

SKRINING BIOAKTIVITAS EKSTRAK KASAR DARI INVERTEBRATA LAUT

Dr. Dian Handayani, Apt.
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, 8 halaman
Penelitian Doktor Muda 2000

ABSTRAK

Telah diteliti bioaktivitas sejumlah ekstrak kasar dari invertebrata laut yang terdapat di Perairan Pantai Padang, Sumatera Barat. Pengujian bioaktivitas dilakukan dengan menggunakan dua metoda, metoda difusi agar untuk menentukan aktivitas antibiotika dan metoda Brine Shrimp untuk menentukan aktivitas toksisitas. Dari 35 jenis invertebrata laut yang diteliti bioaktivitasnya, sepon laut *Axinella carteri*, *Nestospongia exigua*, *Aaptos* sp. dan *Dysidea herbacea* menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli* terkuat, dengan konsentrasi ekstrak 250 µg per cakram. Ekstrak kasar dengan aktivitas toksisitas terkuat ditunjukkan oleh sepon laut *Axinella carteri*, *Nestospongia exigua* dan *Aaptos* sp. dengan $ED_{50} < 5 \mu\text{g/ml}$.

PENDAHULUAN

Hampir 70% permukaan bumi kita ditutupi oleh laut. Ruang lingkup laut memiliki keanekaragaman organisme yang sangat mengagumkan. Berapa jumlah jenis organisme laut tersebut pada saat ini, sayangnya belum dapat dipastikan angkanya. Kesulitan utama dalam mengidentifikasinya terutama terhadap organisme laut yang hidup ditempat yang sangat dalam. Sedangkan jumlah invertebrata laut sendiri diperkirakan sedikitnya mencapai 200.000 jenis, jika dibandingkan dengan jenis tumbuhan tingkat tinggi yang jumlahnya berkisar 300.000 hingga 350.000 jenis. Sebaliknya jumlah jenis tumbuhan laut sendiri relatif kecil berkisar 20.000 jenis. Hal ini disebabkan karena keterbatasannya dalam memperoleh sinar matahari (2).

Sejak zaman dahulu organisme laut telah dimanfaatkan manusia terutama terbatas sebagai bahan makanan, seperti agar-agar. Sebaliknya tumbuh-tumbuhan atas dasar kandungan senyawa metabolit primer dan sekunder sudah sejak lama dikenal kegunaannya untuk berbagai macam tujuan, sebagai bahan makanan, minyak wangi, pigment, insektisida dan obat-obatan (6). Dalam perjalanan sejarah, tumbuh-tumbuhan merupakan salah satu penghasil utama senyawa alam yang berkhasiat secara medisinal. Saat ini sekitar 30.000 jenis senyawa metabolit sekunder berasal dari tumbuhan. Sekitar 25% dari seluruh perdagangan obat-obatan adalah obat yang berasal dari tumbuhan, 12% lainnya berasal dari mikroba dan sisanya merupakan obat-obatan yang berasal dari senyawa kimia sintetis (2).

Dalam upaya pencarian senyawa kimia - sebagai bahan obat-obatan baru yang dibutuhkan dalam pengembangan sintesa obat, terutama dalam menanggulangi penyakit-penyakit yang

hingga kini belum ditemukan obatnya seperti AIDS dan kanker, penelitian terhadap senyawa metabolit sekunder yang berasal dari organisme laut akhir-akhir ini semakin menjadi pusat perhatian para ahli. Hal ini disebabkan karena kemampuan organisme laut tersebut untuk memproduksi senyawa kimia, dimana bentuk strukturnya sangat beraneka ragam, jauh berbeda dengan struktur senyawa kimia yang dihasilkan tumbuh-tumbuhan dan menunjukkan bioaktivitas yang sangat menarik. Atas dasar hal diatas, semenjak 10 hingga 15 tahun yang lalu organisme laut tersebut telah banyak diisolasi dan menghasilkan senyawa-senyawa kimia baru dengan bioaktivitas yang menarik. Langkah selanjutnya seperti yang dilakukan pada senyawa obat yang berasal dari tumbuhan adalah pengembangan senyawa-senyawa dengan bioaktivitas terbaik melalui tahap-tahap pengujian klinis yang panjang hingga akhirnya diupayakan memproduksinya dengan cara sintesa (7, 8).

Bertitik tolak dari pandangan diatas, terutama dalam upaya pencarian senyawa obat baru dari laut maka perlu dilakukan penelitian pendahuluan terhadap kandungan senyawa bioaktiv dari organisme laut.

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Penelitian ini memiliki dua tujuan pokok: 1) Mengidentifikasi organisme laut (dalam penelitian ini dibatasi khusus terhadap invertebrata laut) dan kemudian untuk jangka panjang dapat dikembangkan sebagai langkah awal pembentukan koleksi invertebrata laut di Universitas Andalas. 2) Skrining bioaktivitas terhadap semua invertebrata yang terkoleksi yaitu skrining terhadap aktivitas toksisitas dengan metoda Brine Shrimp dan aktivitas antibiotika.

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah adanya kesinambungan terhadap penelitian berikutnya, sehingga hasilnya diharapkan ditemukannya senyawa-senyawa obat baru, yang dapat membantu memecahkan persoalan salah satu aspek pembangunan dibidang kesehatan serta mengurangi ketergantungan kita terhadap import bahan baku obat dari luar negeri.

Koleksi invertebrata laut di Universitas Andalas akan dapat menarik banyak manfaat, antara lain untuk mengenal, menginventaris sekaligus menjaga kekayaan alam Indonesia, dalam hal ini dimulai dari daerah Sumatra Barat.

METODE PENELITIAN

a. Rancangan Penelitian

1. Pengambilan sampel ke lapangan
2. Pengerjaan di laboratorium
 - Identifikasi sampel
 - Ekstraksi dan fraksinasi
 - Pengujian bioaktivitas

b. Prosedur penelitian

1. Pengambilan sampel ke lapangan
Sampel yang berupa invertebrata laut diambil langsung dari perairan pantai Sumatra Barat. Setiap sampel diberi nomor dan segera dimasukkan kedalam wadah yang berisi metanol.
2. Pengerjaan di laboratorium
 - Ekstraksi sampel dengan pelarut organik
Setiap sampel diblender atau dicincang sebanyak 100 g, dimaserasi dengan metanol hingga tersari sempurna. Sari metanol kemudian dipekatkan hingga kering dan ditimbang. Ekstrak metanol tersebut selanjutnya difraksinasi

dengan pelarut etil asetat dan butanol hingga tersari sempurna dan kemudian masing-masing dipekatkan hingga kering dan ditimbang. Fraksi kering etilasetat dan butanol tersebut merupakan bahan dasar dalam penentuan bioaktivitas.

- Pengujian aktivitas toksisitas (5).

Setiap fraksi etil setat dan butanol ditimbang 5 mg dan ditentukan aktivitas toksisitasnya dengan metoda Brine Shrimp menggunakan larva udang *Artemia salina*.

- Pengujian aktivitas antibiotika

Pengujian aktivitas antibiotika masing-masing fraksi dilakukan terhadap tiga jenis bakteri; *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, (gram positif) dan *Escherichia coli* (gram negatif). Pengujian dilakukan dengan metoda agar difusi atau cakram. Adanya aktivitas antibiotika dinyatakan dengan daerah hambatan. Semakin besar daerah hambatan semakin besar kekuatan antibiotika yang dimiliki fraksi yang bersangkutan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 35 jenis invertebrata laut yang terkoleksi, secara terpisah dimaserasi dengan metanol hingga tersari sempurna. Maserat yang terkumpul kemudian dipekatkan dan ditimbang beratnya. Tiap ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya dilarutkan dalam sejumlah aquades kemudian difraksinasi beberapa kali dengan etilasetat dan butanol. Fraksi etilasetat dan butanol yang terkumpul kemudian dipekatkan dan ditimbang beratnya. Fraksi kering etil asetat dan butanol tersebut merupakan bahan dasar yang digunakan dalam penentuan bioaktivitas.

Pengujian Aktivitas Toksisitas

Pengujian aktivitas toksisitas dilakukan dengan metoda Brine Shrimp menggunakan larva udang *Artemia salina*. Sampel-sampel dengan kode DH 19E, DH12B, DH 22B dan DH 27B merupakan sampel yang memiliki aktivitas toksisitas yang nyata dibandingkan sampel lainnya. Nilai ED₅₀ sampel-sampel tersebut diatas adalah kecil dari 5µg/ml (lihat Tabel 2). Sampel-sampel lainnya memiliki aktivitas toksistas yang lemah atau non aktif. Sampel dengan kode DH 12 dan 19 termasuk sepon laut dan setelah diidentifikasi masing-masing adalah *Avinella carteri* dan *Xestospongia exigua*. Sedangkan sampel dengan kode DH 22B dan DH 27B merupakan invertebrata laut dari kelas echinodermata(seperti Bintang Laut dan Teripang Laut).

Tabel 2 Hasil Pengujian Aktivitas Toksisitas dengan Metoda Brine Shrimp

| Sampel | Kelas | Fraksi | Aktivitas Toksisitas ED ₅₀ (µg/ml) |
|--------------|---------------------------------------|--------|--|
| DH 01 | Cnidaria | E | 17 |
| | | B | > 20 |
| DH 02 | Cnidaria (<i>I. pauciflorum</i>) | E | 21.3 |
| | | B | > 20 |
| DH 03 | Cnidaria | E | 7.6 |
| | | B | > 20 |
| DH 05 | Cnidaria | E | 13.4 |
| | | B | > 20 |
| DH 06 | Cnidaria | E | 5.0 |
| | | B | 12.3 |
| DH 07 | Cnidaria | E | 10.35 |
| | | B | > 20 |
| DH 08 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 09 | Porifera | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 10 | Cnidaria | E | 12 |
| | | B | > 20 |
| DH 11 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 12 | Porifera (<i>A. carteri</i>) | E | 1.9 |
| | | B | 8.0 |
| DH 13, DH 14 | Porifera | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 16 | Cnidaria (<i>N. chubrolii</i>) | E | 13.6 |
| | | B | > 20 |
| DH 17 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 19 | Porifera (<i>X. exigua</i>) | E | 1.6 |
| | | B | 20.4 |
| DH 21 | Porifera (<i>Aiptos</i> sp.) | E | 0.19 |
| | | B | 2.9 |
| DH 22 | Echinodermata | E | > 20 |
| | | B | 0.18 |
| DH 23 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | 42.4 |
| DH 24 | Echinodermata | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 26 | Porifera | E | > 20 |
| | | B | > 20 |

| | | | |
|------------------------|------------------------------------|---|------|
| DH 27 | Echinodermata | E | 12.6 |
| | | B | 0,26 |
| DH 28, DH 30, DH 31 | Cnidaria | E | < 20 |
| | | B | < 20 |
| DH 34 | Porifera | E | 12.0 |
| | | B | < 20 |
| DH 35 | Porifera | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 36 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 38 | Porifera | E | > 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 39 | Porifera (<i>D. herbacea</i>) | E | 20 |
| | | B | > 20 |
| DH 40 | Cnidaria | E | > 20 |
| | | B | 12.4 |

Keterangan : E. – Etilasetat
B. – Butanol

Pengujian Aktivitas Antibiotika

Untuk menentukan ada tidaknya aktivitas antibiotika, setiap fraksi etilasetat dan butanol diuji dengan metoda difusi agar. Pada pengujian ini digunakan tiga jenis bakteri, masing-masing *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*, (gram positif) dan *Escherichia coli* (gram negatif). Setiap fraksi diuji dengan konsentrasi dosis 250 µg/ml per cakram. Setelah 24 jam masa inkubasi, ada tidaknya daerah yang jernih disekitar cakram (daerah hambatan) diamati dan diukur diameternya (mm). Semakin besar diameter daerah hambatan yang terjadi, maka semakin kuat aktivitas antibiotika yang dikandung fraksi tersebut (lihat tabel 3). Sampel dengan kode DH 12B, DH 19E, DH 21E dan DH 39E menunjukkan adanya aktivitas antibiotika terutama terhadap bakteri gram positif *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Fraksi lainnya seperti terlihat hasilnya pada tabel hanya memiliki aktivitas antibiotika yang lemah dan tidak aktif. Seperti sampel DH 12 dan DH 19, sampel dengan kode DH 21 dan DH 39 juga termasuk kedalam kelas sepon laut, dan setelah secara taksonomis diidentifikasi sampel tersebut masing-masing adalah *Aiptos* sp. dan *Dysidea herbacea*.

Tabel 3 : Hasil Pengujian Aktivitas Antibiotika dengan Metoda Agar Difusi

| Sampel | Kelas | Fraksi | Aktivitas Antibiotika Diameter Hambatan (mm) (Dosis : 250 µg/Disk) | | |
|--------|---------------------------------------|--------|--|-----|-----|
| | | | S.a | E.c | B.s |
| DH 01 | Cnidaria | E | 7 | - | 7 |
| | | B | - | - | - |
| DH 02 | Cnidaria (<i>L. pauciflorum</i>) | E | 7 | - | 9 |
| | | B | - | - | - |

| | | | | | |
|---------------------|-------------------------------------|---|----|----|----|
| DH 03 - DH 08 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 09 | Porifera | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 10, DH 11 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 12 | Porifera (<i>A. carteri</i>) | E | - | - | - |
| | | B | 10 | 15 | 15 |
| DH 13, DH 14 | Porifera | E | - | - | 7 |
| | | B | - | - | - |
| DH 16 | Cnidaria (<i>N. chabrolii</i>) | E | - | - | 7 |
| | | B | - | - | 7 |
| DH 17 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 19 | Porifera (<i>X. exigua</i>) | E | 8 | 9 | 21 |
| | | B | - | - | 7 |
| DH 21 | Porifera (<i>Aptos</i> sp.) | E | 13 | - | 10 |
| | | B | - | - | - |
| DH 22 | Echinodermata | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 23 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 24 | Echinodermata | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 26 | Porifera | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 27 | Echinodermata | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 28, DH 30, DH 31 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 34, DH 35 | Porifera | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 36 | Cnidaria | E | - | 15 | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 38 | Porifera | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |
| DH 39 | Porifera (<i>D. herbacea</i>) | E | 21 | - | 22 |
| | | B | - | - | 8 |
| DH 40 | Cnidaria | E | - | - | - |
| | | B | - | - | - |

Keterangan

E = Filasetat
 B = Butanol
 - = Tidak aktif

S. a = *Staphylococcus aureus*
 E. c = *Escherichia coli*
 B. s = *Bacillus subtilis*

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa dari 35 jenis invertebrata laut dengan kelas yang beraneka ragam hanya 4 sampel diantaranya yang memberikan hasil yang positif. Hal ini terlihat dari bioaktivitasnya yang cukup kuat menghambat pertumbuhan bakteri sekaligus memiliki aktivitas toksisitas yang besar. Setelah diidentifikasi secara taksonomis keempat sampel tersebut ternyata termasuk kedalam kelas sepon laut. Hal ini tidak mengherankan, karena berdasarkan studi literatur diketahui bahwa dari seluruh kelas invertebrata laut yang telah diteliti kandungan metabolit sekundernya, ternyata senyawa kimia yang menarik dan aktif secara biologis terutama didominasi oleh invertebrata laut dari kelas Demospongia atau sepon laut. Keempat sampel tersebut diatas masing-masing dengan kode DH 12, DH 19, DH 21 dan DH 39 adalah *Aaptos* sp., *Axiuella carteri*, *Xestospongia exigua* dan *Dysidea herbacea*. Sebagai tahap penelitian lanjutan disarankan untuk dapat mengisolasi kandungan senyawa kimia yang terdapat pada keempat sampel diatas, menentukan dan mengidentifikasi strukturnya sekaligus menguji bioaktivitas senyawa murni hasil isolasi terhadap mikroba dan menentukan kekuatan toksisitasnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Allhamdulillah, kami telah dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul „Screening Bioaktivitas Ekstrak Kasar dari Invertebrata Laut“, dimana penelitian ini terlaksana atas bantuan dana SPP/DPP tahun anggaran 2000. Untuk itu ucapan terima kasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian Universitas Andalas atas penyediaan biaya penelitian ini, dan kepada semua pihak yang telah banyak membantu, khususnya sewaktu pengambilan sampel kelapangan dan pengolahannya di laboratorium.

DAFTAR PUSTAKA

1. BERGMANN, W., FEENEY, R.J. (1951):
Contribution to the study of marine sponges. 32. The nucleosides of sponges.
J. Org. Chem. 16, 981 - 987
2. CARTE, B. K. (1995):
Biomedical potential of marine natural products.
BioScience 46, 271 - 287
3. FAULKNER, D. J. (1995):
Marine natural products
Natural Products Reports 11, 223 - 269
4. KÖNIG, G. (1992):
Meeresorganismen als Quelle pharmazeutisch bedeutsamer Naturstoffe.
Dtsch. Apoth. Ztg. 132, 673 - 683
5. McLAUGHLIN, J. L. (1991):
Crown Gall Tumors on Potato Discs and Brine Shrimp Lethality: Two Simple
Bioassays for higher Plant Screening and Fractionation.
In: Dey, P. M., Harbone, J. B. (series eds.): *Methods in Plant Biochemistry*, Vol. 6
(Hostettmann, K., ed.): *Assays for Bioactivity*
Academic Press, London, 1 - 32
6. SCHEUER, P. J. (1988):
Ethno-Natural Historical Leads
In: Fautin, D. G. (Ed.) *Biomedical Importance of Marine Organisms*
California Academy of Sciences, San Francisco, 37 - 40
7. SCHMITZ, F. J., BOWDEN, B. E., TOTIL, S. I. (1993):
Antitumor and cytotoxic compounds from marine organisms
In: Attaway, D. H.; Zaborsky, O. R. (eds.) *Marine Biotechnology*, Vol. 1
Plenum Press, New York, 197 - 308
8. SCHMITZ, F. J. (1994):
Cytotoxic compounds from sponges and associated microflora
In: van Soest, van Kempen & Brackman (eds.) *Sponges in Time and Space*
Balkema, Rotterdam, 485 - 496