

## AKTIVITAS SPONS LAUT *Lamellodysidea herbacea* DARI PERAIRAN MALALAYANG, MANADO

*Deiske Adeliene Sumilat*

Laboratorium Molekular Biologi dan Farmasitika Laut,  
Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Unsrat  
*deiske.sumilat@unsrat.ac.id*

### **Abstract**

*Marine sponge Lamellodysidea herbacea was collected from Malalayang Water North Sulawesi. Ethanol extracted was evaporated with vaccum rotary evaporator at 40°C. Purification with HPLC and yielded 3 fractions. Citotoxicity test with MTT assay, fraction 2 showed cytotoxicity against HCT-15 and Jurkat cells at 10 µg /mL.*

Key word: Marine sponge *Lamellodysidea herbacea*; cytotoxicity; anticancer

### **Abstrak**

*Spons laut Lamellodysidea herbacea dikoleksi dari Perairan Pantai Malalayang Sulawesi Utara. Etanol ekstrak dari spons diuapkan dengan menggunakan vaccum rotary evaporator pada suhu 40°C. Pemurnian dilakukan dengan HPLC menghasilkan 3 fraksi. Uji aktivitas sitotoksitas anti kanker dengan MTT assay menunjukkan pada uji sel kanker HCT-15 (sel kanker usus) dan sel Jurkat, fraksi 2 dengan konsentrasi 10 µg/mL memiliki kemampuan daya hambat sebesar 50%. Hasil ini memberikan kesimpulan bahwa fraksi 2 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker HCT-15 dan Jurkat pada konsentrasi 10 µg/mL.*

---

**Kata kunci:** Spons laut *Lamellodysidea herbacea*; sitotoksitas, sel kanker.

## **PENDAHULUAN**

Laut Indonesia merupakan pusat keragaman terumbu karang dunia dan kaya akan sumber produk alami dengan struktur dan aktivitas biologis yang unik. Kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh organisme laut menarik perhatian para peneliti, karena senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur kimia yang unik dan aktivitas farmakologis yang sangat menarik, seperti antikanker, antimikroba, antiinflamasi, antivirus, antifouling dan menghambat aktivitas enzim (Jiang, *et al.*, 2012; Kornprobst, 2010; Newman dan Cragg, 2009; Diyabalanage, *et al.*,

2012., Fattorusso, *et al.*, 2012). Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif, sehingga menjadikan spons target yang sangat menarik karena keanekaragamannya yang tinggi dan unik dan spons menduduki tempat teratas sebagai sumber substansi aktif (Blunt, *et al.*, 2014). Berbagai macam senyawa telah berhasil diisolasi dari biota ini diantaranya adalah alkaloid, terpenoid, acetogenin, senyawa nitrogen, halida siklik, peptide siklik dan lain-lain.

Spons laut *Lamellodysidea herbacea* mengandung bioaktif metabolit sekunder yang sangat potent dalam menghambat pertumbuhan protein tyrosine phosphatase 1B (PTP 1B). *L. herbacea* dari perairan Manado, juga memiliki sitotoksitas yang tinggi terhadap uji PTP 1B (Yamazaki, 2013). Hasil penelitian dari *L. herbacea* yang dilaporkan saat ini adalah kemampuan spons dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

## **METODE PENELITIAN**

### **Spons**

Spons laut dikoleksi dari Perairan Pantai Malalayang Sulawesi Utara pada kedalaman 5 – 10m, menggunakan alat bantu (masker, snorkel, fins, dan tabung oksigen). Spons laut yang sudah dikoleksi, dinaikkan ke atas perahu kemudian dipotong kecil kecil berbentuk kubus dan direndam dengan cara maserasi dalam larutan etanol dan dibawa ke laboratorium Kimia Bahan Hayati Laut FPIK, Unsrat. Untuk keperluan identifikasi, sampel diberi label dan difoto, sepotong sampel disimpan sebagai voucher, dan dimasukkan dalam botol vial 25 mL yang berisi larutan etanol 70% dan menthol bubuk secukupnya.

Pemurnian dengan HPLC dan pengujian sitotoksitas dilakukan di Tohoku Pharmaceutical University Sendai, Jepang. Voucher spesimen dari *Lamellodysidea herbacea*. tersimpan di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Sam Ratulangi dan Faculty of Pharmaceutical Sciences, Tohoku Pharmaceutical University.

### **Bahan Kimia**

Fetal bovine serum (FBS) dan bahan-bahan kultur lainnya dari Invitrogen (Carlsbad, CA, Amerika Serikat). MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) dari

Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, Amerika Serikat). Semua bahan pelarut organik dan bahan kimia lainnya dari Wako Pure Chemical Industries Ltd. (Osaka, Jepang). HPLC: L-6200 (Hitachi Ltd., Tokyo, Japan).

### **Ekstraksi dan Isolasi**

Spons laut yang telah direndam pada larutan etanol ( $3 \times 500$  mL) selama 24 jam, disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman. Selanjutnya etanol ekstrak diuapkan dengan menggunakan vaccum rotary evaporator pada suhu  $40^\circ\text{C}$ , kemudian dilanjutkan dengan menggunakan larutan metanol hingga kering. Ekstrak metanolik kering, disimpan dalam vaccum desicator semalam dan ditimbang untuk mendapatkan berat kering kasar (crude extract).

Berat kasar kering sebanyak 284,3 mg, diambil 20 mg kemudian dianalisis dengan HPLC analitik dan dimurnikan dengan HPLC Preparatif. Kondisi pelarut HPLC dan sampel adalah 20 mg/mL, 90% Metanol, UV 210 nm; dengan laju alir 2,0 mL/menit. Kolom ODS yang digunakan adalah PFGASIL ODS, 10 mm x 250 mm, Senshu Scientific Co., Tokyo, Japan. Dari hasil pemurnian dengan HPLC didapatkan 5,4 mg senyawa murni.

### **Uji Sitotoksik terhadap Sel Kanker HCT-15 (Usus) dan Jurkat (Leukimia)**

Sel kanker, sel HCT-15 (usus) and sel Jurkat (Leukimia) didapatkan dari Center for Biomedical Research, Institute of Development, Aging and Cancer, Tohoku University (Miyagi, Jepang). Sel dikultur pada medium RPMI-1640.

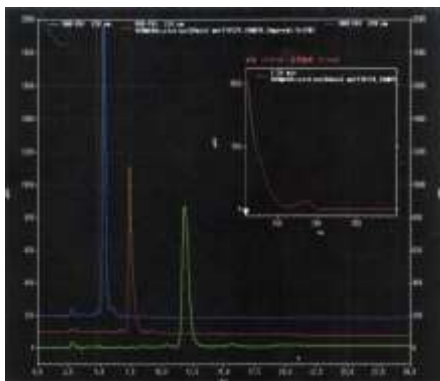
Medium ini ditambahkan 10% serum fetal bovine, 100 units/mL penicillin dan 100  $\mu\text{g/mL}$  streptomycin. Sel yang bertumbuh secara eksponensial - yang dikultur di dalam ruangan lembab pada suhu  $37^\circ\text{C}$  dengan 5,0%  $\text{CO}_2$  - digunakan untuk percobaan ini.

Aktivitas sitotoksik diuji dengan MTT assay (Mosmann, 1983). Sel HCT-15 ( $1,0 \times 10^4$  sel dalam 100  $\mu\text{L}$ ) atau Jurkat ( $2,0 \times 10^4$  sel dalam 100  $\mu\text{L}$ ) ditambahkan pada setiap 96-well plastic plate. Setiap sampel (1,0  $\mu\text{L}$  dalam MeOH) ditambahkan pada masing-masing plate hingga konsentrasi akhir dari 0 ke 39–47  $\mu\text{M}$ ; sel-sel ini diinkubasi selama 48 jam pada suhu at  $37^\circ\text{C}$ . MTT (10  $\mu\text{L}$  dari 5,5 mg/mL solusi stok) dan larutan sel lysate (90  $\mu\text{L}$ , 40% *N,N*-

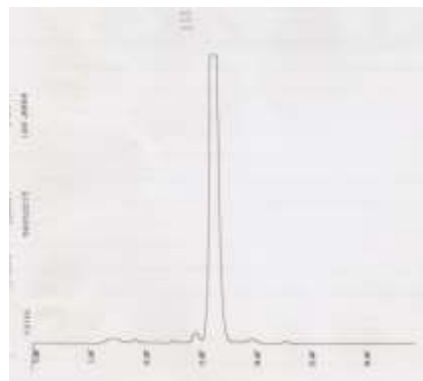
dimethylformamide, 20% sodium dodecyl sulfate, 2,0% CH<sub>3</sub>COOH dan 0,03% HCl) ditambahkan pada masing-masing well, dan disimpan pada suhu ruangan semalaman. Kepadatan optik masing-masing well diukur pada 570 nm dengan menggunakan MTP-500 micro plate reader.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

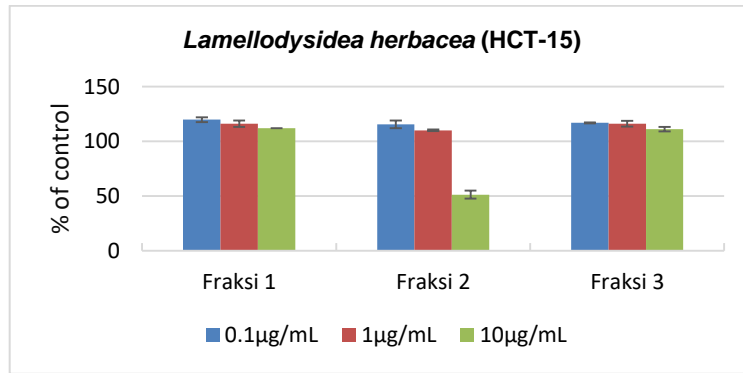
Gambar 1 menunjukkan hasil analisis yang menggunakan HPLC analitik dari ekstrak kasar spons memperlihatkan puncak tunggal yang sangat menonjol. Pelarut yang digunakan adalah metanol 90%, dengan konsentrasi sampel 5 mg/mL (Metanol), dan fase selama 60 menit pada UV 220 nm. Melalui hasil analisis di atas, dapat ditentukan bahwa sampel spons yang sudah diekstrak, dapat dilanjutkan proses pemurniannya dengan HPLC preparatif sehingga bisa mendapatkan senyawa murni yang dapat diproses selanjutnya dengan NMR. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan metabolit sekunder berupa senyawa baru dari alam. Gambar 2, menunjukkan pemurnian senyawa dengan HPLC serta profil single peak pada ekstrak yang muncul melalui HPLC preparatif. Dari gambar 2 dapat dijelaskan bahwa hasil analisis, menunjukkan hasil yang sama yaitu munculnya satu puncak utama (single peak) (gambar 1). Dugaan sementara bahwa ada satu senyawa utama yang terdapat dalam spons *Lamellodysidea herbacea* Karakteristik dari senyawa ini akan dibuktikan setelah dianalisis dengan NMR.



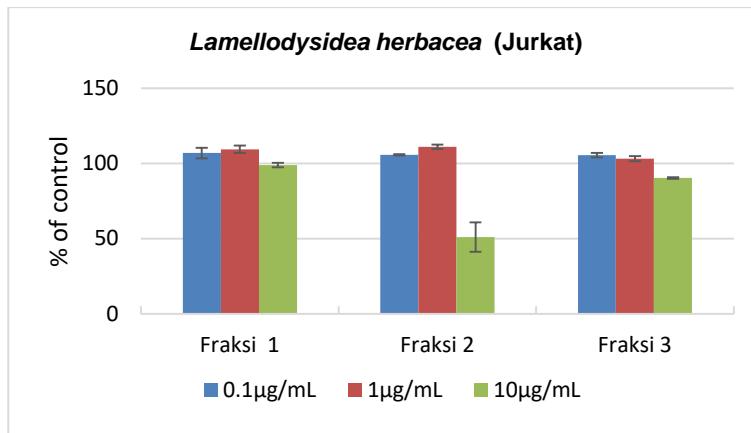
Gambar 1. Analisis HPLC ekstrak kasar *Lamellodysidea herbacea*



Gambar 3. Senyawa murni pada Fraksi 2 *Lamellodysidea herbacea*



Gambar 3. Sitotoksitas Fraksi 1 - 3 terhadap sel kanker HCT-15



Gambar 4. Sitotoksitas Fraksi 1 - 3 terhadap Sel Jurkat

Uji sitotoksitas anti kanker pada fraksi 1 - 3, menunjukkan pada uji dengan menggunakan sel kanker HCT-15 (sel kanker usus), fraksi 2 dengan konsentrasi 10 µg /mL memperlihatkan kemampuan daya hambat sebesar 50%. Fraksi 1 dan fraksi 3 pada konsentrasi 0.1, 1, dan 10 µg/mL serta fraksi 2 pada konsentrasi 0.1 dan 1 µg /mL tidak memperlihatkan pengaruh yang signifikan. Pada uji dengan menggunakan sel kanker Jurkat (sel kanker leukeumia) hasil yang sama juga didapatkan pada masing masing fraksi. Hasil ini memberikan kesimpulan bahwa fraksi 2 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan sel kanker HCT-15 dan Jurkat pada konsentrasi 10 µg/mL.

Dari hasil yang ditampilkan, secara umum dapat disimpulkan bahwa spons *Lamellodysidea herbacea* fraksi 2, memiliki aktifitas yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker. Hal ini dapat dikategorikan bahwa spons ini memiliki potensi yang tinggi sebagai bahan alam laut yang dapat dijadikan calon obat anti kanker dan anti diabetes. Penelitian lebih lanjut secara detail disarankan untuk dilakukan seperti karakterisasi struktur senyawa, dan uji uji aktivitas lainnya yang dapat mendukung untuk uji pra klinik selanjutnya.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Dr. H. Rotinsulu dan Dr. D.S. Wewengkang yang membantu dalam kegiatan sampling. Terima kasih kepada Prof. M. Namikoshi dan Dr. H. Yamazaki, Tohoku Pharmaceutical University yang sangat membantu selama penelitian di Jepang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., Munro, M.H.G., and Prinsep, M.R. 2012. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 29: 144–222, and previous reports in this series.
- Diyabalanage, T., Ratnayake, R., Bokesch, H.R., Ransom, T.T., Henrich, C.J., Beutler, J.A., McMahon, J.B., and Gustafson, K.R. 2012. Flabelliferrins A and B, sesterpenoids from the South Pasific sponge *Carteriospongia flabellifera*. *J. Nat. Prod.* 75: 1490–1494.
- Faulkner, D.J. 2002. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 19: 1–48, and previous reports in this series.
- Fattorusso, E., Gerwick, W.H., and Orazio Taglialatela-Scafati. 2012. Handbook of Marine Natural Products. Springer.
- Handayani, D., Edrada, R.A., Proksch, P, Wray, V., Witte, L., van Soest, R.W.M., Kunzmann, A., and Soedarsono. 1997. Four new bioactive polybrominated diphenylethers of the sponge *Dysidea herbacea* from West Sumatra, Indonesia. *J. Nat. Prod.* 60: 1313–1316.
- Hanif, N., Tanaka, J., Setiawan, A., Trianto, A., de Voogd, N.J., Murni, A., Tanaka, C., and Higa, T. 2007. Polybrominated diphenyl ethers from Indonesian sponge *Lamellodysidea herbacea*. *J. Nat. Prod.* 70: 432–435.

- Jiang, C.-S., Muller, W.E.G., Schroder, H.C., and Guo, Y.-W. 2011. Disulfide- and Multisulfide-containing metabolites from marine organisms. *Chem. Rev.* 112: 2179–2207.
- Kornprobst, J.M. 2010. Encyclopedia of marine natural products. Willey-Blackwell. Oxford. 1594pp (3 vols).
- Newman, D.J. and Cragg, G.M. 2012. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* 75: 311–335, and previous reports in this series.
- Wang, W. and Namikoshi, M. 2007. Bioactive nitrogenous metabolites from ascidians. *Heterocycles* 74: 53–88.
- Yamazaki, H, Deiske A. Sumilat, Syu-ichi Kanno, Kazuyo Ukai, Henki Rotinsulu, Defny S. Wewengkang, Masaaki Ishikawa, Remy E. P. Mangindaan, Michio Namikoshi. 2013. A polybromodiphenyl ether from an Indonesian marine sponge *Lamellodysidea herbacea* and its chemical derivatives inhibit protein tyrosine phosphatase 1B, an important target for diabetes treatment. *Journal of Natural Medicine*, 67: 730–735, 2013.