



Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Etil Asetat Jamur Simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*

(Optimal cultivation time and antibacterial activity from ethyl acetate extracts of symbiont fungi *Aspergillus unguis* (WR8) with *Haliclona fascigera*)

Agnes Rendowaty^{1,2}, Akmal Djamaan¹, & Dian Handayani^{1*}

¹Fakultas Farmasi Universitas Andalas

²Sekolah Tinggi Farmasi Bhakti Pertiwi Palembang

Keywords:

symbiont fungi;
Aspergillus unguis;
cultivation time;
antibacterial activity;
Haliclona fascigera.

Kata Kunci:

jamur simbion;
Aspergillus unguis;
waktu kultivasi;
aktivitas antibakteri;
Haliclona fascigera.

ABSTRACT: The optimal cultivation time of symbiont fungi *Aspergillus unguis* (WR8) with marine sponge *Haliclona fascigera* and antibacterial activity assay from the ethyl acetate extracts symbiont fungi *A. unguis* (WR8) have been determined. The fungi was cultivated on Sabaorad Dextrose Broth medium in both static condition and using shaker incubator at 120 rpm at 25-28°C. Optimal cultivation time was determined by the amount of dry biomass mycelium fungi per unit of time. Liquid medium was extracted with ethyl acetate and used for antibacterial activity assay using agar diffusion method against *Staphylococcus aureus*. The study showed that the optimal cultivation time of symbiont fungi *A. unguis* (WR8) in static condition was achieved on day 21 while the extract (5 % w/v) inhibited bacterial growth with an inhibition zone of 21 mm. Meanwhile, The optimal cultivation time in the shaker was achieved on day 14 and the inhibition zone of the extract was 11 mm. The study concludes that the optimal cultivation time for production of antibacterial compounds by symbiont fungi *A. unguis* (WR8) was obtained at 21 days in static condition.

ABSTRAK: Penelitian tentang penentuan waktu optimal pertumbuhan jamur simbion *Aspergillus unguis* (WR8) dan pengujian aktivitas antibakteri telah dilakukan. Kultivasi jamur dilakukan dengan menggunakan media Sabaorad Dextrose Broth (SDB) dalam keadaan statis dan di-shaker (120 rpm) pada suhu 25-28°C. Pertumbuhan jamur secara optimal ditentukan berdasarkan jumlah biomassa kering miselia jamur per satuan waktu. Media cair diekstraksi dengan pelarut etil asetat, ekstrak etil asetat selanjutnya digunakan untuk pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu optimal pertumbuhan jamur simbion tersebut dalam keadaan statis adalah pada hari ke-21 dan diameter hambat ekstrak (5 %b/v) adalah 21 mm. Sedangkan waktu optimal pertumbuhan jamur yang di shaker adalah pada hari ke-14 dan diameter hambat ekstrak sebesar 11 mm. Dapat disimpulkan waktu kultivasi optimal untuk menghasilkan senyawa antibakteri dari jamur *A. unguis* (WR8) adalah selama 21 hari secara statis menggunakan media cair.

Access this article

DOI: [10.29208/jsfk.2017.4.1.147](https://doi.org/10.29208/jsfk.2017.4.1.147)



PENDAHULUAN

Penemuan senyawa antibakteri dan pengembangan senyawa antibakteri sintetis, mempengaruhi terapi terhadap penyakit infeksi dan memperbaiki kualitas hidup manusia dan organisme lainnya. Meningkatnya kasus resistensi

terhadap antibiotika, mendorong para peneliti untuk mencari antibakteri baru [1]. Salah satu penghasil senyawa alami antibakteri baru adalah jamur, keanekaragaman spesies jamur menghasilkan banyak metabolit sekunder. Senyawa antimikroba dari jamur yang hidup dilingkungan yang khas seperti jamur endofit dari tumbuhan liar dan

*Corresponding Author: Dian Handayani

Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Kampus Limau Manih, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumbar 25163.
Email: dianh_17@yahoo.com

Article History:

Received: 18 May 2017

Accepted: 20 Oct 2017

Published: 30 Nov 2017

jamur laut meningkat jumlahnya saat ini. Alga, spon dan mangrove merupakan host terbanyak dari strain jamur laut yang menghasilkan senyawa antibakteri [2].

Metabolit sekunder yang diisolasi dari jamur simbiosis *Trichoderma* sp spon laut *Haliclona* sp adalah trichoderin A, A1, B dengan aktivitas aktif terhadap mikobakteri [3], senyawa antibakteri hirsutanol A, C dan ent-gloeosteretriol yang diisolasi dari jamur yang belum teridentifikasi [4]. Aktivitas antibakteri juga telah ditemukan dari spon *Haliclona fascigera*. Telah diisolasi 25 jamur simbiosis dan delapan ekstrak etil asetat jamur simbiosis yang diisolasi dari media cair SDB selama 4 minggu pada temperatur 25-27°C memperlihatkan aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans* [5].

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan Aulia (2015) dan Rasyid (2015) telah diisolasi 21 jamur simbiosis dari spon laut *H. fascigera* dan 17 ekstrak etil asetat isolat jamur mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), salah satu jamur yang mempunyai diameter daya hambat 22-26,6 mm adalah isolat jamur WR8. Hasil skrining sitotoksik ekstrak etil asetat jamur WR8 dengan metode BSLT diperoleh nilai LC50 1 ppm [6].

Variasi dalam lingkungan pertumbuhan jamur memiliki dampak yang signifikan pada kuantitas dan keragaman metabolit sekunder yang dihasilkan, optimasi kondisi tumbuh dapat meningkatkan produksi senyawa secara signifikan. Optimasi merupakan langkah awal kultivasi jamur dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder bioaktif [7]. Media pertumbuhan mempengaruhi jumlah biomassa kering jamur, dari enam media cair yang digunakan dalam kultivasi jamur *Verticillium lecanii* (zimm). Viegas, berat kering biomassa terbanyak diperoleh dari media Molasses Yeast Broth (MYB) yaitu 746 mg/100 mL selama 14 hari kultivasi [8].

Pada penelitian ini dilakukan penentuan waktu optimal pertumbuhan isolat jamur simbiosis WR8 pada media cair Sabaoraud Dextrose Broth (Merck, Jerman) dalam keadaan statis dan di shaker (120 rpm) pada suhu 25-28°C untuk menghasilkan senyawa antibakteri. Media SDB merupakan media sintetik yang umum digunakan untuk pertumbuhan jamur, mengandung sejumlah besar sumber karbohidrat, nitrogen, pH 5-6 dan temperatur pada 15-37°C [9].

Waktu optimal ditentukan dari berat kering miselia jamur (biomassa), dan uji aktivitas antibakteri dengan cara difusi agar. Isolat jamur simbiosis diidentifikasi urutan basa nukleotida berdasarkan gen 18S rRNA dengan Polimerase Chain Reaction (PCR).

METODE PENELITIAN

Jamur simbiosis *Aspergillus unguis* (WR8)

Isolat jamur *A. unguis* (WR8) dari spon laut *H. fascigera* yang diperoleh dari peneliti sebelumnya [6].

Peremajaan isolat jamur *A. unguis* (WR8)

Isolat jamur *A. unguis* WR8 yang disimpan pada suhu 4°C di inkubasi selama 24 jam pada suhu ruangan, kemudian satu ose jamur diinokulasikan pada agar miring yang berisi media Sabaoraud Dextrose Agar (Merck®, Jerman) + kloramfenikol (Sigma®). Selanjutnya diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25-28°C.

Penentuan waktu kultivasi optimal dengan cara statis

Pengumpulan Isolat jamur yang telah diremajakan diambil satu ose dan dipindahkan kedalam 50 mL media cair SDB steril dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25-28°C yang akan digunakan sebagai starter inoculum.

Starter inoculum jamur sebanyak 50 mL kemudian dicukupkan menjadi 250 mL dengan media SDB dan kemudian dikultivasi selama 28 hari dalam kondisi statis. Waktu optimal pertumbuhan jamur ditentukan berdasarkan jumlah biomassa kering miselia jamur pada hari ke-7, 12, 15, 19, 21 dan 28 hari kultivasi.

Penentuan waktu kultivasi isolat jamur dengan cara shaker

Isolat jamur yang telah diremajakan diambil satu ose dan dipindahkan kedalam 50 mL media cair SDB dan dihomogenkan. Kemudian diinkubasi selama 3-5 hari pada suhu 25-28°C dengan kecepatan 120 rpm yang akan digunakan sebagai starter inoculum.

Starter inoculum jamur sebanyak 50 mL kemudian dicukupkan menjadi 250 mL dengan media SDB dan kemudian dikultivasi dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari. Waktu optimal pertumbuhan jamur ditentukan berdasarkan jumlah biomassa kering miselia jamur pada hari ke-2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 hari selama kultivasi.

Pengukuran berat kering miselia jamur dari media cair

Miselial jamur dan media cair dipisahkan dengan kertas saring, miselia dicuci bersih dengan air suling steril, kemudian miselia dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C hingga didapatkan berat konstan.

Ekstraksi senyawa metabolit sekunder dari media kultivasi isolat jamur

Media kultur diekstraksi dengan pelarut etil asetat destilasi dengan perbandingan 1:1 dihomogenkan

kemudian maserasi selama 24 jam. Ekstrak etil asetat dipisahkan dari media kultur menggunakan corong pisah. Ekstrak organik yang di dapat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator (Buchi® Rotavor R-210) 40°C sehingga didapatkan ekstrak kental etil asetat.

Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri berdasarkan metode Kirby Bauer modifikasi [10], dimana suspensi bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 sebanyak 100 µl digoreskan secara merata pada permukaan media Nutrient Agar (Merck®) padat. Kemudian kertas cakram steril (Advantec®) yang telah ditetesi larutan ekstrak etil asetat (5 %b/v) diatas permukaan media NA. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Amati zona bening yang muncul setelah diinkubasi. Sebagai kontrol negatif digunakan Dimetilsulfoksida-DMSO (Merck®) dan sebagai kontrol positif digunakan antibiotika kloramfenikol 0,3 %b/v.

Identifikasi molekuler isolat jamur WR8

Identifikasi jamur dilakukan di Laboratorium Penelitian Bioteknologi, LIPI Cibinong. Isolat jamur dikulturkan di dalam medium cair (4 ml) dan diinkubasi shaker selama 72 jam. Kemudian ekstraksi DNA genom. Campuran reagen mix PCR menggunakan Kappa ready mix master kit for PCR dengan Primer 18F (5'-ATC TGG TTG ATC CTG CCA GT-3'), Primer 18R (5'-GAT CCT TCC GCA GGT TCA CC-3'). Hasil PCR dielektroforesis dalam 1 % gel agarose. Hasil data sekuens basa nukleotida dianalisis dengan data base BLAST NCBI.

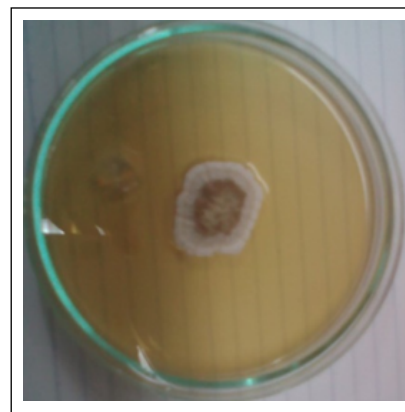
HASIL DAN DISKUSI

Secara makroskopik karakteristik koloni jamur *A. unguis* (WR8) didalam media SDA berwarna kuning kecoklatan dibagian tengah dan hijau gelap disekelilingnya dan pada bagian tepi luar berwarna putih.

Koloni *A. unguis* dalam media Czapek-zox suhu 25°C secara makroskopis berwarna kuning terang dibagian tengah dan hijau hingga hijau gelap disekelilingnya, koloni pada bagian tengah akan berubah menjadi berkerut setelah hari ke-13. Sedangkan didalam media MEA (Malt Extract Agar) miselia berwarna putih dan koloni berwarna hijau dan diameter 3-4 cm pada kondisi yang sama [11].

Berdasarkan kurva optimasi kultivasi pertumbuhan *A. unguis* selama 28 hari dalam kondisi statis terdiri dari fase log (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian.

Pada penelitian ini, pertumbuhan jamur tidak terlihat adanya fase lag, hal ini disebabkan penggunaan inokulum yang berumur 3-5 hari, dimana inokulum yang baik telah



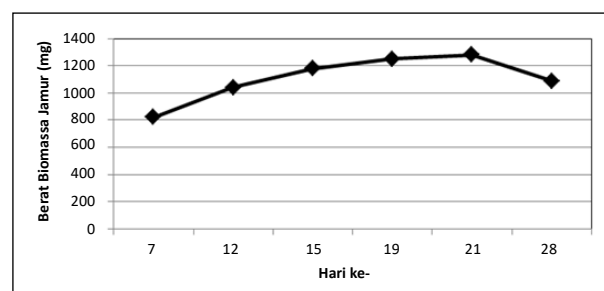
Gambar 1. Jamur simbiosis *Aspergillus unguis* pada media SDA®

memasuki fase log, sehingga dapat mempersingkat fase lag. Fase lag merupakan fase pertumbuhan jamur beradaptasi dengan kondisi lingkungannya.

Fase log pertumbuhan jamur terjadi pada hari ke-7 hingga hari ke-14, pada fase log terjadi peningkatan jumlah biomassa. Fase stasioner terjadi pada hari ke-15 hingga ke-21 dimana pertumbuhan jamur relatif tetap, pertumbuhan jamur seimbang dengan jumlah sel yang mati. Pada fase stasioner meskipun karbon sebagai sumber energi atau nutrisi yang penting telah habis digunakan, tidak berarti pertumbuhan berhenti, hal ini dikarenakan terjadinya lisis pada sel yang mati dan digunakan sebagai sumber nutrisi. Selain itu adanya produk buangan yang dapat menghambat pertumbuhan sel atau toksik bagi sel [12].

Kultur memasuki fase terakhir dari pertumbuhan mikroba, yaitu fase kematian setelah hari ke-21 dimana terlihat penurunan jumlah biomassa. Waktu kultivasi optimal pertumbuhan *A. unguis* pada media SDB terjadi pada hari ke-21. Selama kultivasi statis, miselia *A. unguis* berwarna putih kekuningan, miselia jamur terlihat hanya pada permukaan media cair dan media berwarna kuning kecoklatan.

Berdasarkan kurva optimasi kultivasi selama 14 hari



Gambar 2. Kurva pertumbuhan jamur *A. unguis* pada media cair (statis)

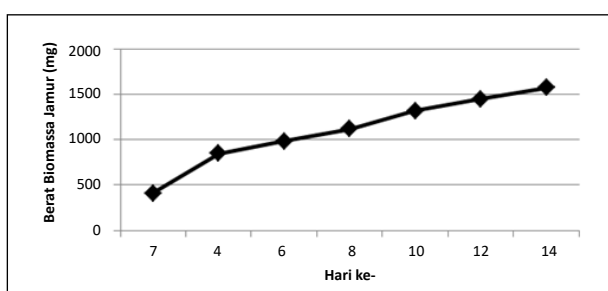


Gambar 3. Jamur *A. unguis* di dalam media SDB dalam kondisi statis

dengan kecepatan 120 rpm, terlihat hanya fase log dari hari ke-2 hingga hari ke-14.

Pada kultivasi pertumbuhan jamur dengan cara shaker adanya pengadukan atau agitasi sebesar 120 rpm sehingga pertumbuhan jamur dapat meningkat dengan cepat. Pada hari ke-12 jumlah biomass kering jamur dengan shaker adalah 1,45 g, sedangkan kondisi statis lebih kecil yaitu 1,04 g. Adanya agitasi akan mempengaruhi pencampuran nutrient, massa dan penghantaran panas, perubahan morfologi jamur, menyebabkan variasi dalam pertumbuhan dan pembentukan produk metabolisme serta kerusakan struktur sel [13]. Pertumbuhan *A. unguis* yang dikultivasi dengan kecepatan 120 rpm selama 14 hari memperlihatkan miselia jamur berbentuk helaian halus berwarna putih kekuningan dan tersebar didalam media.

Dari hasil pengujian aktivitas antibakteri diketahui bahwa diameter hambat ekstrak pada tertinggi pada kultivasi kondisi statis hari ke-21 sebesar 21 mm. Sedangkan aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat pada keadaan shaker diameter hambatnya lebih kecil dibandingkan keadaan statis, dimana pada hari ke-14 mempunyai diameter hambat 11 mm (Gambar 6).



Gambar 4. Kurva optimasi pertumbuhan *A.unguis* dengan kecepatan 120 rpm

Pada fase log hingga fase stasioner terjadi peningkatan diameter daya hambat ekstrak terhadap bakteri, dikarenakan pada fase log terjadi peningkatan pertumbuhan dan adanya hasil-hasil metabolisme jamur yang disekresikan kedalam media cair.

Pada fase stasioner merupakan fase dimana terjadi penumpukan hasil metabolisme sekunder, hal ini terlihat pada hari ke-21 (statis) dengan diameter hambat terhadap bakteri yang paling besar dibandingkan pada hari yang lainnya. Hal ini sesuai dengan pernyataan Ruiz (2010), Metabolit sekunder mikroba pada media cair dihasilkan pada fase akhir pertumbuhan (idiophase) fase stasioner [14,15]. Produksi emstrin (epipolythidioxopiperazine) potensial sebagai senyawa antikanker, yang dihasilkan oleh jamur laut *Emericella nidulans*. Konsentrasi tertinggi

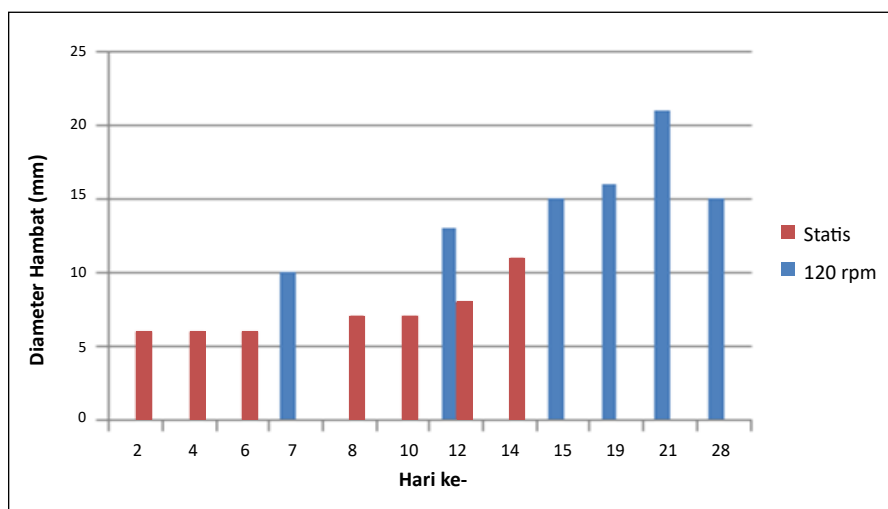


Gambar 5. Jamur *A. unguis* di dalam media cair di shaker 120 rpm

emestrin pada media malt extract broth (MEB) diperoleh pada kondisi statis dengan waktu kultivasi selama satu minggu, sedangkan biomass tertinggi pada pengadukan 100 rpm [13].

Dari uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat terlihat peningkatan diameter daya hambat sebanding dengan peningkatan pertumbuhan jamur pada fase log dan fase stasioner. Pada hari ke-28 yang memasuki fase kematian pertumbuhan jamur, diameter zona daya hambat mengalami penurunan yaitu 15 mm, hal ini dapat disebabkan oleh keterbatasan jumlah nutrisi didalam media sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan didalam media digunakan sebagai nutrisi, dan dapat mempengaruhi aktivitas daya hambat terhadap bakteri.

Analisis genetik isolat jamur WR8 berdasarkan urutan



Gambar 6. Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat dengan cara kultivasi statis dan shaker (120 rpm)

basa gen 18S rRNA di Laboratorium Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong, dengan kode LPB_047 dari data contig urutan DNA dalam pencari BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) dari NCBI (National Center for Biotechnology Information) identifikasikan sebagai jamur *Aspergillus unguis* strain F3000054.

Identifikasi molekular diperlukan untuk mengetahui kepastian spesies ataupun hubungan kekerabatan jamur *A. unguis* dengan spesies lainnya yang memiliki urutan DNA yang sama.

Metabolit sekunder yang diisolasi dari jamur *A. unguis* pertama kali diisolasi oleh Stodola (1971) yaitu unguinol dan norindulin. Hingga tahun 2016 senyawa bioaktif yang telah diisolasi adalah 2-chlorounguinol, nidulin, 3-ethyl-5,7-dihydroxy-3,6-dimethylphthalide [16], emeguisin A-C [17], folipastatin [18], guisinol [19], unguisin A-D [20], aspergillusidones A-C [21], aspergillusidones D-F, aspergillusphenol A-B, 2,4-chlorounguinol [22].

KESIMPULAN

Waktu kultivasi optimal jamur *A. unguis* spon laut *Haliclona fascigera* untuk menghasilkan senyawa antibakteri adalah dalam kondisi statis selama 21 hari dengan diameter hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebesar 21 mm. Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan isolasi senyawa antibakteri dan elucidasi struktur metabolit dari jamur simbiosis *A. unguis* pada media beras selama waktu kultivasi optimal 21 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini terlaksana atas biaya Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, dalam proyek “Penelitian Kerjasama Luar Negeri dan Publikasi Internasional (KLN)”, nomor kontrak: 07/H.16/KLN/LPPM 2016.

REFERENSI

- [1] Mariottini, G.L., & Grice, I. D. (2016). Antimicrobials from Cnidarians: A New Perspective for Anti-Infective Therapy?, *Marine Drugs*, 14(48), 1–19.
- [2] Xu, L., Meng, W., Cao, C., Wang, J., Shan, W., & Wang, Q. (2015). Antibacterial and Antifungal Compounds from Marine Fungi-Review. *Marine Drugs*, 13(6), 3479–3513.
- [3] Pruksakorn, P., Arai, M., Kotoku, N., Vilchèze, C., Baughn, A. D., Moodley, P., ...Kobayashi, M. (2010). Trichoderma, novel aminolipopeptides from a marine sponge-derived *Trichoderma* sp., are active against dormant mycobacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 20(12), 3658–3663.
- [4] Wang, G. Y. S., Abrell, L. M., Avelar, A., Borgeson, B. M., & Crews, P. (1998). New Hirsutane Based Sesquiterpenes from Salt Water Cultures of a Marine Sponge-Derived Fungus and the Terrestrial Fungus. *Tetrahedron*, 54(26), 7335–7342.
- [5] Handayani, D., Ahdinur, R. F., & Rustini, R. (2015). Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi from Marine Sponge *Haliclona fascigera*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(10), 154–156.
- [6] Rasyid, W. (2015). Penapisan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etil Asetat Jamur Simbiosis dari Spon Laut *Haliclona fascigera* dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas.
- [7] Vandermolen, K. M., Raja, H. A., El-Elmat, T., & Oberlies, N. H. (2013). Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program. *AMB Express*, A Springer Open Journal, 3(71), 1–7.

- [8] Derakhshan, A., Rabindra, R. J., Ramanujam, B., & Rahimi, M. Evaluation of Different Media and Methods of Cultivation Fungi, *Verticillium lecanii* (zimm.) Viegas. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(11), 1506–1509.
- [9] Basu, S., Bose, C., Ojha, N., Das, N., Pal, M., & Khurana, S. (2015). Evolution of Bacterial and Fungal Growth Media. *Bioinformation*, 11(4), 182–184.
- [10] Tan, Y. P., & Chan, E. W. C. (2014). Antioxidant, antityrosinase and Antibacterial Properties of Fresh and Processed Leaves of *Anacardium occidentale* and *Piper betle*. *Food Bioscience*, 6(6), 17–23.
- [11] Eltem, R., Askun, T., Sarigul, N., Taskin, E. O., & Efendler, H. (2004). Colonial and Morphological Characteristics of Some *Aspergillus* Fr:Fr. Species Isolated from Vineyards in Manisa and Azmir Provinces (turkey). *Turkish Journal of Botany*, 28(3), 287–298.
- [12] Maier, R. M., (2000). Bacterial Growth, In *Review of Basic Microbiological Concepts* (pp 37–55). Academic Press.
- [13] Nursid, M., Manulang, M., Samiadji, J., & Maraskuranto, E. (2015). Effect of Agitation Speed and Cultivation Time on The Production of The Emestrin Produced by *Emericella nidulans* Marine Fungal. *Squalen Buletinl of Marine & Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 10(2), 73–78.
- [14] Ruiz, B., Chavez, A., Forero, A., Garcia-Huante, Y., Romero, A., Sanchez, M., Rocha, D., ... & Langley, E. (2010). Production of Microbial Secondary Metabolites: Regulation by the carbon source. *Critical Review in Microbiology*, 36(2), 146–167.
- [15] Gonzalez, J. B., Fernandez, F. J., & Tomasini, A. (2003). Microbial Secondary Metabolites Production and Strain Improvement. *Indian Jurnal of Biotechnology*, 2(3), 322–333.
- [16] Kawahara, N., Nakajima, S., Satoh, Y., Yamazaki, M., & Ken-Ichi Kawai. (1988). Studies on Fungal Products. XVIII. Isolation and Structure of a New Fungal Depsidone Relted to Nidulin and a New Phthalide from *Emericella unguis*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(6), 1970–1975.
- [17] Kawahara, N., Nozawa, K., Nakajima, S., Kawai, K., & Yamazaki, M. (1988). Isolation and Structures of Novel Fungal Depsidones Emeguisins A,B, and C, from *Emericella unguis*. *Journal of Chemical Society Perkin Trans*, 1(9), 2611–2614.
- [18] Hamano, K., Kinoshita-Okami, M., Hemmi, A., Sato, A., Hisamoto, M., Matsuda, K., ... Kazuhiko Tanzawa. (1992). Folipasatin, A New Depsidone Compound from *Aspergillus unguis* as an inhibitor of Phispholipase A2. *Jurnal Antibiotics*, 45(8), 1195–1201.
- [19] Nielsen, J., Nielsen, P. H., & Frisvad, J. C. (1999). Fungal depside, guisinol, from a marine derived strain of *Emericella unguis*. *Phytochemistry*, 50(2), 263–265.
- [20] Malmstrøm, J., Ryager, A., Anthoni, U., & Nielsen, P. H. (2002). Unguisin C, a GABA-containing cyclic peptide from the fungus *Emericella unguis*. *Phytochemistry*, 60(8), 869–872.
- [21] Sureram, S., Kesornpun, C., Mahidol, C., Ruchirawat, S., & Kittakoo, P. (2013). Directed biosynthesis through biohalogenation of secondary metabolites of the marine-derived fungus *Aspergillus unguis*. *RSC Advances*, 3(6), 1781–1788.
- [22] Sureram, S., Wijakrutta, S., Ngamrojanavanich, N., Mahidol, C., Ruchirawat, S., & Kittakoo, P. (2012). Depsidones, Aromatase Inhibitors and Radical Scavenging Agents from the Marine-Derived Fungus *Aspergillus unguis* CRI282-03. *Planta Medica*, 78(6), 582–588.



Copyright © 2017 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)