

***IN VITRO* PROPAGATION AND PHARMACEUTICAL EVALUATION OF
KAPPAPHYCUS ALVAREZII AND *EUCHEUMA DENTICULATUM*, TWO
COMMERCIALY IMPORTANT SEAWEEDS OF SABAH**

WILSON YONG THAU LYM
KOD PROJEK: FRG0201-SG-1/2010
01/04/2010 – 31/03/2012

INSTITUT PENYELIDIKAN BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

SINOPSIS

***IN VITRO* PROPAGATION AND PHARMACEUTICAL EVALUATION OF *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* AND *EUCHEUMA DENTICULATUM*, TWO COMMERCIALY IMPORTANT SEAWEEDS OF SABAH**

Di Sabah, masalah yang sering dikaitkan dengan penanaman rumput laut secara konvensional adalah terutamanya tapak semaian yang sesuai, variasi musim dan serangan penyakit. Teknik kultur tisu secara *in vitro* dapat mengatasi masalah yang kini dihadapi oleh industri rumput laut tempatan dan memudahkan aktiviti propagasi genotip rumput laut yang mempunyai nilai komersial. Penyelidikan telah dilakukan untuk mengkaji keadaan yang paling sesuai untuk mikropropagasi *Kappaphycus alvarezii*. Media kultur, saiz eksplan, kaedah pengudaraan, dan iluminasi cahaya telah dikenal pasti sebagai faktor yang mempengaruhi tumbesaran *Kappaphycus alvarezii*. Keadaan optimum untuk pengkulturan rumput laut adalah dengan saiz eksplan awal antara 0.5 hingga 1.0 % w/v, media yang diperkayakan dengan PES dan ditambah dengan 2.5 g/l BAP dan 1.0 g/l IAA, intensiti cahaya dengan 6,000 lux, pengudaraan berterusan dan suhu di antara 24 hingga 27 °C. Untuk mencapai pengeluaran benih rumput laut secara besar-besaran, satu fotobioreaktor pengudaraan berangkat telah dibina untuk menyediakan keadaan optimum kepada kultur rumput laut. Kadar tumbesaran di dalam fotobioreaktor (6.0 %/hari) didapati lebih tinggi daripada kadar tumbesaran di dalam kelalang kon (4.2 %/hari) dan penanaman di tapak semaian laut (5.5 %/hari). Satu kajian melibatkan profil ekspresi protein antara rumput laut yang ditanam di laut dengan rumput laut yang dikultur secara klonal mendapati bahawa peptida yang pendek dengan berat molekul antara 5-10 kDA telah ditemui di rumput laut yang ditanam semula jadi tetapi kehilangan pada 12 minggu yang pertama bagi rumput laut yang dikultur di makmal. Peptida ini telah dikenalpasti sebagai Lectin dengan kaedah MALDI-TOF dan kemunculan peptida ini selepas minggu ke-12 dalam kultur mencadangkan bahawa propagul berkenaan mencapai peringkat sesuai untuk dipindahkan ke tapak semaian semula jadi setelah memperolehi sistem pertahanan untuk mengadaptasi keadaan semula jadi. Maka dengan itu Lectin boleh diaplikasikan sebagai biopenanda untuk mengawasi kualiti kultur rumput laut *in vitro* and memberi manfaat kepada industri perladangan rumput

laut. Selain itu, kajian kesusasteraan juga menunjukkan bahawa rumpai laut semula jadi adalah sumber komponen bioaktif yang sangat baik dengan aktiviti antioksidan, antimikrobial dan antitumor. Dalam kajian ini, ekstrak metanol 90%, aseton 70% dan akueus daripada *Kappaphycus alvarezii* (stren Buaya, Giant dan Brown) dan *Kappaphycus striatum* telah digunakan untuk merencat pertumbuhan garisan sel HeLa. Cerakin MTS telah dijalankan untuk mengkaji pertumbuhan sel HeLa dalam kehadiran pelbagai ekstrak rumpai laut. Keputusan menunjukkan bahawa ekstrak yang paling berkesan untuk merencat pertumbuhan sel adalah 500 µg/ml ekstrak akueus daripada *K. striatum* diikuti oleh 500 µg/ml ekstrak metanol daripada spesies yang sama, dengan perencatan pertumbuhan sebanyak 53.52% dan 43.71% masing-masing. Kebanyakan ekstrak metanol daripada rumpai laut *Kappaphycus* telah menunjukkan perencatan pertumbuhan positif kepada garisan sel HeLa berbanding dengan ekstrak aseton dan akueus. Kajian lanjutan adalah dicadangkan untuk mengenal pasti dan mempurifikasikan komponen antitumor yang spesifik untuk pembangunan terapi kanser.

SYNOPSIS

***IN VITRO* PROPAGATION AND PHARMACEUTICAL EVALUATION OF *KAPPAPHYCUS ALVAREZII* AND *EUCHEUMA DENTICULATUM*, TWO COMMERCIALY IMPORTANT SEAWEEDS OF SABAH**

In Sabah, the problems associated with using conventional methods to cultivate seaweeds are mainly suitable sites for farming, seasonal variations and disease infestations. *In vitro* tissue culture techniques can solve the problems currently faced by the local seaweed industry and facilitate the propagation of commercially important genotypes. This research was carried out to optimize the suitable conditions for the micropropagation of *Kappaphycus alvarezii*. Culture media, explants size, aeration activity and light illuminance were found to be the critical factors that affect the growth of *Kappaphycus alvarezii*. The optimum conditions for culturing seaweeds were found to be initial explants of 0.5 to 1.0 %w/v, 50 % PES media enrichment and supplemented with 2.5 g/l BAP and 1.0 g/l IAA, light intensity of 6,000 lux, continuous aeration and temperature of 24 to 27 °C. In order to achieve mass cultivation of seedlings, a customized airlift photobioreactor was constructed to provide the optimal culture conditions to the seaweed cultivation. The daily growth rate of cultures in the photobioreactor (6.0 %/day) was found to be higher than the growth rate obtained from the culturing flask (4.26 %/day) and the cultivation in sea (5.5 %/day). A study involving the profiling of protein expression between sea cultivated seaweed and clonally propagated seaweed revealed that short peptides with a molecular mass of 5-10 kDa were produced in significant amounts in naturally cultivated seaweeds but the production was stopped after first 12-week of laboratory culture. These peptides were revealed to be in the class of Lectin by MALDI-TOF method and the reappearance of these peptides after 12 weeks of cultivation may indicate that the propagules are ready to be transferred to the natural environment as they possess defence systems for adaptation to the wild. Thus, Lectins can be applied as a biomarker to monitor the quality of seaweed cultures *in vitro* and this biomarker can be highly beneficial to the seaweed farming industry. Besides, review of the current literatures also indicated that natural seaweeds are an excellent source of bioactive compounds which possess antioxidant, antimicrobial and antitumor

activities. In the present study, 90% methanolic, 70% acetonic and aqueous extracts from *Kappaphycus alvarezii* (strain Crocodile, Giant and Brown) and *Kappaphycus striatum* were used to inhibit the growth of HeLa cell lines. MTS assay was carried out to determine the proliferation of HeLa cells in the presence of various seaweed extracts. Results indicated that the most effective extract to inhibit cell growth was found to be 500 µg/ml of aqueous extract of *K. striatum* followed by 500 µg/ml of methanolic extract of same species, with 53.52% and 43.71% of growth inhibition, respectively. Most of the methanolic extracts from *Kappaphycus* seaweeds have shown positive growth inhibition to the HeLa cell lines as compared to acetonic and aqueous extracts. Further studies are suggested to identify and purify the specific anti-tumoral compounds for the development of cancer therapy.