

KULTIVASI KAPANG MFW-01-08 YANG DIISOLASI DARI ASCIDIA *Aplidium longithorax* DAN UJI AKTIVITAS SITOTOKSIKNYA TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D

Muhammad Nursid¹⁾, Asri Pratitis¹⁾, dan Ekowati Chasanah¹⁾

ABSTRAK

Mikroba laut, khususnya kapang, banyak digunakan sebagai sumber senyawa bioaktif baru. Banyak dari senyawa ini digunakan sebagai senyawa pemandu dalam pencarian obat-obatan baru antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak kapang MFW-01-08. Kapang diisolasi dari ascidia laut *Aplidium longithorax* yang diambil dari Taman Nasional Laut Wakatobi, Sulawesi Tenggara. Kapang MFW-01-08 diisolasi dengan menggunakan media *Malt Extract Agar* (MEA) kemudian dikultivasi selama 5 minggu (statis) pada suhu 27–29°C dalam media SWS yang mengandung pepton soya (0,1%), pati larut air (2,0%), dan air laut buatan (1 L). Uji sitotoksik dilakukan menggunakan sel lestari T47D (kanker payudara) berdasarkan metode MTT assay. Senyawa metabolit sekunder dari miselium kapang diekstraksi dengan campuran diklorometan – metanol 1 : 1 sedangkan media kultur kapang diekstraksi dengan etil asetat. Hasil uji MTT memperlihatkan bahwa ekstrak media kultur memiliki aktivitas sitotoksik medium ($IC_{50} = 92,6 \mu\text{g/mL}$) dan ekstrak miselium tidak menunjukkan aktivitas sitotoksik ($IC_{50} = 183,6 \mu\text{g/mL}$) terhadap sel T47D. Oleh karena itu penelitian lanjutan akan difokuskan pada ekstrak media kultur.

ABSTRACT: *Cultivation of MFW-01-08 fungi isolated from *Aplidium longithorax* ascidia and its cytotoxicity activity against T47D breast cancer cell. By: Muhammad Nursid, Asri Pratitis and Ekowati Chasanah*

*Marine microbes, particularly fungi, have recently been utilized as a new source of novel bioactive compound. Many of them have been used as the lead compounds in discovery of new anticancer drugs. The aim of this study was to investigate cytotoxic activity of MFW-01-08 fungal extract. The fungal strain was isolated from the marine ascidia *Aplidium longithorax* collected from Wakatobi Marine National Park, South East Sulawesi. The fungal was isolated using Malt Extract Agar (MEA) media then cultivated for five weeks (static) at 27–29°C in SWS medium contained soytone (0.1%), soluble starch (2.0 %) and artificial seawater (1 L). Cytotoxicity test was performed using T47D (breast cancer) cell line based on the MTT assay. The secondary metabolite from fungal mycelium was extracted using mixture of dichloromethane and methanol (1 : 1) whereas fungal broth was extracted using ethyl acetate. The MTT assay showed that broth extract had medium cytotoxicity ($IC_{50} = 92.6 \mu\text{g/mL}$) while mycelium extract was not active ($IC_{50} = 183.6 \mu\text{g/mL}$) against T47D cell. Therefore, further study will be focused on broth extract*

KEYWORDS: *fungi, *Aplidium longithorax*, cytotoxicity activity, T47D*

PENDAHULUAN

Bahan alami (*natural product*) yang berasal dari lingkungan laut Indonesia memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai bahan obat karena 70% wilayah Indonesia berupa lautan. Organisme yang mendiami wilayah laut Indonesia dikenal memiliki diversitas jenis dan genetik yang tinggi. Di dalam lautan yang luas tersebut juga tersimpan senyawa bioaktif yang melimpah sekaligus beragam.

Ascidia (*sea squirt*) adalah hewan invertebrata bertubuh lunak yang biasanya banyak ditemukan di ekosistem terumbu karang meskipun ada juga yang mengapung bebas di perairan terbuka. Dari seluruh

hewan invertebrata, ascidia adalah yang paling dekat dengan hewan vertebrata karena mempunyai bagian tulang belakang seperti duri dan tabung saraf yang dimiliki saat masih larva, oleh karena itu ascidia dimasukan dalam filum Chordata (Colin & Arneson, 1995; Erdmann, 2004).

Banyak di antara ascidia yang mengandung senyawa sitotoksik sehingga kelompok hewan ini menjadi sasaran penelitian dalam eksplorasi senyawa bioaktif dari laut (Colin & Arneson, 1995). Salah satu senyawa anti kanker dari ascidia yang sudah cukup dikenal adalah ecteinascidin 743 (ET-743) yang diisolasi pertama kali dari ascidia *Ecteinascidin turbinata*. ET-743 saat ini sudah dikembangkan di Uni

¹⁾ Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, KKP;
E-mail: mnursid@yahoo.co.id

Eropa dengan nama Yondelis®, dan digunakan untuk terapi *sarcoma* pada jaringan lunak (Sashidhara *et al.*, 2009).

Banyak artikel ilmiah yang menyatakan bahwa selain *host*, mikroba yang bersimbion ataupun berasosiasi dengan biota laut juga mampu menghasilkan senyawa bioaktif, salah satunya adalah kapang laut (*marine derived fungi*). Dalam kurun waktu 2002–2006 sudah ditemukan 330 senyawa baru yang berasal dari kapang laut. Hal ini menunjukkan bahwa kapang laut menjadi sumber yang penting sebagai penghasil senyawa bioaktif (Kjer *et al.*, 2010). Senyawa bioaktif ini termasuk dalam golongan poliketida, terpen, steroid, dan peptida. Aktivitas biologi yang menjadi fokus utama adalah aktivitas antibiotik dan antikanker (Bugni & Ireland, 2004; Saleem *et al.*, 2007).

Salah satu *host* mikroba asosiatif maupun simbiotiknya yang banyak diteliti adalah ascidia. Sekitar 5% senyawa bioaktif dari kapang laut berasal dari ascidia. Sampai dengan tahun 2004 sekurang-kurangnya telah dilaporkan 20 senyawa baru dari kapang laut yang diisolasi dari ascidia. Beberapa senyawa baru dari kapang laut yang berasosiasi dengan ascidia adalah phitolides A-D (dihasilkan oleh *Phytomyces* sp. yang berasal dari ascidia *Oxycorynia fascicularis*), oxepinamides A-C (dari kapang laut *Acremonium* sp. yang berasal dari ascidia *Ecteinascidia turbinata*) dan yanuthone A-E (diisolasi dari kapang laut *Aspergillus niger* yang berasosiasi dengan ascidia *Aplidium* sp.) (Bugni & Ireland, 2004).

Penelitian mengenai bioprospeksi kapang yang diisolasi dari lingkungan laut di Indonesia masih terbatas. Sejauh ini, masih jarang penelitian yang dilakukan di Indonesia untuk mengisolasi dan mengkultivasi kapang laut yang berasal dari ascidia. Beberapa penelitian tentang kapang laut di Indonesia yang dilakukan oleh Namikoshi *et al.* (2002), Proksch *et al.* (2003), Chasanah *et al.* (2009), dan Pratitis *et al.* (2009) terutama difokuskan pada spons sebagai *host*.

Biomassa kapang dapat dikultivasi dari spora atau dari sel-sel vegetatif pada kultur cair. Biomassa kapang akan meningkat dengan pembentukan sel vegetatif maupun filamen-filamen hifa serta pembentukan sekelompok miselium yang sering memiliki bentuk yang bervariasi. Kultivasi kapang pada media cair memungkinkan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas tertentu. Senyawa metabolit sekunder yang diproduksi dari kapang yang dikultivasi dapat menjawab masalah suplai atau pasokan senyawa bioaktif yang selama ini terjadi. Masalah suplai ini menurut Proksch *et al.* (2002) menjadi hambatan utama dalam pengembangan senyawa bioaktif dari

organisme laut terutama ketika pengembangan senyawa bioaktif tersebut sedang memasuki evaluasi preklinis dan klinis. Masalah ini muncul terutama disebabkan oleh kecilnya rendemen (*yield*) senyawa bioaktif yang dihasilkan dari organisme laut (Bhakuni & Rawat, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkultivasi strain kapang MFW-01-08 yang diisolasi dari ascidia *Aplidium longithorax* dalam media cair dan mengetahui aktivitas sitotoksik senyawa bioaktif yang dihasilkan.

METODE

Isolasi Kapang dari *Host*

Isolat kapang MFW-01-08 diperoleh dari koleksi isolat yang dimiliki oleh Laboratorium Bioteknologi Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Isolat ini diisolasi dari ascidia W-02-08 yang diperoleh dari Taman Nasional Laut Wakatobi, Provinsi Sulawesi Tenggara dengan menggunakan media MEA yang mengandung 0,3% ekstrak malt; 0,3% ekstrak yeast; 0,5% pepton; dan 1,5% agar (Chasanah *et al.*, 2008).

Identifikasi Strain Kapang MFW-01-08 dan *Ascidia* W-02-08

Identifikasi terhadap strain kapang MFW-01-08 dilakukan secara molekuler. Prosedur isolasi DNA dilakukan menurut petunjuk yang terdapat pada *Genomic DNA Purification Kit* (Fermentas). DNA yang diperoleh selanjutnya diamplifikasi dengan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan pasangan primer ITS1 - ITS4 dengan urutan basa ITS1 : 5'- CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTAA-3' dan ITS4 : 5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'. Kedua primer ini digunakan untuk mengamplifikasi daerah ITS1-5.8S-ITS2 (Pang & Mitchell, 2005; Lai *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009). Purifikasi produk PCR dilakukan menurut petunjuk yang terdapat pada kit. Hasil purifikasi selanjutnya disekuensing di Laboratorium MacroGen, Korea Selatan. Hasil sekuensing dianalisis menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) (Atschul *et al.*, 1997).

Identifikasi terhadap ascidia W-02-08 dilakukan di Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi (P2O) LIPI, Ancol, Jakarta.

Kultivasi Kapang dalam Media Cair 1 L

Spora strain kapang MFW-01-08 yang disimpan dalam freezer -70°C dimasukkan ke dalam cawan petri yang mengandung media MEA. Setelah tumbuh dengan baik sekitar 3–4 hari, spora dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media MEA

cair. Kultur cair ini selanjutnya dipindah ke dalam labu ukur 3 L yang berisi 1 L media SWS cair. Media SWS cair mengandung 1% pati larut air (*soluble starch*); 0,2% pepton soya; dan 1 L air laut buatan. Kultivasi dilakukan selama 5 minggu, suhu 27–29°C, dan dalam kondisi statis.

Ekstraksi Senyawa Bioaktif Hasil Kultivasi

Ekstraksi terhadap media kultur (*broth*) yang mengandung metabolit dari kapang dilakukan dengan menggunakan etil asetat. Etil asetat digunakan karena memiliki polaritas sedang (semipolar) sehingga mampu melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar sampai polar. Selain itu etil asetat tidak bercampur dengan media kultur sehingga mudah dipisahkan dengan media. Sebelum diekstrak, media kultur disaring dengan menggunakan kain kasa. Ekstraksi media kultur dilakukan di dalam corong pisah volume 2000 mL. Sebanyak 500 mL etil asetat ditambahkan ke dalam corong pisah kemudian dikocok selama 2 menit dan didiamkan beberapa saat sampai lapisan etil asetat dan media kultur memisah dengan jelas. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstraksi miselium dilakukan dengan cara sebagai berikut : sebelum diekstrak dengan pelarut, miselium dikeringkan menggunakan *freeze drier*. Miselium yang sudah kering diekstrak dengan pelarut metanol dan diklorometan 1 : 1 (200 mL) kemudian disonikasi selama 120 menit. Proses ini dilakukan sebanyak 3 kali. Metanol bersifat polar sedangkan diklorometan bersifat semi polar sehingga campuran kedua pelarut ini dapat melarutkan dengan baik metabolit yang terkandung dalam miselium. Ekstrak media kultur dan miselium kemudian dipekatkan dalam rotavapor vakum hingga diperoleh ekstrak kasar dari media kultur dan miselium.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Analisis KLT dilakukan dengan menggunakan plat aluminium SiO₂ 5 x 3 cm kemudian dielusi dengan campuran diklorometan : metanol = 15 : 1. Analisis KCKT dilakukan dengan alat LCMS (Shimadzu) menggunakan kolom ODS C₁₈ (Shimadzu) 2 x 150 mm. Sistem pelarut yang digunakan adalah 20% asetonitril dalam air secara gradien menuju 100% asetonitril selama 50 menit.

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT menggunakan sel lestari T47D. Sel tersebut dikultur dalam medium RPMI 1640 (Sigma), *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (Gibco), fungison 0,5% (Gibco), dan penisilin-streptomisin 2% (Gibco).

Ekstrak kapang dibuat dengan dosis 1, 5, 25, 125 dan 625 µg/mL. Suspensi sel yang berjumlah 2 x 10⁴/100 µL dimasukkan ke dalam *microplate* 96 *well* dan diinkubasikan dalam inkubator CO₂ pada suhu 37°C dengan aliran CO₂ 5 mL/menit. Setelah 12 jam media dibuang dan diganti dengan 100 µL media yang mengandung ekstrak uji dengan dosis seperti di atas. Dalam pengujian ini digunakan 3 jenis kontrol yaitu kontrol sel, kontrol sampel, dan kontrol media. Mikroplat diinkubasikan kembali selama 24 jam dalam inkubator CO₂. Setelah 24 jam, media dibuang lagi dan ditambahkan 100 µL media yang sudah mengandung MTT (1 mL stok MTT diencerkan 10 kali dalam *Phospat Buffer Saline*/PBS). Mikroplat diinkubasikan kembali pada inkubator CO₂. Setelah 4 jam, ditambahkan 100 µL *sodium dedosil sulfat* (SDS) 10% untuk melarutkan kristal formazan yang terbentuk. Mikroplat diinkubasi kembali selama 12 jam pada suhu kamar lalu dibaca absorbansinya dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 570 nm.

Data absorbansi tiap sumuran digunakan untuk menghitung viabilitas sel T47D yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kontrol (tanpa perlakuan). Viabilitas sel T47D dihitung berdasarkan rumus:

$$(A-D) - (B-C)/(A-D) \times 100\%$$

Keterangan: A = absorbansi kontrol sel,
B = absorbansi sampel,
C = absorbansi kontrol sampel, dan
D = absorbansi kontrol media.

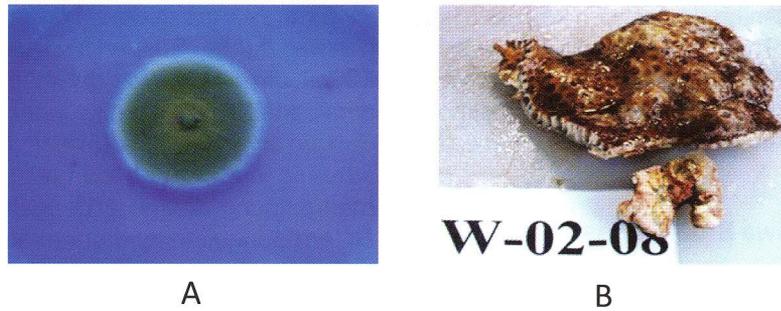
Nilai *inhibition concentration*₅₀ (IC₅₀) dihitung dengan analisis probit menggunakan program MINITAB versi 14,0.

HASIL DAN BAHASAN

Hasil sekuensing terhadap produk PCR yang dibandingkan dengan sekuens yang terdapat pada *NCBI GenBank database* dengan menggunakan algoritma BLAST memperlihatkan bahwa kapang MFW-01-08 memiliki kemiripan sebesar 99% dengan kapang *Aspergillus vesicolor* (nomor akses AB249015.1).

Strain kapang MFW-01-08 (Gambar 1A) diisolasi dari ascidia laut dengan kode sampel W-02-08 yang diambil dari Taman Nasional Laut Wakatobi pada tahun 2008. *Ascidia* W-02-08 diidentifikasi sebagai *Aplidium longitorax* oleh P2O LIPI (Gambar 1B).

Kultivasi kapang MFW-01-08 dilakukan dalam media cair SWS 1 L selama 5 minggu menggunakan labu kultur bervolume 3 L. Media SWS mengandung pati larut air (*soluble starch*) dan pepton soya. Pati terutama berperan sebagai sumber karbon, hidrogen dan oksigen sedangkan pepton sebagai sumber nitrogen. Karbon, hidrogen, dan oksigen merupakan



Gambar 1. Strain kapang MFW-01-08 (A) dan ascidia *Aplidium longithorax* (B).
Figure 1. Photograph of MFW-01-08 fungi strain (A) and *Aplidium longithorax* ascidia (B).



Gambar 2. Kapang laut MFW-01-08 berumur 3 minggu dalam media cair SWS.
Figure 2. Three weeks old MFW-01-08 marine fungi in SWS liquid medium.

penyusun utama senyawa metabolit sekunder yang juga sering mengandung nitrogen. Media kultivasi cair yang digunakan diharapkan dapat menyediakan nutrisi dan bahan dasar bagi kapang untuk mensintesis senyawa metabolit sekunder. Foto kapang MFW-01-08 umur 3 minggu yang dikultivasi dalam media cair SWS disajikan pada Gambar 2.

Ekstraksi senyawa bioaktif dari strain kapang MFW-01-08 dilakukan terhadap media kultur (*broth*) dan miselium. Selama kapang kultivasi, hasil metabolisme kapang banyak yang dilepas ke dalam media cair, termasuk metabolit sekunder yang dihasilkan. Senyawa metabolit sekunder ini kemudian diekstraksi dari media dengan etil asetat.

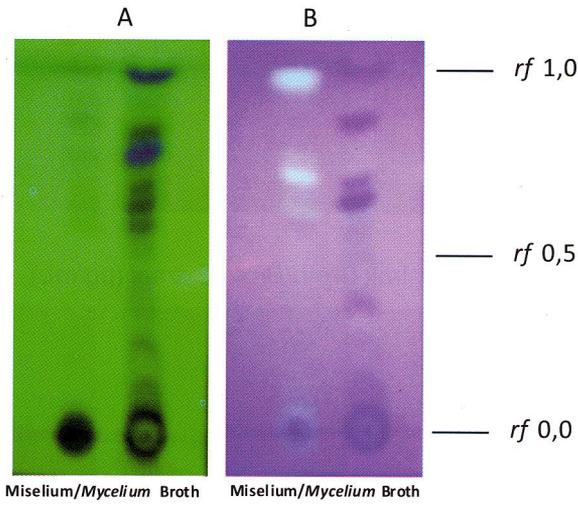
Berat ekstrak miselium dan ekstrak media kultur yang diperoleh berturut-turut sebesar 574,3 mg dan 54,6 mg. Ekstrak miselium lebih berat karena pada umumnya masih mengandung garam-garam yang berasal dari media. Garam-garam ini ikut terekstrak karena pelarut yang digunakan untuk mengekstrak adalah campuran diklorometan : metanol = 1 : 1. Adanya metanol dapat melarutkan garam-garam yang terdapat dalam media kultivasi.

Kapang dikenal sebagai mikroba yang mampu menghasilkan bermacam-macam senyawa metabolit sekunder. Hasil analisis KLT dan profil kromatogram KCKT memperlihatkan bahwa strain kapang MFW-

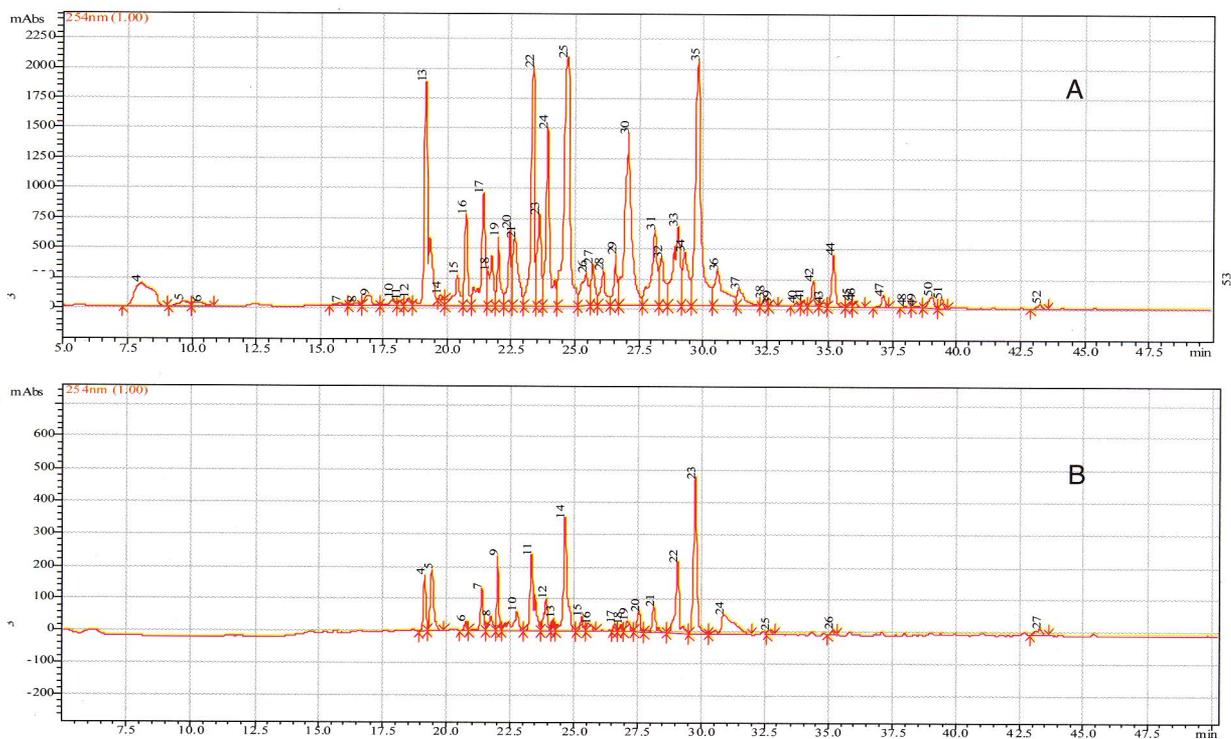
01-08 memiliki banyak senyawa mulai dari yang bersifat polar (r_f 0,2) sampai yang bersifat non polar (r_f 0,9) (Gambar 3). KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam SiO_2 dan larutan pengembang diklorometan : metanol = 15 : 1. Gambar 3A dideteksi pada lampu UV 254 nm dan 3B pada 366 nm.

Kromatogram KCKT memperlihatkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstra media kultur dan miselium sebagian besar terelusi pada menit ke-17 sampai menit ke-40. Puncak-puncak utama terdapat di antara menit ke-19 sampai menit ke-30 (Gambar 4). Banyaknya puncak yang terbentuk memperlihatkan bahwa terdapat beragam senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak MFW-01-08 terutama ekstrak media kultur.

Hasil uji sitotoksik terhadap sel T47D (sel kanker payudara) memperlihatkan bahwa ekstrak media kultur memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan ekstrak miselium. Efek paparan kedua ekstrak tersebut pada dosis 1, 5, 25, 125, dan 625 $\mu\text{g/mL}$ selama 24 jam terhadap morfologi sel T47D disajikan pada Gambar 5. Ekstrak media kultur pada dosis 25, 125, dan 625 $\mu\text{g/mL}$ dengan jelas menyebabkan perubahan morfologi sel T47D dibandingkan dengan dosis yang lebih rendah yaitu 1 dan 5 $\mu\text{g/mL}$.



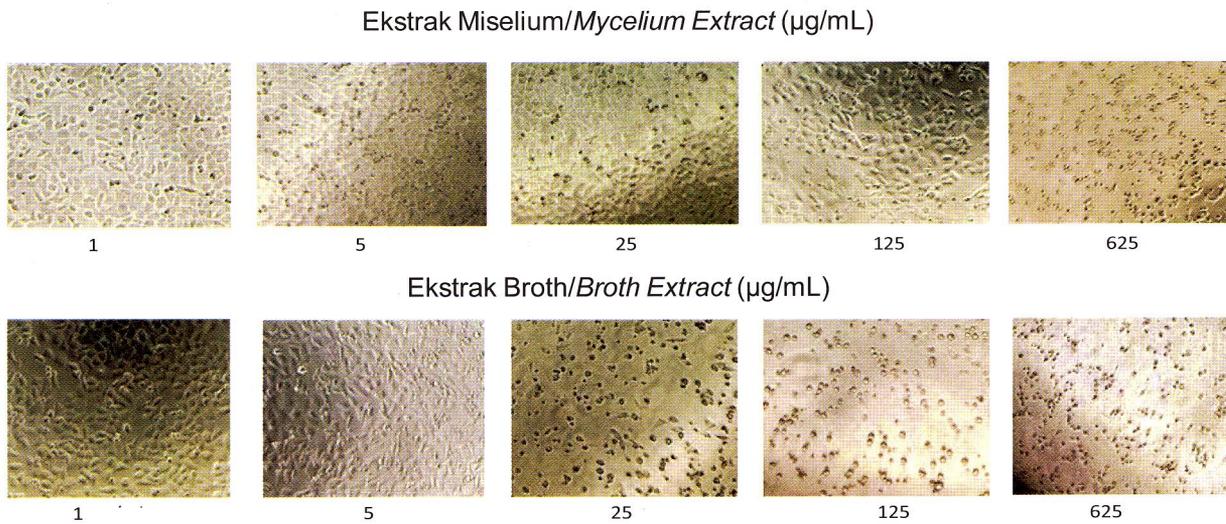
Gambar 3. Profil KLT kapang MFW-01-08 dari ekstrak miselium dan broth yang dideteksi pada panjang gelombang 254 nm (A) dan 366 nm (B).
 Figure 3. TLC profile of MFW-01-08 fungi from mycelium and broth extracts detected at 254 nm (A) and 366 nm wavelength (B).



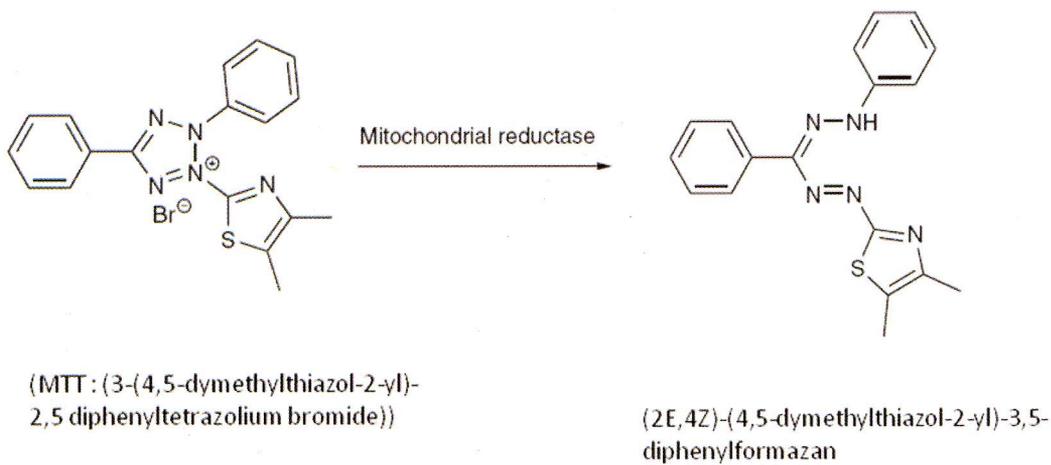
Gambar 4. Kromatogram KCKT kapang MFW-01-08 dari ekstrak broth (A) dan miselium (B) dengan detektor UV 254 nm.
 Figure 4. HPLC chromatogram of MFW-01-08 fungi from broth (A) and mycelium (B) extract with 254 nm UV detector.

Uji sitotoksik dalam metode ini didasarkan atas metode MTT. Sel-sel yang masih hidup akan memecah MTT yang berwarna biru menjadi kristal formazan berwarna kuning yang dapat larut oleh kerja enzim mitokondria reduktase (Ebada *et al.*, 2008) (Gambar 6).

Semakin banyak sel yang mati maka semakin sedikit kristal formazan yang terbentuk demikian pula sebaliknya. Dalam hal ini sel-sel yang mati karena perlakuan ekstrak kemungkinan besar tidak memiliki lagi enzim mitokondrial reduktase sehingga pada saat diberi MTT dalam mikroplat uji, MTT tidak mengalami



Gambar 5. Efek paparan ekstrak miselium dan broth terhadap morfologi sel T47D (perbesaran 100 x).
 Figure 5. Effect of mycelium and broth extract exposed to T47D cells morphology (magnification 100 x).



Gambar 6. Prinsip uji sitotoksik menggunakan metode MTT (Ebada *et al.*, 2008).
 Figure 6. Principal of cytotoxicity test using MTT method (Ebada *et al.*, 2008).

perubahan menjadi kristal formazan. Gambar kristal formazan yang terbentuk setelah diberi MTT disajikan pada Gambar 7.

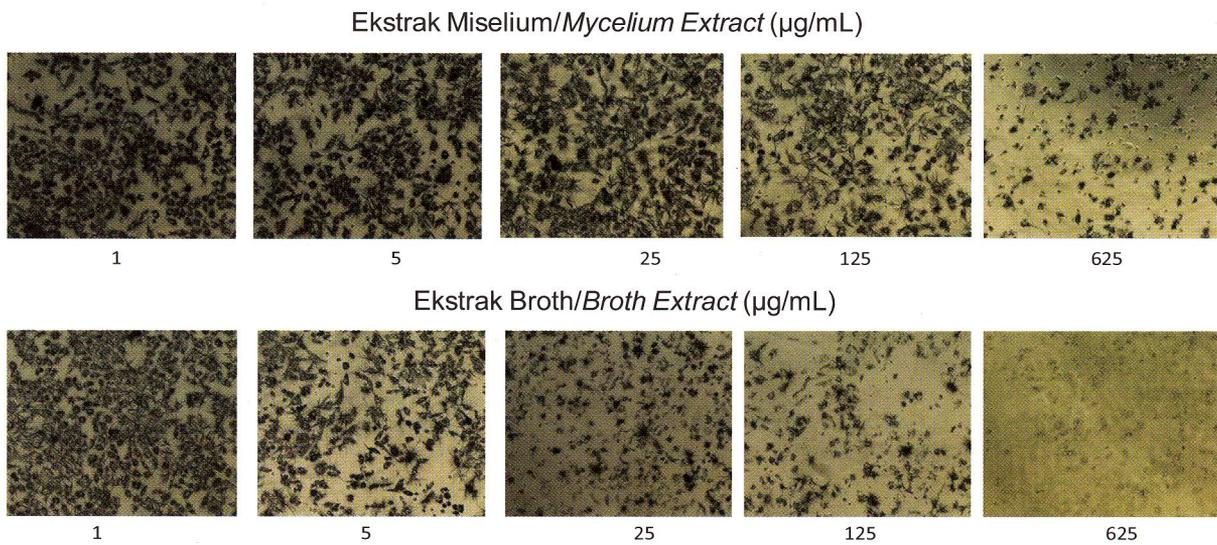
Dari Gambar 7 terlihat bahwa kristal formazan yang terbentuk pada perlakuan ekstrak media kultur lebih sedikit dibandingkan dengan perlakuan ekstrak miselium, terutama pada dosis 25, 125, dan 626 µg/mL. Berdasarkan hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak media kultur memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kuat dibandingkan ekstrak miselium.

Grafik kinetika inhibisi ekstrak terhadap viabilitas sel T47D disajikan pada Gambar 8. Ekstrak media kultur pada dosis 1 µg/mL terlihat memiliki inhibisi yang kecil terhadap proliferasi sel T47D, namun inhibisi terhadap proliferasi sel semakin meningkat dengan naiknya dosis. Pada dosis 625 µg/mL, sel T47D yang masih hidup mendekati angka 0% (Gambar

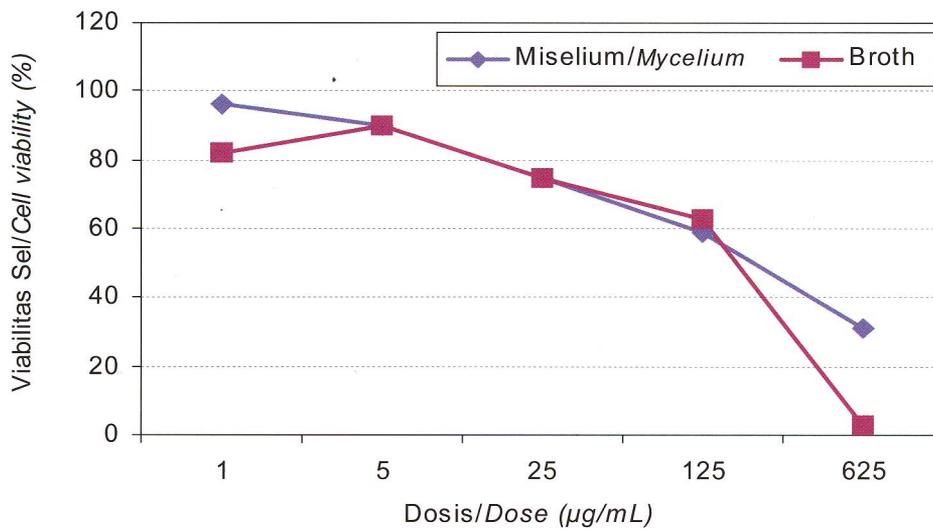
8). Hasil perhitungan IC_{50} memperlihatkan bahwa ekstrak media kultur memiliki nilai IC_{50} sebesar 92,6 µg/mL sedangkan ekstrak miselium sebesar 183,6 µg/mL.

Sebagian besar metabolit sekunder yang diproduksi oleh kapang berasal dari golongan *Aspergillus* dan *Penicillium*. Salah satu penjelasan tingginya jumlah senyawa metabolit sekunder dari kedua genera tersebut adalah karena keduanya memiliki toleransi yang kuat terhadap kadar garam, tumbuh dengan cepat dan relatif mudah diperoleh dari banyak substrat. Sebagai tambahan, banyak *Aspergillus* dan *Penicillium* diketahui menghasilkan ekstrak dengan variasi bioaktivitas yang luas (Bugni & Ireland, 2004).

Karena mikroorganisme laut dapat bertahan pada kondisi lingkungan yang ekstrim maka diperkirakan mikroorganisme tersebut memiliki kemampuan untuk



Gambar 7. Kristal formazan yang terbentuk setelah perlakuan dengan MTT (perbesaran 100 x).
 Figure 7. Formazan crystal formed after being treated with MTT (magnification 100 x).



Gambar 8. Viabilitas sel T47D setelah diberi perlakuan ekstrak miselium dan *broth* kapang MFW-01-08.
 Figure 8. Viability of T47D cell after being treated with mycelium and broth extract of MFW-01-08 fungi.

mensintesis senyawa bioaktif. Kondisi lingkungan yang ekstrim seperti salinitas yang tinggi, tekanan tinggi, variasi suhu, kompetisi dengan bakteri, virus dan kapang lain, diduga menyebabkan kapang laut mampu mengembangkan senyawa metabolit spesifik yang berbeda dengan kapang terestrial (Liberra & Lindequist, 1995 dalam Mabrouk *et al.*, 2008).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa kultivasi strain kapang MFW-01-08 dalam media cair SWS 1 L menghasilkan berat ekstrak kasar miselium dan media kultur masing-

masing sebesar 574,3 mg dan 54,6 mg. Ekstrak media kultur memiliki aktivitas sitotoksik medium terhadap sel kanker T47D dengan IC_{50} sebesar 92,6 µg/mL sebaliknya ekstrak miselium memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih rendah terhadap sel T47D dengan IC_{50} sebesar 183,6 µg/mL. Berdasarkan kromatogram KLT dan KCKT terlihat bahwa ekstrak media kultur memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang lebih beragam. Untuk dapat mengidentifikasi senyawa sitotoksik yang terdapat pada media kultur diperlukan jumlah ekstrak yang lebih banyak (minimal 1 gram), oleh karena itu untuk penelitian selanjutnya akan dilakukan kultivasi kapang laut MFB-01-09 pada skala 20–40 L.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Gintung Patantis atas bantuannya dalam mengidentifikasi kapang MFW-01-08 secara molekuler.

DAFTAR PUSTAKA

- Atschul, S.F., Madden, T.L., Schaffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., and Lipman, D.J. 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein of protein database search programs. *Nucleid. Acid. Res.* 25: 3389–3402.
- Bhakuni, D.S. and Rawat, D.S. 2005. *Bioactive Marine Natural Products*. Springer – Anamaya, New York – New Delhi. 396 pp.
- Bugni, T.S and Ireland, C.M. 2004. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. *Nat. Prod. Rep.* 21: 143–163.
- Colin, P.L. and Arneson, C. 1995. *Tropical Pacific Invertebrates*. A Field guide to the marine invertebrates occurring on tropical pacific coral reefs, sea grass beds and mangrove. Coral Reef Press, California. 296 pp.
- Chasanah, E., Wikanta, T., Amini, S., Nursid, M., Januar, H.I., Fajarningsih, N.D., Kapojos, M.M., dan Pratitis, A. 2008. Riset isolasi dan uji farmakologi senyawa bioaktif dari biota laut. *Laporan Teknis*. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jakarta. 51 pp.
- Chasanah, E., Januar, H.I., Irianto, H.E., Bourne, D., Liptrot, C., and Wright, A. 2009. Screening of anticancer activity of fungi derived from Indonesia marine sponges. *Journal of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, special edition in conjunction with World Ocean Conference 2009. p. 1–8.
- Ebada, S.E., Edrada, R.U., Lin, W., and Proksch, P. 2008. Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. *Nature Protocols*. 3(12): 1820–1831.
- Erdmann, A.M. 2004. *A Natural History Guide To Komodo National Park*. The natural conservancy, Indonesia coastal and marine program. 228 pp
- Kjer, J., Debbab, A., Aly, H.A., and Proksch, P. 2010. Methods for isolation of marine-derived endophytic fungi and their bioactive secondary products. *Nature Protocols*. 5(3): 479–490.
- Lai, X., Cao, L., Tan, H., Fang, S., Huang, Y., and Zhou, S. 2007. Fungal communities from methane hydrate-bearing deep-sea marine sediments in South China Sea. Short Communication. *ISME J.* 1: 756–762.
- Mabrouk, A.M., Kheiralla, Z.H., Hamed, E.R., Youssry, A.A., and Aty, A.E. 2008. Production of some biologically active secondary metabolites from marine-derived. *Malaysian J. Microbiol.* 4(1): 14–24.
- Namikoshi, M., Akano, K., Kobayashi, H., Koike, Y., Kitazawa, A., Rondonuwu, A.B., and Pratasik, S.B. 2002. Distribution of marine filamentous fungi associated with marine sponges in coral reefs of palau and Bunaken Island, Indonesia. *J. Tokyo Univ. Fish.* 88: 15–20.
- Pang, K. and Mitchell, J.I. 2005. Molecular approaches for assessing fungal diversity in marine substrata. *Botanica Marina*. 48: 332–347.
- Proksch, P., Edrada, R.A., and Ebel, R. 2002. Drugs from the seas—current status and microbiological implications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59: 125–134.
- Proksch, P., Ebel, R., Edrada, R.S., Schupp, P., Lin W.H., Sudarsono., Wray, V., and Steube, K. 2003. Detection of pharmacologically active natural products using ecology. Selected examples from indopacific marine invertebrates and sponge-derived fungi. *Pure Appl. Chem.* 75: 343–352
- Pratitis, A., Chasanah, E., and Nursid, M. 2009. Skrining aktivitas sitotoksik dan peredaman radikal bebas DPPH ekstrak marine fungi yang diisolasi dari spons asal perairan Wakatobi. *Prosiding Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. p. 1–9.
- Sashidhara, K.V., White, K.N., and Crews, P. 2009. A selective account of effective paradigms and significant outcomes in the discovery of inspirational marine natural products. *J. Nat. Prod.* 72: 588–603.
- Saleem, M., Ali, M.S, Hussain, S., Jabbar, A., Ashraf, M., and Lee, Y.S. 2007. Marine natural products of fungal origin. *Nat. Prod. Rep.* 24: 1142–1152.
- Zhang, Y., Mu, J., Feng, Y., Kang, Y., Zhang, J., Gu, P.J., Wang, Y., Ma, L.F., and Zhu, Y.H. 2009. Broad-spectrum antimicrobial epiphytic and endophytic fungi from marine organisms: Isolation, bioassay and taxonomy. *Marine Drugs*. 7: 97–112.