

SITOTOKSISITAS EKSTRAK KASAR ASCIDIAN DARI PULAU BUNAKEN

Defny S. Wewengkang¹, Deiske Adeliene Sumilat², Henki Rotinsulu³

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, UNSRAT - Manado¹

(E. mail: wdefny@yahoo.com);

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, UNSRAT - Manado²;

Universitas Pembangunan Indonesia - Manado³.

ABSTRAK

Ekstrak metanolik dari koloni ascidian yang dikoleksi dari perairan Pulau Bunaken, Sulawesi Utara Indonesia menghasilkan enam sampel (Sampel 1 – 6). Dari bioassay antimikroba dan uji sitotoksik, Sampel 1 memperlihatkan aktivitas sitotoksik yang tinggi pada pertumbuhan koloni, dimana Sampel 1 menunjukkan daya hambat yang kuat (100% inhibisi pada 50 µg/mL), dibandingkan dengan ke lima sampel lainnya. Uji bioaktivitas antibakteri tidak menunjukkan aktivitas pada ke enam sampel ascidian.

Kata kunci: Ascidian, sitotoksisitas, bioaktif

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 aktifitas 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). Organisme laut yang memiliki kandungan metabolit sekunder terbanyak diperoleh dari avertebrata laut seperti spons, karang lunak, dan ascidian. Ascidian merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif, sehingga menjadikan ascidian target yang sangat menarik karena keanekaragamannya yang tinggi dan unik di antara invertebrata laut karena menghasilkan sejumlah besar senyawa yang mengandung nitrogen (Wang dan Namikoshi, 2007).

Ascidian (Tunikata) adalah organisme multiseluler tak bertulang belakang, memiliki ciri-ciri notochord (sumbu kerangka), jaringan saraf punggung dan belahan insang termodifikasi untuk penyaring makanan (filter feeder). Bentuk tubuh bulat yang tidak bersegmen ditutupi oleh tunik dengan dua bukaan pada mulut. Organisme

ini potensial dijadikan sebagai bahan eksplorasi pencarian senyawa bioaktif baru sebagai calon obat untuk dunia farmasi.

Tujuan dari penelitian ini mengoleksi ascidian dari Perairan Pulau Bunaken, yang kemudian diekstrak dan isolasi serta dilakukan bioassay untuk melihat bioaktivitas yang dikandung oleh ekstrak metanolik ascidian.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Ascidian dikoleksi dari Perairan Pulau Bunaken pada kedalaman 5 – 10 m di bulan September 2010. Ascidian yang sudah dikoleksi, dinaikkan ke atas perahu kemudian dipotong kecil-kecil berbentuk kubus dan direndam dalam larutan etanol. Untuk keperluan identifikasi, voucher ascidian dimasukkan dalam botol vial 10 mL yang berisi air laut dan menthol bubuk secukupnya.

Ekstraksi dan pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan di laboratorium Marine Chemistry Tohoku Pharmaceutical University Japan.

Ekstraksi

Ascidian yang telah direndam pada larutan etanol 96% (3 x 500 mL) selama 24 jam, disaring dengan menggunakan kertas saring Whattman. Selanjutnya etanol ekstrak diuapkan dengan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 40° C, yang dilanjutkan dengan menggunakan larutan metanol hingga kering. Ekstrak metanolik kemudian dianginkan dan ditimbang untuk mendapatkan berat kering kasar (crude extract).

Uji Bioaktivitas Antibakteri

Uji bioaktivitas antibakteri yang dilakukan pada ekstrak metanolik (ekstrak kasar) ascidian dengan menggunakan metode difusi agar (Metode B1), dan sebagai bioindikator bakteri, digunakan bakteri *Staphylococcus aureus* IAM 12544T, *Escherichia coli* IAM 12119T, Kapang *Candida albicans* IFM 4954, Fungus *Mucor hiemalis* IAM 6088. Daya penghambatan ditunjukkan dengan permukaan bening pada radius kertas cakram yang ditetesi sample. Sebagai kontrol digunakan chloramphenicol dan amphotericin B.

Uji Sitotoksitas V79

Sel V79 dari Hamster Cina dikultur dengan *monolayer culture* pada MEM Eagle. Dua ratus sel dikultur pada 96-well pelat plastik dengan media kultur 4 mL

lalu diinkubasi selama satu malam pada suhu 37°C. Setelah masing-masing sampel dilarutkan dengan DMSO (4 mL) kemudian ditambahkan pada media kultur, dan dikultur selama empat hari. Jumlah koloni yang dikultur dihitung dan dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian di Perairan Pulau Bunaken pada September 2010, didapatkan 6 (enam) sampel ascidian (Gambar 1) yang hidup secara soliter dan berkoloni (Tabel 1).

Tabel 1. Ekstraksi dan Sitotoksitas Ascidian dari Pulau Bunaken

No.	Berat (B)		Ascidian	Assay data				
	Berat basah (g)	Berat kering (mg)		Antimikroba				Sitotoksitas V79
				<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>M. hiemalis</i>	
1	36,6	200,11	koloni	-	-	-	-	100/100
2	41,5	192,95	koloni	-	-	-	-	58,7
3	118	1277,7	koloni	-	-	-	-	7,3
4	24,9	392,36	koloni	-	-	-	-	56,9
5	276	2129,05	soliter	-	-	-	-	14,7
6	15	335,87	koloni	-	-	-	-	66,1/67,2

Pelarut organik yang digunakan dalam isolasi ascidian adalah yang bersifat polar yaitu metanol, hal ini sangat berhubungan dengan sifat kepolaran senyawa yang akan diisolasi (Millar dan Haynes, 2000). Uji Bioaktivitas Antimikroba pada ke enam sampel (sampel 1 – 6, Tabel 1) ascidian, yang diuji pada dua jenis bakteri *S. aureus*, *E. coli*, kapang *C. albicans* serta fungus *M. hiemalis* tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, kapang dan fungus, ketika dibandingkan dengan control. Uji Sitotoksitas V79 dari ke enam sampel ascidian menunjukkan hasil yang bervariasi dari setiap sampel. Ekstrak kasar dari sampel ascidian menghambat pembentukan koloni V79 sel-sel (100% inhibisi pada 50 µg/mL) untuk sampel 1. Kemudian berturut turut sampel 6 (66,1/67,2% inhibisi pada 50 µg/mL); sampel 2 (58,7% inhibisi pada 50 µg/mL), sampel 3 (56,9% inhibisi

pada 50 µg/mL); sampel **5** (14,7% inhibisi pada 50 µg/mL), dan sampel **3** (7,3% inhibisi pada 50 µg/mL). Hasil ini menunjukkan bahwa sampel **1** memiliki daya hambat yang sangat tinggi terhadap pertumbuhan koloni V79. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar ascidian sampel **1** memiliki aktivitas sitotoksik yang tertinggi dibandingkan dengan ke 5 sampel lainnya, dan dapat dilakukan pemurnian lanjut untuk menemukan senyawa murni.

DAFTAR PUSTAKA

- 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
- Fattorusso, E., Gerwick, W.H., and Taglialatela-Scafati, O. 2012. Handbook of Marine Natural Products. *Springer*.
- Jiang, C.S., Muller, W.E.G., Schroder, H.C., and Guo, Y.W. 2012. Disulfide and Multisulfide-containing Metabolites from Marine Organisms. *Chem. Rev.* 112: 2179–2207.
- Kornprobst, J.M. 2010. Encyclopedia of Marine Natural Products. *Wiley-Blackwell. Oxford.* 1594pp (3 vols.).
- Millar, J.G. and Haynes K.F. 2000. Methods in Chemical Ecology. Kluwer Academic Publishers. USA. 390pp.
- 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.F., Takahashi, O., Oda, T., Nakazawa, T., Ukai, K., Mangindaan, R.E.P., Rotinsulu, H., Wewengkang, D.S., Kobayashi, H., Tsukamoto, S., and M. Namikoshi. 2009. Lissoclibadins 8–14, polysulfur dopamine-derived alkaloids from the colonial ascidian *Lissoclinum cf. badium*. *Tetrahedron*, 65: 9598–9603.