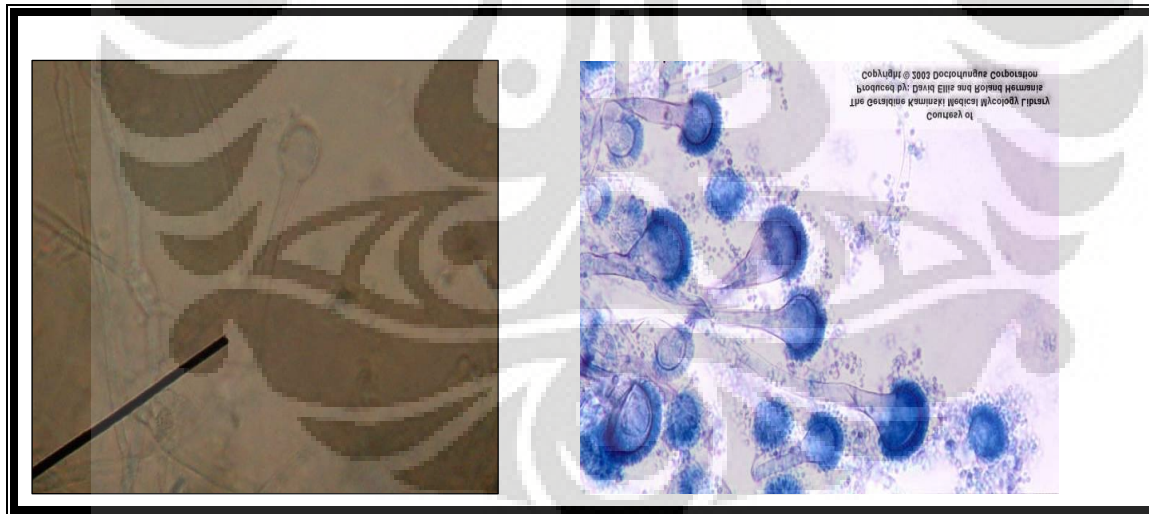
Gambar 8. Isolat kapang endofit E12 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *microspora*) (27).



a.

b.

Gambar 9. Isolat kapang endofit A32 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)

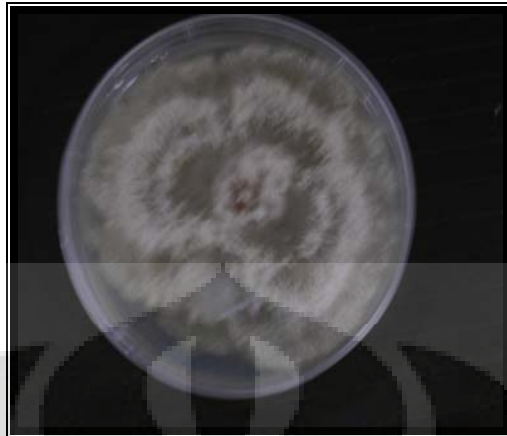


a.

b.

Gambar 10. Isolat kapang endofit A32 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Aspergillus*) (27).





Gambar 11. Isolat kapang endofit D12 secara makroskopis tampak depan.



a.



b.

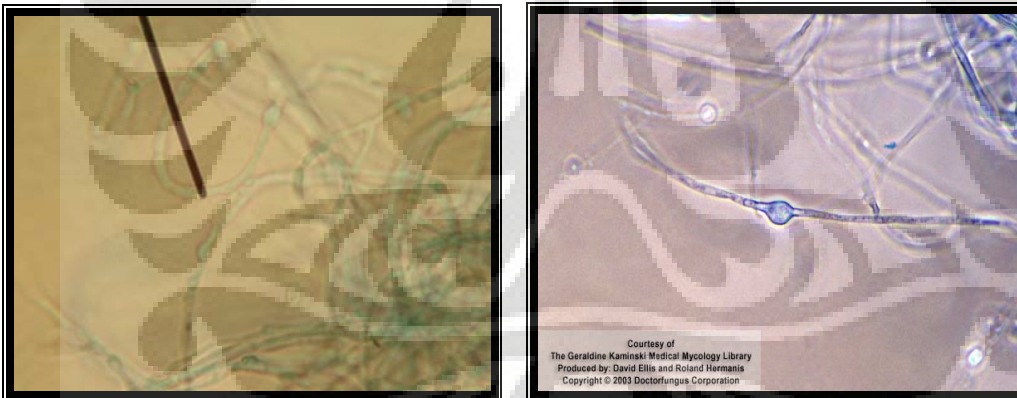
Gambar 12. Isolat kapang endofit D12 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Aspergillus*) (27).



a.

b.

Gambar 13. Isolat kapang endofit A31 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



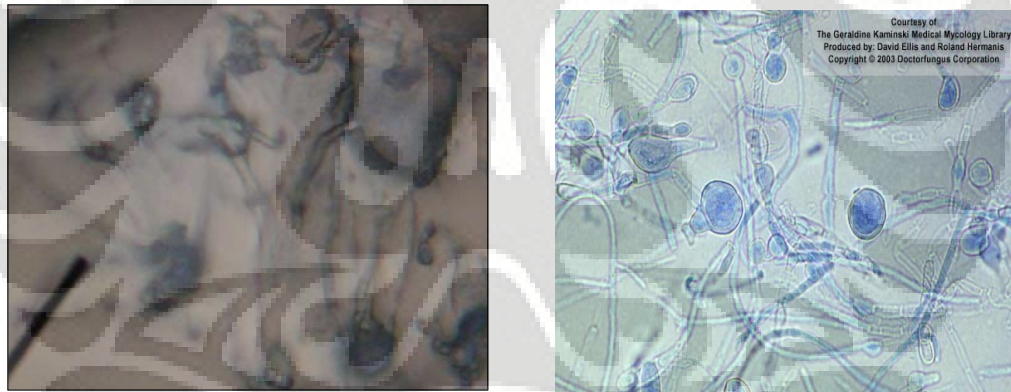
a.

b.

Gambar 14. Isolat kapang endofit A31 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Microspora*) (27).



Gambar 15. Isolat kapang endofit D21 secara makroskopis tampak depan



a.

b.

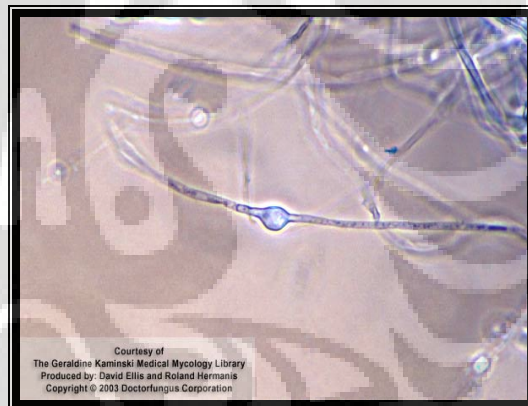
Gambar 16. Isolat kapang endofit D21 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Epidermophyton) (27).



Gambar 17. Isolat kapang endofit E22 secara makroskopis Tampak depan.

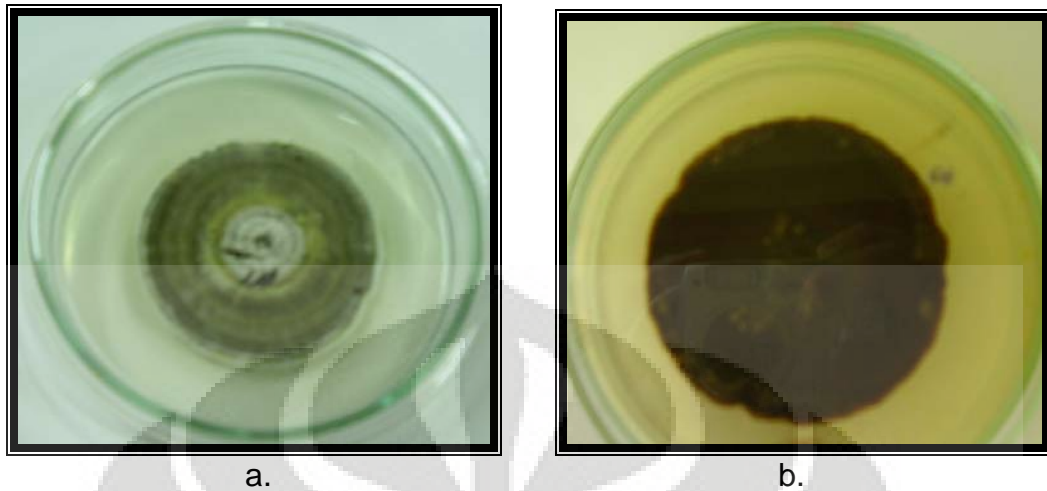


a.



b.

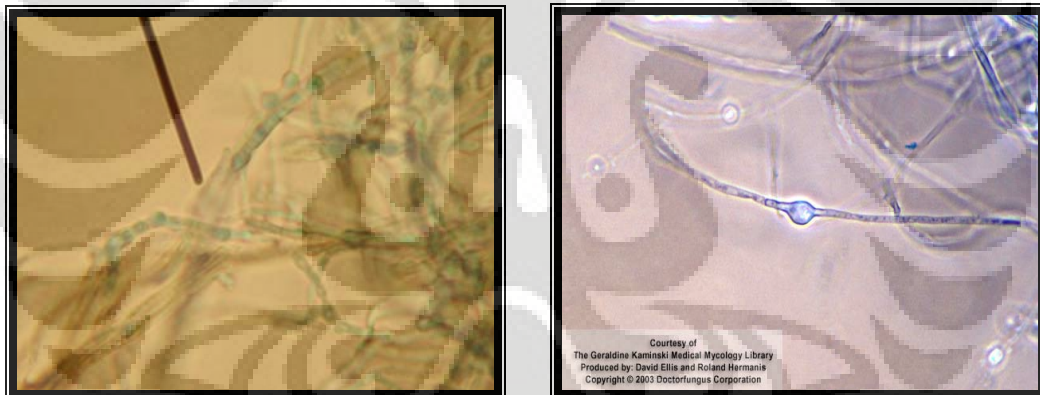
Gambar 18. Isolat kapang endofit E22 secara mikroskopis ( a. Perbesaran 400 x,b. Kapang referensi Genus *Microspora*) (27).



a.

b.

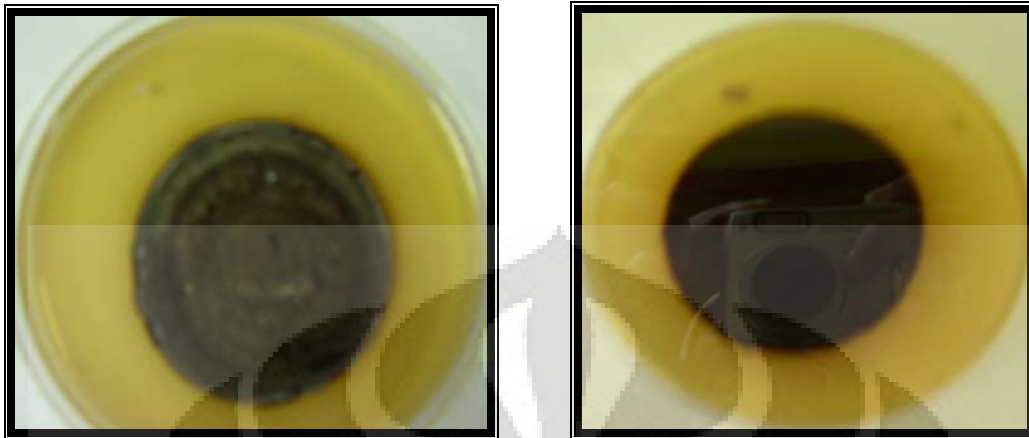
Gambar 19. Isolat kapang endofit D4M secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



a.

b.

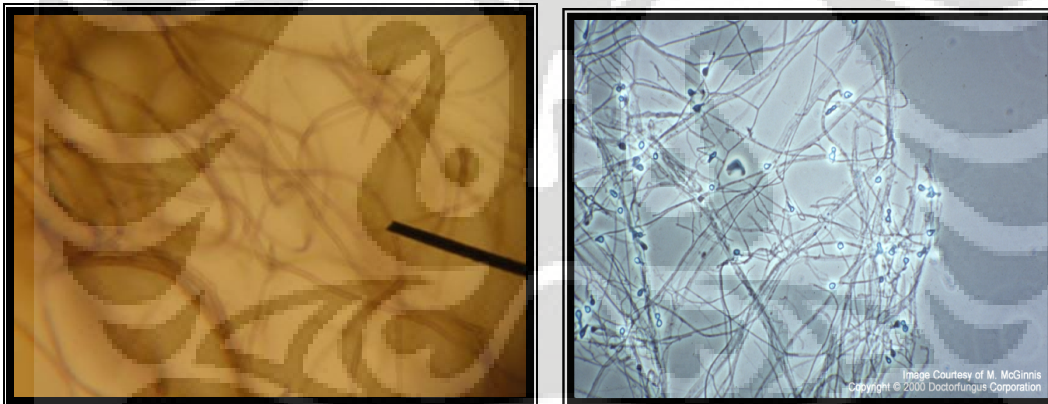
Gambar 20. Isolat kapang endofit D4M secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Microspora) (27).



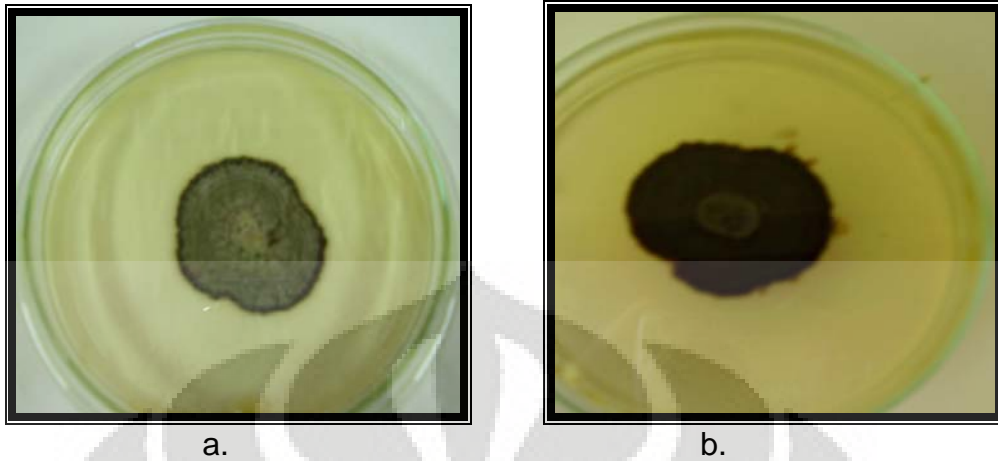
a.

b.

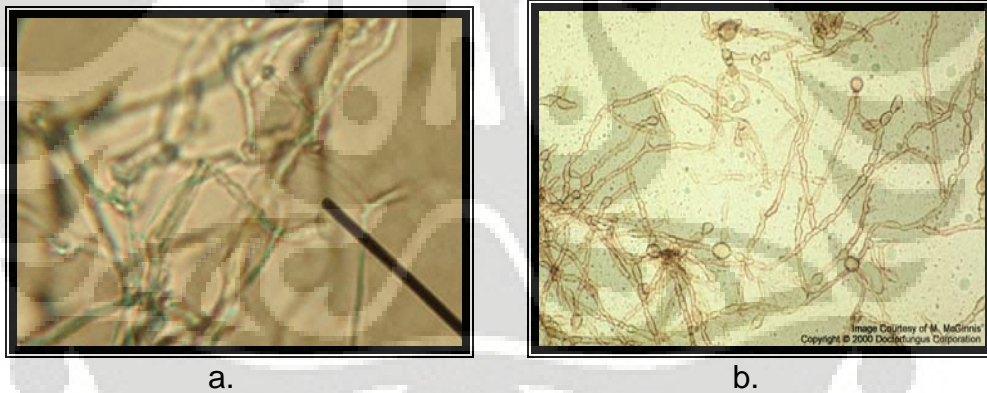
Gambar 21. Isolat kapang endofit D5A secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



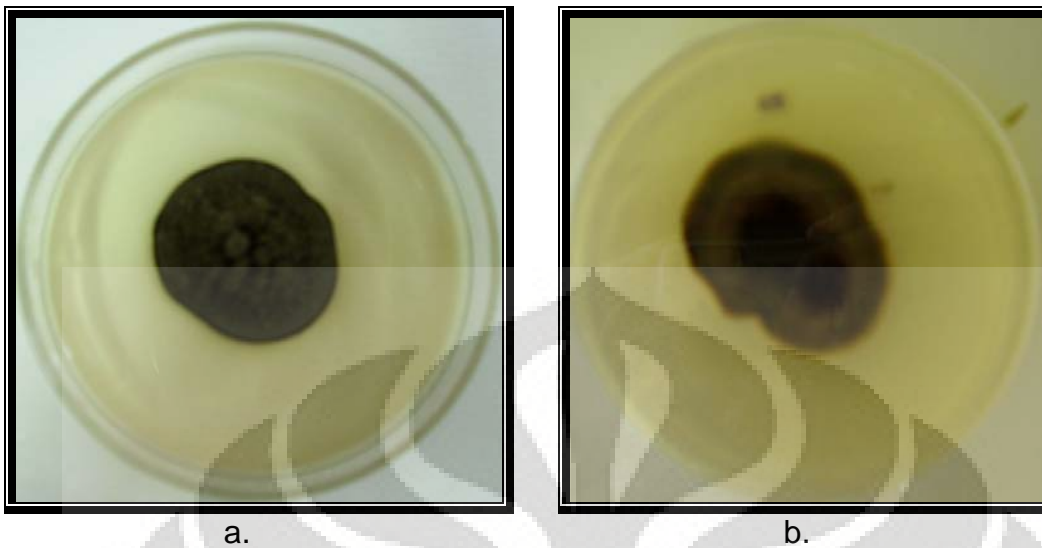
Gambar 22. Isolat kapang endofit D5A secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Emonsia Parva) (27).



Gambar 23. Isolat kapang endofit D5C secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



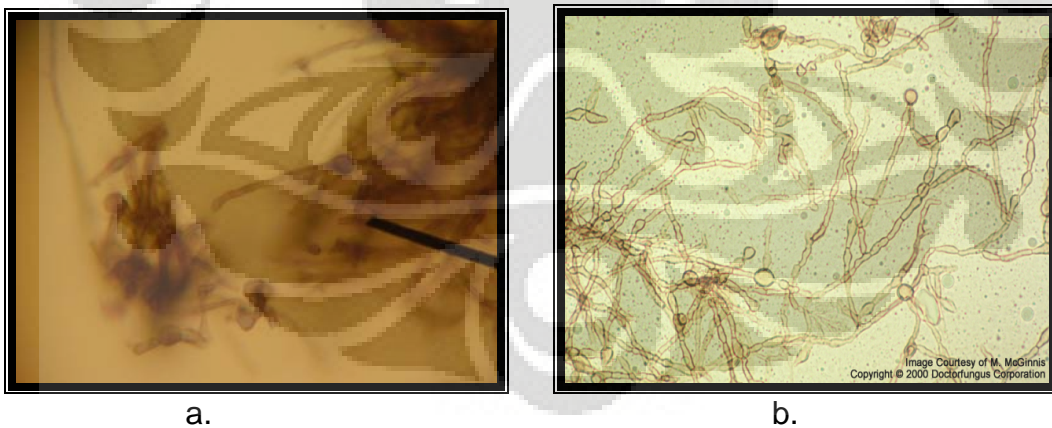
Gambar 24. Isolat kapang endofit D5C secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Cladophialophora*) (27).



a.

b.

Gambar 25. Isolat kapang endofit R2B secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang) (27).

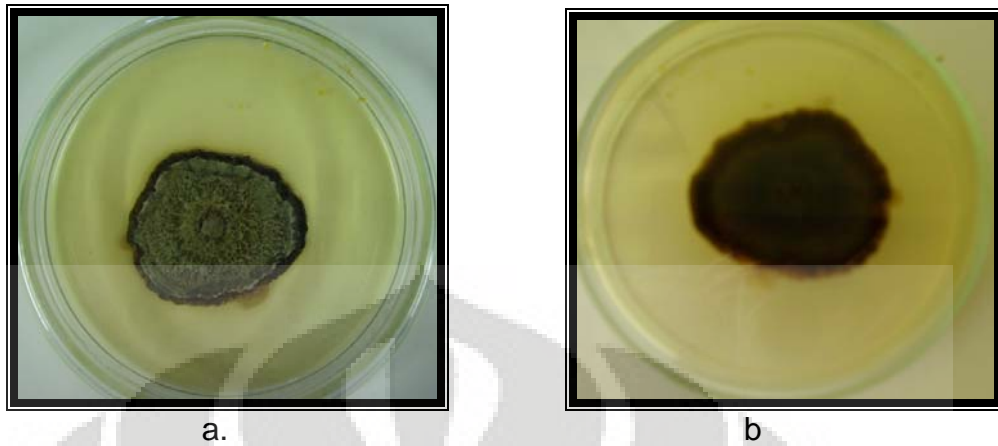


a.

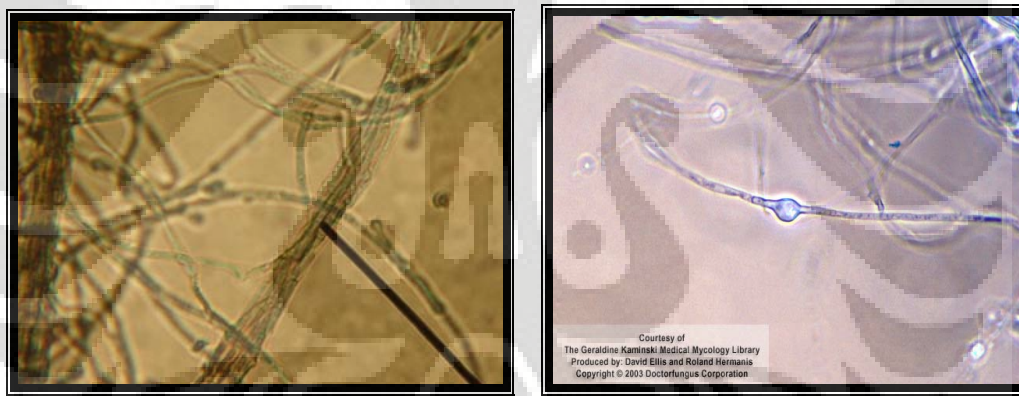
b.

Gambar 26. Isolat kapang endofit R2B secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Cladophialophora ) (27).

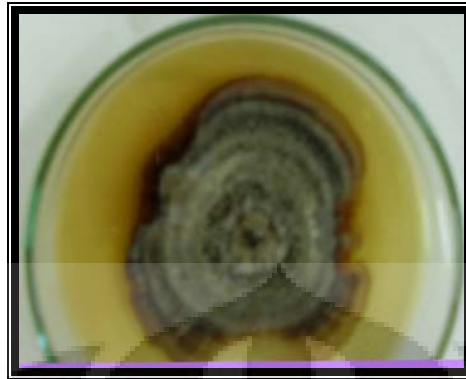




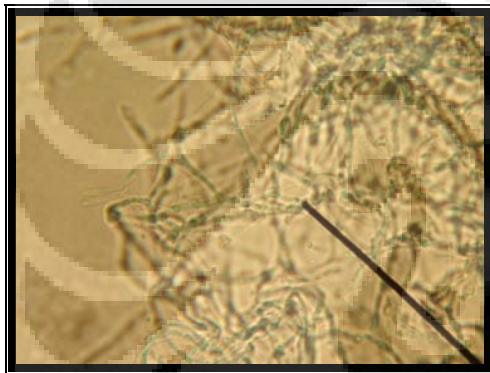
a. b.  
Gambar 27. Isolat kapang endofit D10 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



a. b.  
Gambar 28. Isolat kapang endofit D10 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Microspora*) (27).



Gambar 29. Isolat kapang endofit R7 secara makroskopis Tampak depan

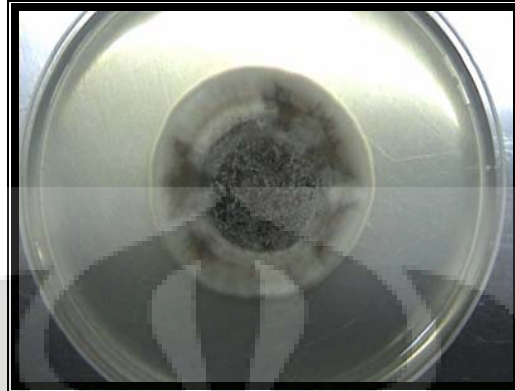


a.

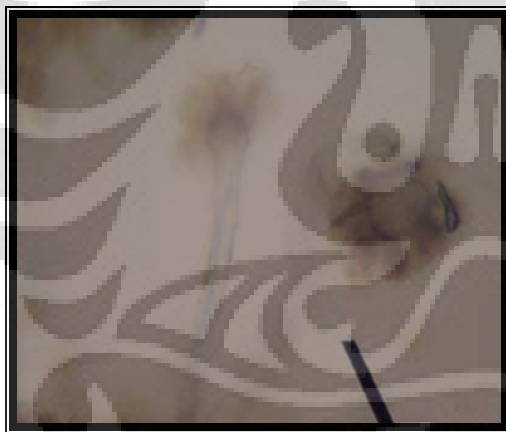


b.

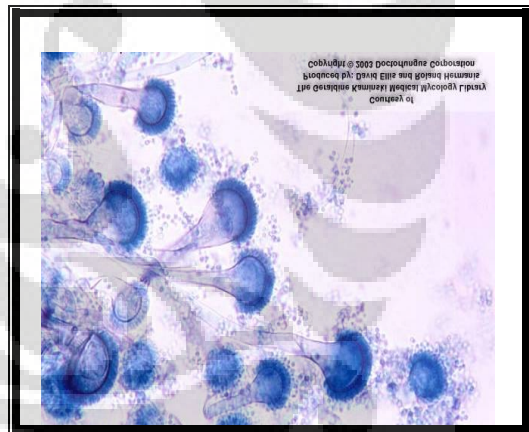
Gambar 30. Isolat kapang endofit R7 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Scopulariopsis) (27).



Gambar 31. Isolat kapang endofit R13A secara makroskopis tampak depan

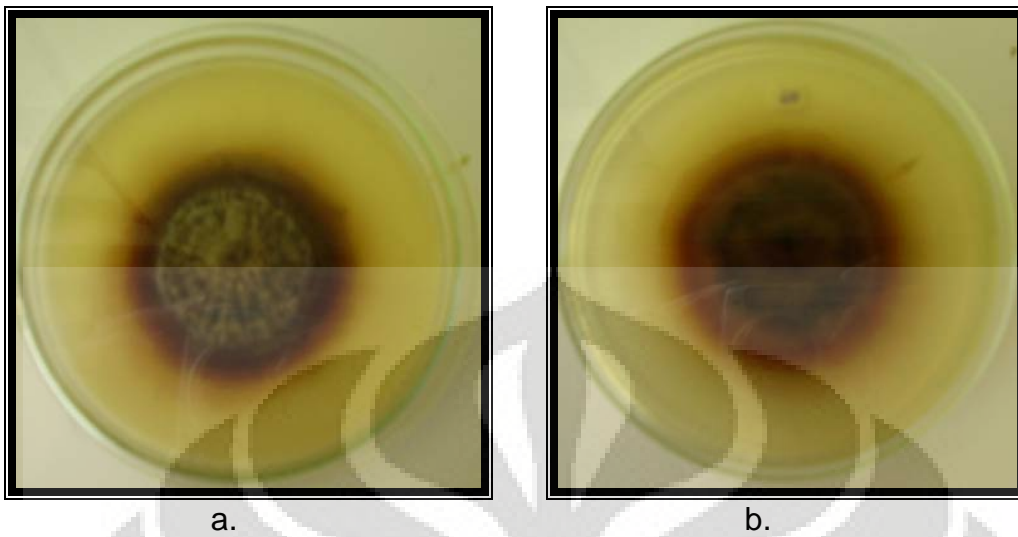


a.

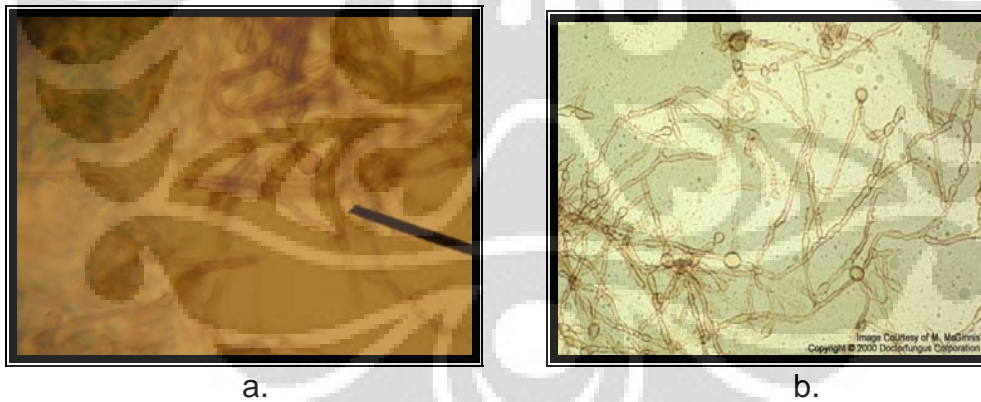


b.

Gambar 32. Isolat kapang endofit R13A secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Aspergillus*) (27).



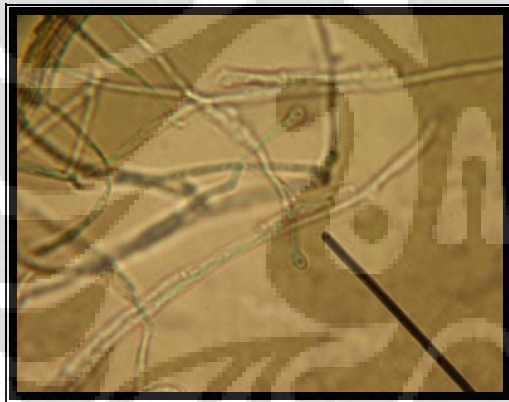
Gambar 33. Isolat kapang endofit R6 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



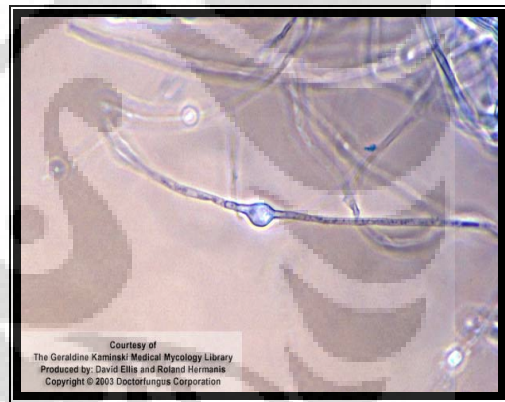
Gambar 34. Isolat kapang endofit R6 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Cladophialophora*) (27).



Gambar 35. Isolat kapang endofit R9M secara makroskopis Tampak  
depan



a.

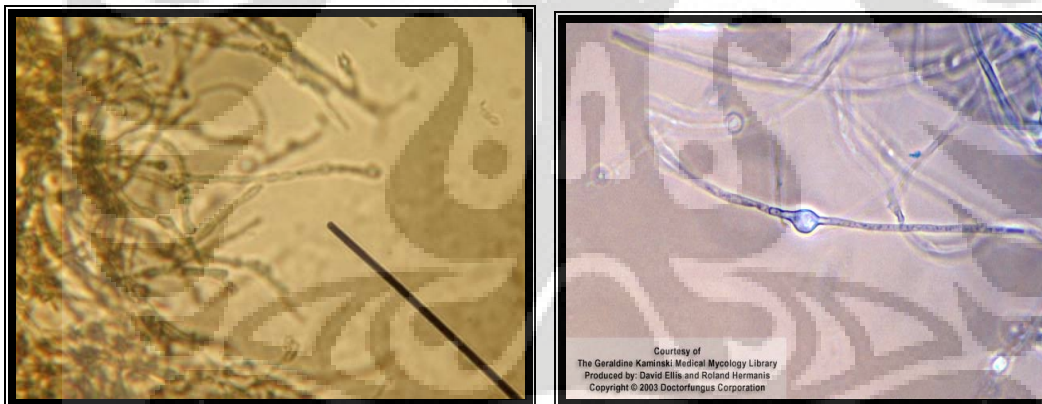


b.

Gambar 36. Isolat kapang endofit R9M secara mikroskopis (a. Perbesaran  
400 x, b. Kapang referensi Genus *Microspora*) (27).



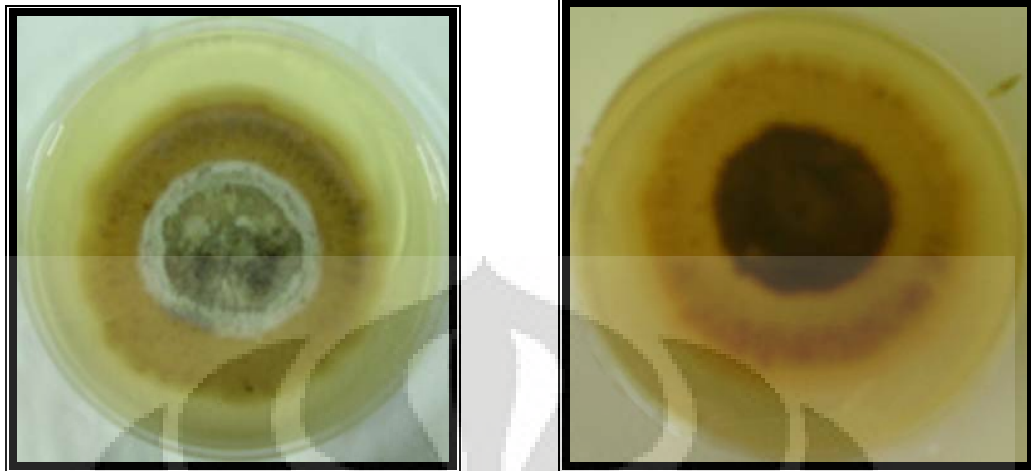
Gambar 37. Isolat kapang endofit R15B secara makroskopis Tampak depan.



a.

b.

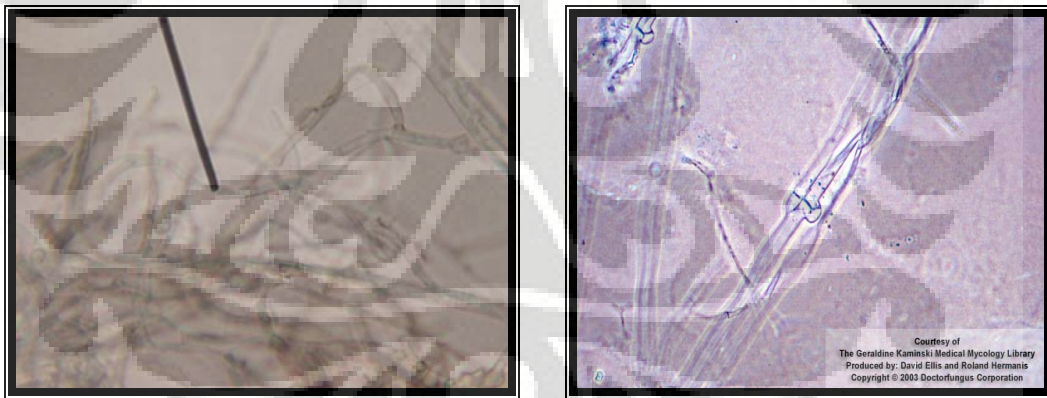
Gambar 38. Isolat kapang endofit R15B secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus *Microspora*) (27).



a.

b.

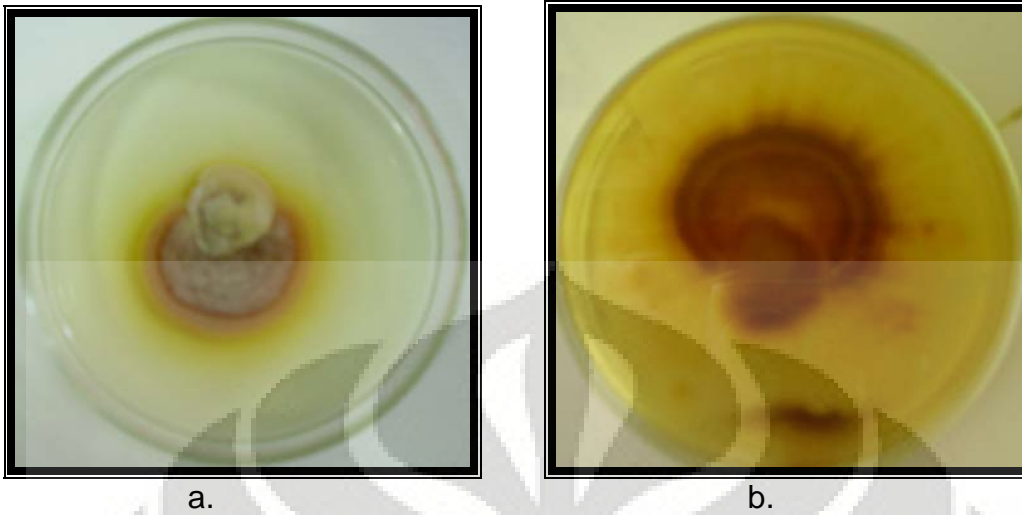
Gambar 39. Isolat kapang endofit R13B secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



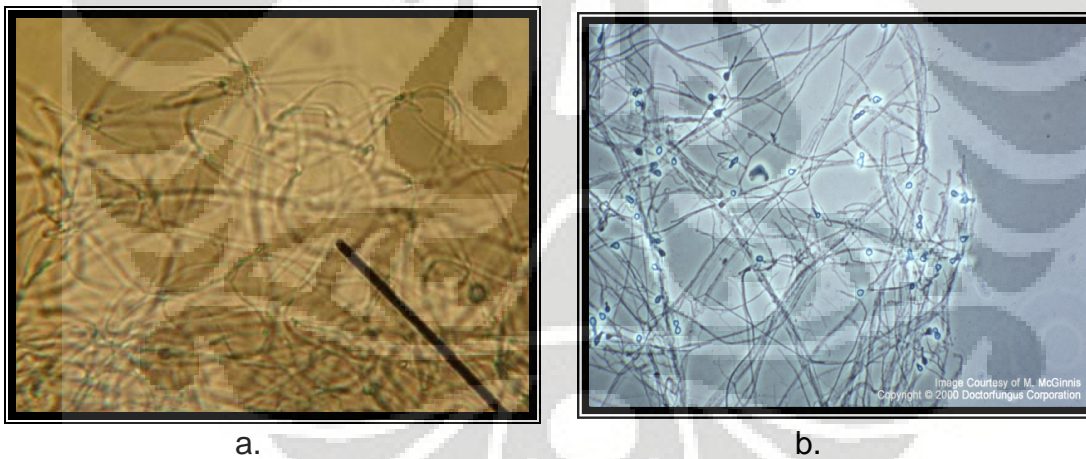
a.

b.

Gambar 40. Isolat kapang endofit R13B secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Basidiomycete) (27).



Gambar 41. Isolat kapang endofit R20 secara makroskopis (a. Tampak depan, b. Tampak belakang)



Gambar 42. Isolat kapang endofit R20 secara mikroskopis (a. Perbesaran 400 x, b. Kapang referensi Genus Emonsia Parva) (27).



**Tabel 1**

Isolat – isolat kapang endofit yang diuji Toksisitasnya dengan metode BSLT

Kode Isolat	Tanaman Asal	Bagian Tanaman
C41	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
D21	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
D12	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
A31	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
A32	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
F12	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
E12	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
E22	<i>Garcinia tetrandra</i> P	Batang
R2B	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
D4B	<i>Garcinia mangostana</i> L	Daun
D5A	<i>Garcinia mangostana</i> L	Daun
D5C	<i>Garcinia mangostana</i> L	Daun
R7	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R13A	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R9M	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R6	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R20	<i>Garcinia mangostana</i> L	Daun
D10	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R13B	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting
R15B	<i>Garcinia mangostana</i> L	Ranting

Keterangan :

Kode isolat pada tanaman *Garcinia tetrandra* P, yaitu :

Contoh : C41

C : Penanaman ketiga pada isolasi (A : Pertama, B : Kedua, dst)

4 : Pemurnian yang keempat kali

1: Terdapat 1 koloni dan morfologi

Kode isolat pada tanaman *Garcinia mangostana* L, yaitu :

Contoh : D5C

D : Daun

5 : Penanaman kelima pada isolasi

C : Terdapat 3 koloni dan morfologi (A : hanya 1, B ; dua, dst)

**Tabel 2**

Hasil Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap ekstrak etil asetat

Isolat Kapang Endofit

No.	Kode Isolat	Jumlah Larva yang Mati					
		10 ppm		100 ppm		100 ppm	
		I	II	I	II	I	II
1.	C41	5	5	6	5	8	10
2.	D21	7	6	2	3	2	2
3.	D12	6	5	2	3	2	2
4.	A31	7	7	2	3	3	3
5.	A32	4	5	3	2	8	8
6.	F12	3	4	4	5	9	10
7.	E12	2	3	3	4	10	19
8.	E22	7	8	8	8	9	10
9.	R2B	5	6	7	6	9	8
10.	D4M	5	7	5	7	9	10
11.	D5A	7	6	8	7	9	10
12.	D5C	4	5	7	7	9	9
13.	R7	6	5	8	7	8	10
14.	R13A	4	5	9	9	9	10
15.	R9M	9	8	6	5	4	5
16.	R6	7	8	8	9	10	10
17.	R20	6	5	7	8	9	8
18.	D10	8	6	8	9	10	10
19.	R13B	6	5	9	8	9	10
20.	R15B	8	7	8	8	10	10

**Tabel 3**

Hasil Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) terhadap ekstrak *n* – butanol

Isolat Kapang Endofit

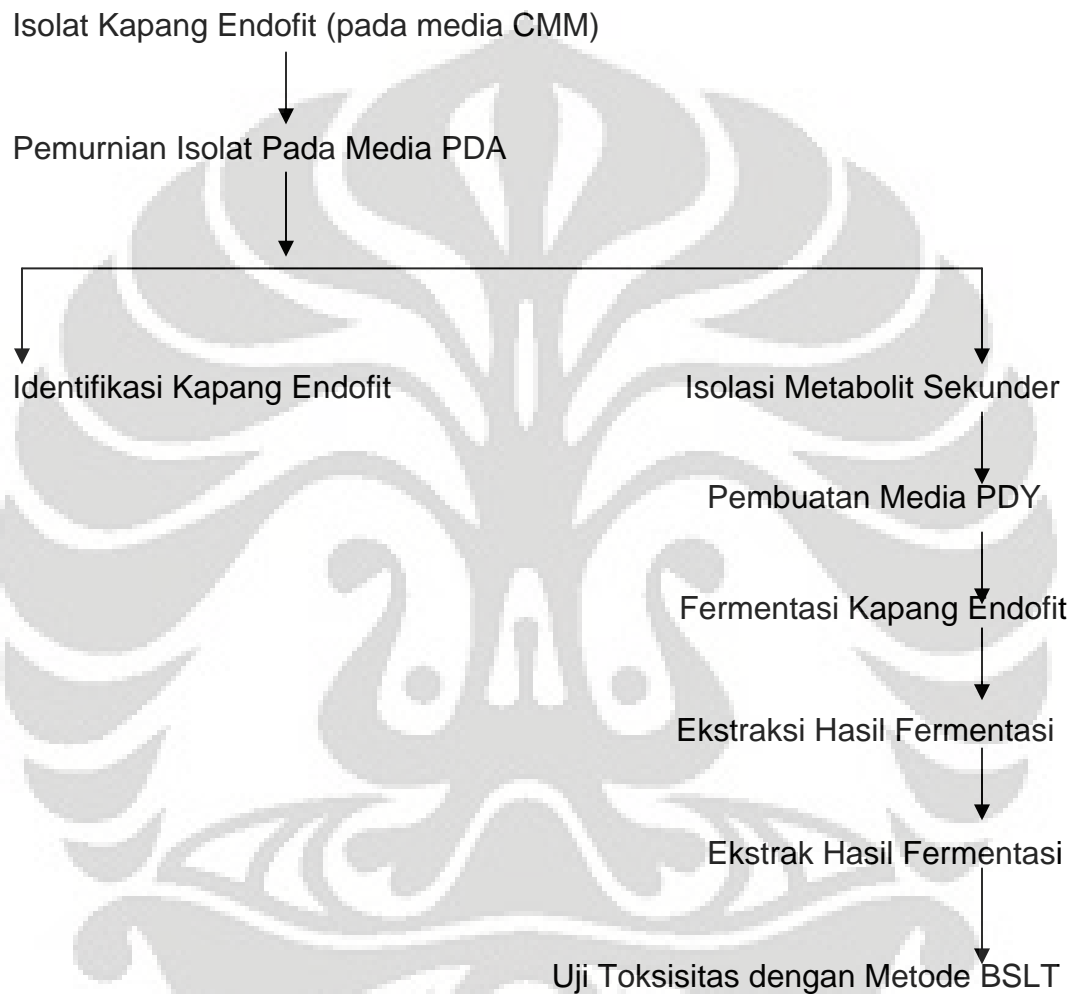
No.	Kode Isolat	Jumlah Larva yang Mati					
		10 ppm		100 ppm		1000 ppm	
		I	II	I	II	I	II
1.	C41	6	6	6	7	10	9
2.	D21	6	5	2	3	1	1
3.	D12	6	6	2	2	2	3
4.	A31	7	8	3	3	4	3
5.	A32	5	4	7	6	8	8
6.	F12	4	5	5	5	9	9
7.	E12	6	5	6	7	9	10
8.	E22	6	7	7	6	8	8
9.	R2B	5	6	7	6	8	8
10.	D4M	6	4	7	5	10	10
11.	D5A	6	4	9	9	10	9
12.	D5C	4	6	8	10	9	10
13.	R7	6	4	7	7	8	9
14.	R13A	5	6	8	7	9	10
15.	R9M	9	8	6	6	6	4
16.	R6	5	5	7	7	9	8
17.	R20	6	6	7	8	9	9
18.	D10	7	7	7	8	9	10
19.	R13B	5	6	8	7	10	10
20.	R15B	6	4	7	7	9	10

**Tabel 4**Nilai LC<sub>50</sub> Isolat Kapang Endofit

No.	Kode Isolat	Nilai LC <sub>50</sub> (ppm)	
		Etil asetat	<i>n</i> - Butanol
1.	C41	13,382	16,934
2.	D21	67,590	16,232
3.	D12	32,511	14,887
4.	A31	30,958	45,726
5.	A32	97,098	30,765
6.	F12	72,561	37,443
7.	E12	90,721	15,402
8.	E22	2,833	0,274
9.	R2B	15,402	13,382
10.	D4M	9,382	16,934
11.	D5A	6,615	10,280
12.	D5C	21,176	10,280
13.	R7	11,244	8,459
14.	R13A	14,671	13,719
15.	R9M	325,045	747,187
16.	R6	2,833	11,244
17.	R20	4,172	11,244
18.	D10	3,087	0,637
19.	R13B	10,280	13,719
20.	R15B	2,833	13,719

## Lampiran 1

### Skema Cara Kerja



**Lampiran 2**  
Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat C41

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	8	0.8000	0.8000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.112
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	13.382		

**Lampiran 3**  
Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat F12

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	3	0.3000	0.3000
100.0000	10	4	0.4000	0.4000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 1.452
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.137	0.000	2.578
LC/EC 50.00	72.561	7.668	410.281

**Lampiran 4**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat E12**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	2	0.2000	0.2000
100.0000	10	3	0.3000	0.3000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 3.826

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	1.433	0.003	8.051
LC/EC 50.00	90.720	27.218	292.603

**Lampiran 5**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat A32**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	3	0.3000	0.3000
1000.0000	10	8	0.8000	0.8000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 2.552

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.004		
LC/EC 50.00	97.098		

**Lampiran 6**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D12**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	5	0.5000	0.5000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 2.726

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.134	0.000	2.021
LC/EC 50.00	32.511	2.380	118.969

**Lampiran 7**

**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat A31**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	2	0.2000	0.2000
1000.0000	10	3	0.3000	0.3000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 2.437

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	711125.688		
LC/EC 50.00	30.958		



**Lampiran 8**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat E22**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	8	0.8000	0.8000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.883
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	2.833		

**Lampiran 9**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D21**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	4	0.4000	0.4000
1000.0000	10	3	0.3000	0.3000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.259
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	1807731.625		
LC/EC 50.00	67.590		

**Lampiran 10**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat F12**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	5	0.5000	0.5000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.988  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	95% Confidence Limits Upper
LC/EC 1.00	0.021	0.000	1.127
LC/EC 50.00	37.443	0.091	225.151

**Lampiran 11**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat E12**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.557  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	95% Confidence Limits Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	15.402		

**Lampiran 12**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat A32**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	8	0.8000	0.8000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.007  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	30.765		

**Lampiran 13**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D12**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	2	0.2000	0.2000
1000.0000	10	2	0.2000	0.2000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 1.007  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	169095.391		
LC/EC 50.00	14.887		

**Lampiran 14**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat A31**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	3	0.3000	0.3000
1000.0000	10	3	0.3000	0.3000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 1.051  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	1151903.625		
LC/EC 50.00	45.726		

**Lampiran 15**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat E22**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	7	0.7000	0.7000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.076  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	0.274		

**Lampiran 16**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat C41**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 2.108  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.037	0.000	1.119
LC/EC 50.00	16.934	0.066	67.209

**Lampiran 17**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D21**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	2	0.2000	0.2000
1000.0000	10	1	0.1000	0.1000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.338  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	12421.482	% 2446762.123E+10	850.033
LC/EC 50.00	16.232	70.590	0.008

**Lampiran 18**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D4M**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 2.768

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.006	0.000	0.577
LC/EC 50.00	9.382	0.000	49.010

**Lampiran 19**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D5A**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	8	0.8000	0.8000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.584

Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.019	0.000	0.827
LC/EC 50.00	6.615	0.000	28.480

**Lampiran 20**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D5C**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.000  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.020	0.000	0.957
LC/EC 50.00	21.176	0.016	98.265

**Lampiran 21**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R2B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.557  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	15.402		

**Lampiran 22**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D10**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	9	0.9000	0.9000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.177  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.011		
LC/EC 50.00	3.087		

**Lampiran 23**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R7**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.048  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	11.244		



**Lampiran 24**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R13A**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	4	0.4000	0.4000
100.0000	10	9	0.9000	0.9000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.024  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.495	0.000	3.042
LC/EC 50.00	14.671	1.426	39.605

**Lampiran 25**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R6**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	8	0.8000	0.8000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.883  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	2.833		

**Lampiran 26**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R9M**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	8	0.8000	0.8000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	4	0.4000	0.4000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.007  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	5947976.500		
LC/EC 50.00	325.045		

**Lampiran 27**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R15B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	8	0.8000	0.8000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.883  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	2.833		

**Lampiran 28**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R13B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstraj etil asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	9	0.9000	0.9000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.050  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstraj etil asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.200	0.000	2.048
LC/EC 50.00	10.280	0.063	29.943

**Lampiran 29**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R20**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Etil Asetat

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	6	0.6000	0.6000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000

Chi - Square for Heterogeneity (calculated) = 0.208  
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level) = 3.841

Ekstrak Etil Asetat

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	4.172		

**Lampiran 30**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D4M**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 2.108
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	95% Confidence Limits Upper
LC/EC 1.00	0.037	0.000	1.119
LC/EC 50.00	16.934	0.066	67.209

**Lampiran 31**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D5A**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	9	0.9000	0.9000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.050
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	95% Confidence Limits Upper
LC/EC 1.00	0.200	0.000	2.048
LC/EC 50.00	10.280	0.063	29.943

**Lampiran 32**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D5C**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	9	0.9000	0.9000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.050
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.200	0.000	2.048
LC/EC 50.00	10.280	0.063	29.943

**Lampiran 33**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R2B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	8	0.8000	0.8000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.112
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	13.382		

**Lampiran 34**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R7**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	8	0.8000	0.8000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.041
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	8.459		

**Lampiran 35**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat D10**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	7	0.7000	0.7000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.506
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.000		
LC/EC 50.00	0.637		

**Lampiran 36**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R13A**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 1.064
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.052	0.000	1.213
LC/EC 50.00	13.719	0.063	50.444

**Lampiran 37**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R6**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.048
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	11.244		

**Lampiran 38**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R9M**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	8	0.8000	0.8000
100.0000	10	6	0.6000	0.6000
1000.0000	10	5	0.5000	0.5000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.113
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	%315761472.000		
LC/EC 50.00	747.187		

**Lampiran 39**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R15B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 1.064
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.052	0.000	1.213
LC/EC 50.00	13.719	0.063	50.444



**Lampiran 40**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R13B**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	10	1.0000	1.0000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 1.064
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.052	0.000	1.213
LC/EC 50.00	13.719	0.063	50.444

**Lampiran 41**  
**Perhitungan probit analisis uji toksisitas isolat R20**

EPA PROBIT ANALYSIS PROGRAM  
USED FOR CALCULATING LC/EC VALUES  
Version 1.5

Ekstrak Butanol

Conc.	Number Exposed	Number Resp.	Observed Proportion Responding	Proportion Responding Adjusted for Controls
10.0000	10	5	0.5000	0.5000
100.0000	10	7	0.7000	0.7000
1000.0000	10	9	0.9000	0.9000
Chi - Square for Heterogeneity (calculated)				= 0.048
Chi - Square for Heterogeneity (tabular value at 0.05 level)				= 3.841

Ekstrak Butanol

Estimated LC/EC Values and Confidence Limits

Point	Exposure Conc.	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper
LC/EC 1.00	0.002		
LC/EC 50.00	11.244		

## Lampiran 42

Rumus Perhitungan LC<sub>50</sub> dengan Metode Interpolasi Linear  
(Linear Interpolation Methode)

$$LC_{50} = \frac{\text{antilog } (50 - ML) (\text{Log } Cu) + (Mu - 50) (\text{Log } CL)}{Mu - ML}$$

Keterangan :

CL : Konsentrasi dengan kematian yang paling dekat dan dibawah 50%

Cu : Konsentrasi dengan kematian yang paling dekat dan diatas 50%

ML : Persentasi kematian pada CL

Mu : Persentasi kematian pada Cu