

**UJI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL JAMUR YANG DIISOLASI
DARI TANAH DI SOLO TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF7
SECARA *IN VITRO***



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada
Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

OKA GAGAZ PRIA SETIAWAN

K 100 110 035

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA**

2017

HALAMAN PERSETUJUAN

**UJI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL JAMUR YANG DIISOLASI
DARI TANAH DI SOLO TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF7
SECARA *IN VITRO***

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

OKA GAGAZ PRIA SETIAWAN

K 100 110 035

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:



Dosen Pembimbing

Azis Saifudin, M.Sc., Ph.D., Apt.

NIK.956

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL JAMUR YANG DIISOLASI DARI
TANAH DI SOLO TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF7 SECARA
*IN VITRO***

OLEH

OKA GAGAZ PRIA SETIAWAN

K 100 110 035

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada hari Rabu, 3 Januari 2018
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

Dewan Penguji:

- 1. Maryati, Ph.D., Apt.
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Dr. Haryoto, M.Sc.
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Azis Saifudin, M.Sc., Ph.D., Apt.
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)
(.....)
(.....)

Dekan,



Azis Saifudin, M.Sc., Ph.D., Apt.

NIK.956

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 3 Januari 2018

Penulis



OKA GAGAZ PRIA SETIAWAN

K 100 110 035

UJI ANTIKANKER EKSTRAK METANOL JAMUR YANG DIISOLASI DARI TANAH DI SOLO TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA MCF-7 SECARA IN VITRO

Abstrak

Tanah merupakan penghasil mikroba terbanyak salah satunya adalah jamur. Hasil dari manfaat kultur jamur yang sudah kita rasakan antara lain bleomisin, daunorobisin, dan mitomisin sebagai obat antikanker payudara. Pengembangan tentang metabolit penghasil antikanker dari jamur tanah sangat perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antikanker ekstrak metanol jamur dari tanah persawahan, pekarangan rumah, tepian sungai bengawan solo, tempat pembuangan akhir sampah dan selokan terhadap efek sitotoksik sel kanker payudara MCF-7. Sampel tanah diambil dan diskriming kemudian ditanam pada media Czapek Dox yang telah ditambahkan antibiotik streptomisin dan tetrasiklin serta ekstrak yeast. Sampel jamur tanah dan media Czapek Dox diekstraksi dengan pelarut metanol. Ekstrak metanol dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25 µg/mL diuji menggunakan metode MTT assay untuk mengetahui efek sitotoksik pada sel kanker MCF-7. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa dari kelima ekstrak metanol jamur tanah mampu meningkatkan jumlah sel hidup MCF-7 seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Peningkatan persentase hidup sel MCF-7 menunjukkan bahwa ekstrak metanol jamur tidak menghasilkan metabolit aktif yang mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol jamur tidak mempunyai efek antikanker terhadap sel kanker MCF-7.

Kata kunci: Jamur tanah, sitotoksik, sel MCF-7

Abstract

Soil microbes are producing the largest one of which is a fungus. Results of the benefits of mushroom culture we already felt among others bleomycin, daunorobisin, and as an anticancer drug mitomycin breast. Development of producing anticancer metabolites of soil fungi is necessary. This study aims to determine the anticancer effect of the methanol extract of the fungus from agricultural land, homestead, riverbanks bengawan solo, landfill and sewers to the cytotoxic effects of breast cancer cells MCF-7. Soil samples were collected and screened later planted in the media that have been added Czapek Dox streptomycin and tetracycline antibiotics and yeast extract. Samples of soil fungi and media Czapek Dox extracted with methanol. The methanol extract at a concentration of 500; 250; 125; 62.5; 31.25 mg / mL were tested using the MTT assay to determine the cytotoxic effect on cancer cells MCF-7. Cytotoxic test results showed that the methanol extract of the five soil fungi capable of increasing the number of live MCF-7 cells with increasing concentration. Increasing the percentage of live MCF-7 cells showed that the methanol extract of the fungus does not produce the active metabolite that is able to inhibit the growth of MCF-7 cells. It can be concluded that the methanol extract of the fungus does not have anticancer effects against cancer cells MCF-7.

Keywords: fungal soil, cytotoxic, MCF-7 cells

1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian di dunia. Di Indonesia angka kematian terbesar disebabkan oleh kanker payudara yang terjadi pada wanita. Prosentasi angka kejadian kanker payudara pada wanita adalah 43,3% dan 12,9% diantaranya menyebabkan kematian pada tahun 2012 (DepKes, 2015). Prevalensi penyakit kanker di Indonesia pada tahun 2013 sekitar 330.000 orang berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar. *International Agency for Research on Cancer* (IARC) menyebutkan bahwa pada tahun 2012 angka kejadian kanker payudara mencapai 40 orang dalam 100.000 perempuan. Pada umumnya, pengobatan kanker payudara dapat dilakukan dengan cara pembedahan, radiasi, kemoterapi, dan terapi hormon yang ditunjang dengan obat-obatan anti kanker. Obat antikanker yang biasanya digunakan memiliki efek samping yang tidak diinginkan antara lain mual, muntah, rambut rontok, dan berkurangnya jumlah sel leukosit (Medicastore, 2011). Selain, obat tersebut mempunyai efek samping kelemahan lain adalah pada biaya untuk penyembuhan relatif besar (Kemenkes RI, 2015).

Pengembangan obat baru perlu dilakukan dengan cara mengeksplorasi senyawa-senyawa yang mempunyai efektivitas tinggi dan efek samping seminimal mungkin. Eksplorasi yang berasal dari bahan alam dengan memanfaatkan mikroba banyak dilakukan (Sunaryanto *et al*, 2010) dan tanah merupakan salah satu penghasil mikroba terbesar. Jamur termasuk salah satu jenis mikroba tanah yang dapat menghasilkan metabolit seperti poliketida, diketopiperazin, alkaloid, dan non ribosomal peptide yang terlibat dalam patogenisitas dan memiliki efek antikanker (Mohamed, 2012). Beberapa penelitian telah banyak dilakukan untuk menguji efek sitotoksik pada ekstrak jamur tanah terhadap sel kanker. Hasil penelitian Ramos *et al* (2016), isolat *Neosartorya fischeri* dari tanah hutan pantai di Portugal mempunyai efek penghambatan persentase hidup sel MCF-7 dengan nilai IC₅₀ 189µg/ml. Liu (2014) mengisolasi jamur *Eutypella sp.* D-1 dari tanah lintang tinggi Arktik mempunyai aktivitas antikanker terhadap sel kanker MCF-7 dengan nilai IC₅₀ 9,88 µM. Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antikanker ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah di Solo terhadap sel MCF-7 secara *in vitro*.

2. METODE

2.1 Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat-alat yang digunakan pada proses pengambilan sampel seperti pipa, wadah aseptis, penggaris, label. Pada proses skrining alat yang digunakan seperti Beaker glass (Pyrex), ose, bunsen, crotch borer, neraca analitik (ohous), incubator (binder), mikropipet (soccores), blue tip, dan yellow tip. Peralatan dalam ekstraksi yaitu kertas saring whatman no.1, penangas air, seperangkat alat maserasi, dan rotator evaporator. Peralatan dalam pembuatan media yaitu neraca analitik, inkubator, cawan petri, batang pengaduk, pH meter (Toa Electrics Ltd), dan penangas air. Sedangkan, peralatan dalam uji sitotoksik yaitu mikroskop inverted (Olympus, Jepang), penangas air, pipet pasteur, sentrifus Sigma 3K12 (B.Braun Biotech Internasional), Laminar Air Flow (Nuair), pH meter (Toa Electrics Ltd), incubator CO₂ Jacketed Inkubator (Nuair TM IR autoflow), ELISA reader, hemisitometer (New Bauer), tabung konikal steril (nunclone), scraper, tissue culture flask (nunclone), microplate 96 sumuran (nuclone), mikropipet (Soccores), vortex (Genie), dan timbangan elektrik (Sartorius).

Bahan untuk pengambilan sampel tanah yaitu alkohol 70%. Bahan untuk skrining tanah dan isolasi yaitu sampel tanah, media Czapek dox, larutan salin steril, media sabouraud + Chloramphenicol, bayclin 10%, dan etanol 70%. Bahan untuk ekstraksi yaitu metanol dan isolat jamur + media. Bahan untuk uji sitotoksik yaitu sel MCF-7 yang diperoleh dari laboratorium Kultur Sel Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta, DMEM, FBS 10%, Antibiotik Penicillin-Streptomycin 2% dan fungizine 0,5%, aquadest, natrium bicarbonate, aquabidest, PBS (*Phosphate Buffer Saline*), dan larutan MTT {3-(4,5-dimetil thiazol-2il)-2,5-difeniltetrazolium bromide} dalam PBS 20%, SDS 10% (Sigma), HCl 0,1 N, DMSO 100%, doxorubicin (kontrol positif).

2.2 Jalannya Penelitian

2.2.1 Pengambilan sampel dan skrining tanah

Pengambilan sampel dilakukan pada lima ekosistem yang berbeda di solo yaitu pada tanah persawahan (110°75.518'-7°55.784'), tanah pekarangan rumah (110°76.413'-7°56.230'), tanah tepian sungai bengawan solo (110°84.592'-7°55.488'), tanah tempat pembuangan akhir sampah (110°85.466'-7°53.662'), dan tanah selokan (110°76.227'-7°55.846'). Sampel tanah diambil pada setiap ekosistem kedalaman 10 cm

(Mohammed, 2012). Masing-masing sampel tanah diambil 1 gram secara aseptik untuk disuspensikan dengan larutan salin 10 mL dalam tabung steril. Suspensi tanah diencerkan menggunakan larutan salin steril 10^{-3} , kemudian diambil 100 μ L dan dituangkan serta diratakan menggunakan *spreader glass* ke dalam cawan petri steril yang berisi media padat selektif yaitu Czapek Dox. Serangkaian tahap di atas dilakukan didalam LAF dan diinkubasi dalam inkubator dalam suhu 28°C selama 14 hari. Identifikasi isolat jamur tanah dari masing-masing cawan petri dilakukan secara makroskopis berdasarkan warna, bentuk, dan sifat koloni.

2.2.2 Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan memotong media yang berisi jamur tanah menjadi potongan dadu kecil-kecil dan dimasukkan kedalam pelarut metanol 0,5 L (Nofiani *et al.*, 2009). Maserasi dilakukan selama empat hari, kemudian disaring dengan kertas saring Whatman. Residu hasil penyaringan direndam kembali selama 4 hari. Hasil keduanya dicampurkan menjadi satu lalu dipekatkan menggunakan *rotatory evaporator* pada suhu 45°C dilanjutkan pemanasan diatas *waterbath* pada suhu 60oC untuk mendapatkan ekstrak kental (Suryanto *et al.*, 2011).

2.2.3 Uji Sitotoksik

Sel MCF-7 ditumbuhkan pada media DMEM dan diinkubasi pada suhu 37°C. Saat sel MCF-7 mencapai 80% konfluen maka dilakukan pemanenan sel. Sel MCF-7 100 μ L dimasukkan pada masing-masing sumuran pada *96-well microplantes*. Sel kemudian diinkubasi hingga mencapai 80% konfluen kembali. Media pada masing-masing sumuran dibuang dan ditambahkan sampel jamur tanah dengan konsentrasi 500; 250; 125; 62,5; 31,25.

2.2.3 Analisis Data

Metode yang digunakan pada uji sitotoksik yaitu metode assay, merupakan suatu metode berdasarkan absorbansi sel hidup. Persentase sel hidup yang digunakan untuk menganalisis efek sitotoksik jika absorbansi kontrol pelarut kurang lebih sama dengan kontrol sel maka dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol media} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (1)$$

Persentase sel hidup yang digunakan untuk menganalisis efek sitotoksik jika absorbansi kontrol pelarut lebih rendah dari absorbansi kontrol sel maka dapat dihitung dengan rumus:

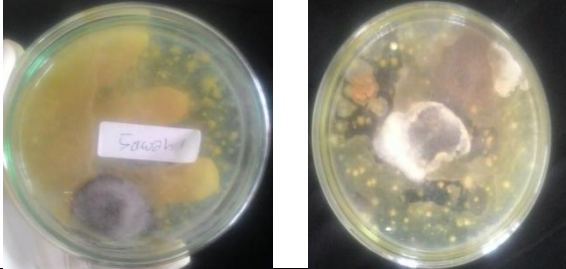
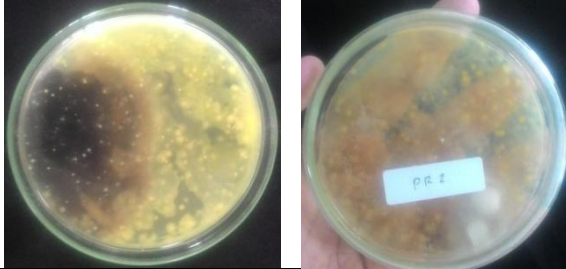
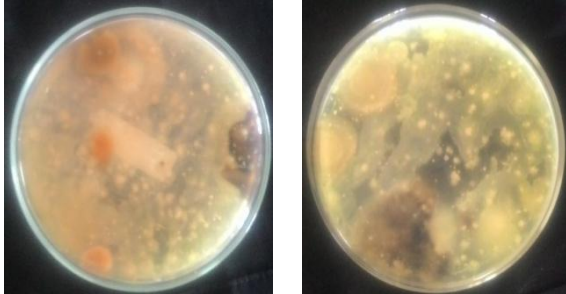
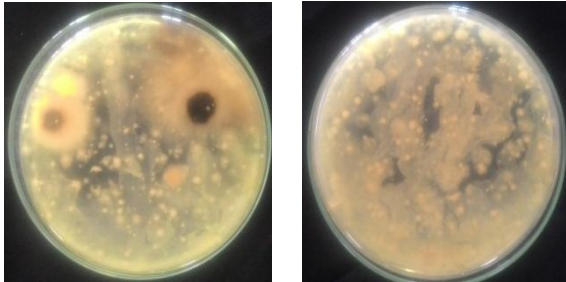
$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media}}{\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media}} \times 100\% \quad (2)$$

Hasil data kemudian diplotkan dalam grafik regresi linier antara log kadar versus rata-rata % sel hidup, sehingga dapat diketahui persamaan regresi linier $y = Bx + A$, dengan $y =$ angka probit dan $x =$ log konsentrasi. Persamaan regresi linier yang didapat digunakan untuk menentukan harga IC_{50} ekstrak metanol jamur tanah terhadap sel MCF-7.

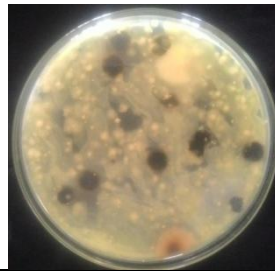
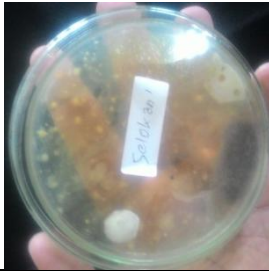
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan pada lima ekosistem tanah yang berbeda yaitu tanah pesawahan, tanah pekarangan rumah, tanah tempat pembuangan akhir sampah, tanah tepian sungai bengawan solo, dan tanah selokan yang berada di daerah Solo. Kelima ekosistem sampel tanah tersebut dipilih berdasarkan pada tekstur, warna dan tanaman yang tumbuh disekitar tanah yang akan mempengaruhi keberadaan mikroba yang ada didalam tanah (Saraswati *et al*, 2007). Teknik analisis biologi untuk mengetahui aktivitas mikroba dalam tanah dapat dilakukan dengan skrining tanah (Saraswati *et al.*, 2007), yang bertujuan untuk menumbuhkan jamur yang akan diuji sitotoksik pada sel kanker MCF-7. Media yang digunakan untuk isolasi jamur adalah Czapek Dox (Warcup, 1950), yang ditambah dengan antibiotik striptomisin dan tetrasiklin untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan ekstrak yeast sebagai nutrisi pertumbuhan jamur (Warcup & Backer, 1963). Berdasarkan hasil identifikasi secara makroskopis, isolat jamur dari kelima ekosistem tanah tersebut pada hari ke-14 mempunyai ciri-ciri yang berbeda, yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Identifikasi makroskopis sampel jamur pada inkubasi hari ke 14

Gambar jamur pada inkubasi hari ke 14	Identifikasi		
	Warna	Bentuk	Sifat
<p>Jamur yang diinkubasi dari tanah persawahan</p> 	Kuning, hitam, dan putih	Bulat kecil kehitaman dan tidak beraturan	Tidak berlendir
<p>Jamur yang diinkubasi dari tanah pekarangan rumah</p> 	Kuning, dan coklat kehitaman	Bulatan-bulatan kecil dan tidak beraturan	Berlendir dan sedikit berlendir
<p>Jamur yang diinkubasi dari tanah tepian sungai bengawan solo</p> 	Orange, kuning, hitam dan coklat kehitaman	Tidak beraturan	Tidak berlendir
<p>Jamur yang diinkubasi dari tanah tempat pembuangan akhir sampah</p> 	Kuning, putih, dan hitam	Bulat dan tidak beraturan	Tidak berlendir

Jamur yang diinkubasi dari tanah selokan



Kuning, hitam dan putih

Bulatan-bulatan kecil dan tidak beraturan

Berlendir

Berdasarkan hasil kelima sampel jamur tanah mempunyai perbedaan yang bervariasi dan beraneka ragam, secara makroskopis. Keberadaan berbagai jenis mikroba didalam tanah, dipengaruhi oleh sifat fisik dan kimia tanah, sebagaimana dalam penelitian kelima jamur tanah mempunyai sifat fisik yang berbeda satu dengan lainnya (Saraswati, *et al.*, 2007). Meskipun demikian, kelima jamur tanah memiliki pertumbuhan yang sangat baik, kecuali pada isolat jamur tanah dari ekosistem tanah persawahan. Hal ini karena, penggunaan peptisida dan alat-alat berat pertanian mempengaruhi pertumbuhan jamur tanah sehingga mempengaruhi keragaman fungsional dalam tanah yang mengakibatkan keberadaan mikroba pada ekosistem tanah persawahan menjadi lebih sedikit (Widyati, 2013). Pertumbuhan jamur tanah yang sedikit juga terjadi pada sampel tanah persawahan di daerah Yogyakarta (Rosita, 2016).

Media pertumbuhan jamur ikut diekstraksi karena metabolis sekunder yang terdapat pada media dikhawatirkan mempunyai efek penghambatan terhadap sel kanker. Ekstraksi dilakukan pada semua sampel jamur tanah akan tetapi penelitian ini tidak meneliti identifikasi spesies jamur yang tumbuh dan lebih fokus pada skrining efek isolat jamur tanah serta media pertumbuhannya sebagai antikanker. Metanol merupakan pilihan utama sebagai pelarut ekstraksi jamur tanah yang mempunyai daya ekstraksi luas dan mampu menyari semua metabolis yang ada pada jamur tanah (Saifudin, 2004). Proses ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali untuk memperoleh hasil ekstraksi optimum. Ekstraksi dilakukan juga pada media Czapek Dox karena ekstrak media Czapek Dox berfungsi sebagai kontrol negatif dengan tujuan untuk mengetahui efek yang timbul dari MCF-7. Hasil ekstraksi jamur tersebut berupa ekstrak kental dari kelima sampel tanah dalam persen rendemen berikut ini:

Tabel 2. Rendeman ekstrak metanol isolat jamur tanah beserta media pertumbuhannya

Ekstrak	Rendemen (%)
Isolat jamur tanah persawahan	2,81
Isolat jamur tanah pekarangan rumah	2,74
Isolat jamur tanah tepian sungai bengawan solo	1,14
Isolat jamur tanah tempat pembuangan akhir sampah	1,76

Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak metanol jamur tanah persawahan, pekarangan rumah, tepian sungai bengawan solo, tempat pembuangan akhir sampah beserta media pertumbuhannya menyebabkan peningkatan persentase jumlah kanker MCF-7. Pada penelitian yang sama, ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tepian sungai di kabupaten Cilacap beserta media pertumbuhannya tidak mempunyai efek penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker MCF-7 (Wulan, 2016). Sedangkan, menurut Rosita (2016) ekstrak metanol jamur yang diisolasi dari tanah tepi pantai daerah Yogyakarta mempunyai efek penghambatan sel kanker MCF-7 dengan nilai IC50 sebesar 140 µg/ml. Pada penelitian jamur yang dilakukan di hutan pantai Portugal (*Neosartorya fischeri*) terhadap sel MCF-7 mempunyai efek penghambatan persentase hidup sel MCF-7 dengan nilai IC50 189µg/ml (Ramos et al, 2016).

Tabel 3. Persentase sel MCF-7 yang hidup setelah diberi ekstrak metanol jamur beserta media pertumbuhannya

Konsentrasi (µg/mL)	Persentase sel hidup (%)					
	Persawahan	Pekarangan rumah	Tepian sungai bengawan solo	TPA sampah	Selokan	Media Czapek dox
500	105,159	97,420	119,119	100,607	105,918	130,121
250	107,738	123,065	109,711	100,455	113,049	-
125	116,084	109,256	110,925	109,104	85,280	101,213
60,5	99,696	121,395	106,828	91,198	109,253	-
31,25	126,706	119,119	105,614	98,482	104,404	94,613

Ekstrak metanol jamur tanah tempat pembuangan akhir sampah, memberikan efek peningkatan persentase kehidupan sel seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak Efek ini sebanding dengan efek yang ditimbulkan oleh media Czapek Dox.

Peningkatan persentase jumlah sel hidup terjadi akibat adanya kontaminasi pada saat menumbuhkan jamur tanah yang akan tumbuh sehingga menyebabkan persentase sel hidup MCF7 tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa jamur tanah yang tumbuh tidak menghasilkan metabolit sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan sel hidup MCF-7. Dengan demikian ekstrak metanol jamur tanah dari kelima sampel dan ekstrak media Czapek Dox tidak menghasilkan senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan sel MCF-7.

4. PENUTUP

Hasil pengujian pada kelima ekstrak metanol jamur yang diperoleh dari tanah persawahan, pekarangan rumah, tepian sungai bengawan solo, tempat pembuangan akhir sampah dan selokan tidak mempunyai efek anti kanker karena pertumbuhan sel kanker MCF-7 meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

DAFTAR PUSTAKA

- Kementerian kesehatan RI, 2015, *Stop Kanker*, Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Liu, J.T. et al., 2014. Bioactive tyrosine-derived cytochalasins from fungus *Eutypella* sp. D-1. Available at: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24827690 [Accessed October 17, 2016]
- Medicastore, 2011, *Pengobatan Kanker*, *Pengobatan Kanker*, Available at: [http://medicastore.com/penyakit/780/Pengobatan Kanker.html](http://medicastore.com/penyakit/780/Pengobatan%20Kanker.html) [Accessed October 16, 2016].
- Mohamed, H.F., 2012. Molecular analysis and anticancer properties of two identified isolates, *Fusarium solani* and *Emericella nidulans* isolated from Wady El-Natron soil in Egypt against Caco-2 (ATCC) cell line. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(11), pp.863–869.
- Nofiani R., Nurbetty S. and Sapar A., 2009, Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Bakteri Berasosiasi Spons dari Pulau Lemukutan, Kalimantan Barat, *E-Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 1 (2), 33–44.
- Ramos, A. ., Carvalho, B. ., Sena, M. ., Dethoup, T., Buttachon, S., Kijjoa, A., & Rocha, E. (2016). Crude Extracts of Marine-derived and Soil Fungi of the Genus *Neosartorya* Exhibit Selective Anticancer Activity by Inducing Cell Death in Colon, Breast and Skin Cancer Cell Lines. *Journal of Pharmacognosy*, 8(1), 8–

15.

Sunaryanto, R., Marwoto, B. & Tjindarbumi, M., 2010, Isolasi Actinomycetes Laut Penghasil Metabolit Sekunder yang Aktif Terhadap Sel Kanker A549, 5(1), pp.111–116.

Saraswati, R., Husen, E. & Simanungkalit, R.D.M., 2007. Metode Analisis Biologi Tanah, Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian.

Warcup J.H., 1950, The Soil-Plate Method for Isolation of Fungi from Soil, Nature, 166 (4211), 117–118. Terdapat di: <http://www.nature.com/doi/10.1038/166117b0> [Diakses pada November 30, 2016].

Warcup J.H. and Baker K.F., 1963, Occurrence of Dormant Ascospores in Soil, Nature, 197 (4874), 1317–1318. Terdapat di: <http://www.nature.com/doi/10.1038/1971317a0> [Diakses pada November 30, 2016].

Widyati E., 2013, Pentingnya Keragaman Fungsional Organisme Tanah Terhadap Produktivitas Lahan, Tekno Hutan Tanaman, 6, 29–37.

Rosita S.S., 2016, Uji Sitotoksitas Ekstrak Metanol Jamur Dari Isolat Tanah di Daerah Istimewa Yogyakarta Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.

Saifudin A., 2014, Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Edisi 1, Deepublish, Yogyakarta.

Wulan N.S., 2016, Uji Anti Kanker Ekstrak Metanol Jamur yang Diisolasi Dari Tanah di Cilacap terhadap Sel Kanker MCF-7 Secara In Vitro, Skripsi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.