

METABOLIT SEKUNDER GORGONIA (*Paramuricea clavata*)

(*Secondary Metaboliti of Gorgonia, Paramuricea clavata*)

Albert R. Reo¹, S. Berhimon², Roike Montolalu²

¹Study Program of Aquatic Science, Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University Manado. <http://pasca.unsrat.ac.id/s2/jpa/>

²Faculty of Fisheries and Marine Science, Sam Ratulangi University Manado.

Abstract

Gorgonians are important organisms living around coral reefs. They have high abundance and very important ecological role. They can be found in shallow to deep sea. Gorgonians belong to octocoral taxon rarely studied either their taxonomy or other aspects. Some studies have informed that gorgonians can produce secondary metabolites as anti-bacteria. These belong to terpenoid, alkaloid, and steroid groups. The objective of this study was to obtain secondary metabolites of gorgonian, *Paramuricea clavata*, through several analytical steps, i.e. extraction, partition, chromatography, and spectroscopy. Extraction was done through 5 phases of maceration and then continued with partition, chromatography, and spectroscopy.

The secondary metabolites detected in ethyl acetate solvent, such as flavonoid, triterpenoid, steroid, and saponin, were the same as those in n-hexane solvent, while not all these compounds were detected in methanol solvent. Steroid was found in all gorgonian samples extracted in all solvent materials used in this study. Triterpenoid was also detected in gorgonian skin and axial extract using ethyl acetate, n-hexane, and methanol. Saponin was detected in all gorgonian extract, except the axial extract using ethyl acetate solvent.

Keywords: Secondary metabolite, Gorgonia, anti-bacteria.

Abstrak

Gorgonia merupakan organisme penting yang hidup di sekitar terumbu karang. Hewan ini memiliki kelimpahan besar dan peranan ekologis yang sangat penting. Organisme ini dapat ditemukan di perairan dangkal sampai laut dalam. Gorgonia termasuk taksa octokoralia yang jarang diteliti baik taksonominya maupun aspek-aspek lain. Beberapa penelitian telah menginformasikan bahwa gorgonia dapat menghasilkan metabolit sekunder sebagai anti-bakteri. Senyawa-senyawa ini termasuk golongan terpenoid, alkaloid dan steroid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan metabolit sekunder gorgonia (*Paramuricea clavata*) melalui beberapa tahap analisis, yaitu ekstraksi, partisi, kromatografi, dan spektroskopi. Ekstraksi dilakukan melalui 5 tahap maserasi dan dilanjutkan dengan partisi, kromatografi, dan spektroskopi.

Metabolit sekunder yang terdeteksi pada larutan etil asetat, seperti flavonoid, triterpenoid, steroid dan saponin adalah sama dengan pada pelarut n-heksan, sedangkan tidak semua senyawa ini terdeteksi pada pelarut metanol. Steroid ditemukan pada semua sampel gorgonia yang diekstrak dalam semua bahan pelarut yang digunakan pada penelitian ini. Triterpenoid terdeteksi pada ekstrak kulit dan aksial gorgonia yang menggunakan pelarut etil asetat, n-hexane, dan methanol. Saponin terdeteksi pada semua ekstrak gorgonia, kecuali ekstrak axial yang menggunakan pelarut etil asetat.

PENDAHULUAN

Gorgonia merupakan organisme penting yang hidup di sekitar terumbu karang. Gorgonia memiliki kelimpahan dan peranan ekologis yang sangat penting, gorgonia dapat dijumpai pada perairan dangkal hingga laut dalam (McFadder et. al., 2006 dalam Rohkayati, 2009). Gorgonia merupakan anggota taksa oktoral yang jarang dipelajari baik taksonominya maupun subjek lainnya.

Penelitian ini mempelajari tentang metabolisme sekunder dari spesies Gergonia yang dinamakan *Paramuricea clavata*. Organisme ini menarik karena diduga memiliki senjata khusus yang dapat melawan atau menyerang organisme lain, dalam rangka menjaga wilayah pertumbuhannya di sekitar terumbu karang. Ini berarti organisme lain tidak dapat bertumbuh atau mati jika mereka tinggal di satu tempat yang sama di sekitar terumbu karang yang didiami *Paramuricea clavata*. Penjelasan ini memberi kesan bahwa mungkin organisme *Paramuricea clavata* mampu memproduksi sebuah zat yang dapat membunuh organisme lain yang tinggal pada tempat yang sama.

Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organism dan ditemukan dalam bentuk yang unit atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organism biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik pollinator, dan sebagai molekul sinyal. Singkatnya, metabolit sekunder digunakan organism untuk berinteraksi dengna lingkungannya.

Senyawa metabolit sekunder diklasifikasikan menjadi 3 kelompok utama, yaitu :

1. Terpenoid, sebagian besar senyawa terpenoid mengandung karbon dan hydrogen serta disintesis melalui jalur metabolisme asam mevalonat. Contohnya monoterpena, seskuiiterpena, diterpena, triterpena dan polimer terpena.
2. Senyawa yang mengandung nitrogen. Contohnya alkaloid dan glukosinolat.

METODOLOGI PENELITIAN

Prosedur Penelitian

Penelitian ini mempelajari ekstraksi hasil metabolisme sekunder yang dapat dibagi dalam 4 tahap : 1. Ekstraksi, 2. Partisi; 3. Kromatografi dan 4. Spektroskopi. Dalam penelitian ini ada 5 tahap proses ekstraksi dari sampel Gergonia, ekstraksi pertama yaitu mempersiapkan sampel beku *Paramuricea clavata* yang dipotong dalam ukuran kecil. Setelah itu ditaruh dalam wadah gelas dan dimasukkan methanol dan diaduk setiap waktu. Wadah gelas ditutupi dengan aluminium foil untuk melindungi dari cahaya dan disimpan selama 12 jam.

Tahap Ekstraksi

Ekstraksi kedua dilakukan dengan menyaring larutan ekstraksi pertama dengan menggunakan kertas saring dan dikeringkan. Dara pengeringan yang lain adalah dengan menggunakan alat rotary evaporator atau semacam mesin penyaring berputar. Prinsip kerja dari rotary evaporator adalah untuk menguapkan pelarut ekstraksi dan hanya meninggalkan senyawa hasil diekstraksi disebut ekstrak. Selanjutnya sampel tersebut dimasukkan dalam wadah gelas dan ditambahkan methanol untuk ekstraksi selanjutnya.

Ekstraksi ketiga adalah untuk menyaring larutan methanol dan Gorgonia setelah 12 jam dan masukkan senyawa ke rotary evaporator. Warna dari senyawa pada ekstraksi ketiga

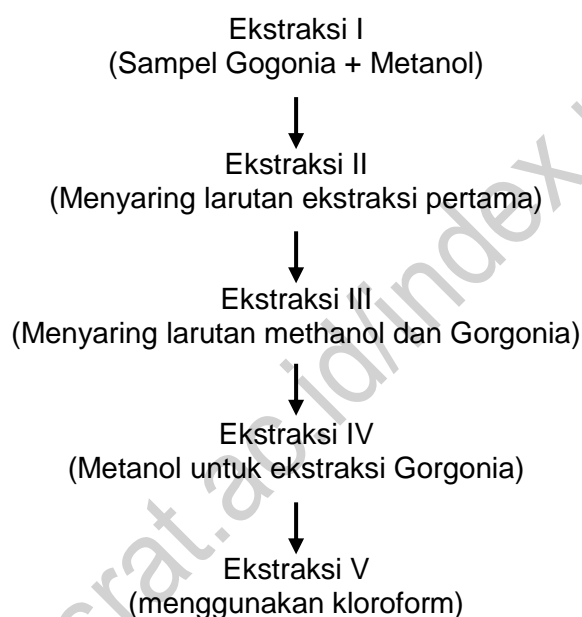
menjadi lebih warna coklat terang, dibanding ekstrak pertama dan kedua.

Ekstraksi keempat masih gunakan metanol untuk mengekstraksi Gorgonia. Setelah itu disimpan lagi selama 12 jam, kemudian disaring dan keringkan dengan rotary evaporator.

Ekstraksi kelima merupakan ekstraksi terakhir dan pada ekstraksi ini digunakan kloroform. Ekstrak disimpan selama 2 hari dan setelah 2 hari

ekstraksi tersebut disaring dengan kertas saring, dan warna dari senyawa juga coklat terang dan langsung dikeringkan dengan rotary evaporator. Proses pengeringan dengan menggunakan kloroform kelihatannya lebih cepat dibandingkan dengan menggunakan methanol karena proses penguapan kloroform lebih cepat dibanding dengan metanol.

Tahap Ekstraksi



Gambar 1. Skema Tahap-Tahap Ekstraksi

Tahap Partisi

Tahap selanjutnya dari metabolisme sekunder adalah *partitioning*. Dalam tahap ini sampel dicampur dengan air destilasi sebanyak 300 ml dan etil asetat sebanyak 300 ml, kemudian dikocok. Setelah itu dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditunggu dan seterusnya disekap diantara destilasi air 300 ml dicampur dengan etil asetat 300 ml dan dikocok dan dimasukkan ke dalam corong pemisah dan ditunggu selama 5 – 10 menit. Setelah terjadi pemisahan, katup

pengeluaran dibuka untuk mengeluarkan air yang ada pada bagian bawah corong pemisah, kemudian sisanya dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya etil asetat diletakkan di tempat terpisah pada tabung yang lain. Tahap partisi kedua dilanjutkan dengan cara seperti di atas sampai enam kali dengan 200 ml H₂O ditambah 300 ml etil asetat setelah itu etil asetat dicampur dan dikeringkan dengan rotary evaporator. Prosedur yang sama mengikuti *partitioning* air dengan butanol.

Tahap Kromatografi

Proses selanjutnya adalah kromatografi. Penelitian selanjutnya akan digunakan kromatografi kolom, untuk prosedur kromatografi kolom adalah sebagai berikut.

Sebelum mulai prosedur kromatografi semua peralatan disiapkan, kemudian kertas kromatografi dipotong-potong dan berikan nomor. Gelas tabung kemudian dibersihkan untuk kromatografi dan selanjut disiapkan tabung reaksi sebanyak 75. Prosedur kromatografi kolom dapat dibagi dalam tahap berikut ini :

- Sampel larutan senyawa dikeringkan dengan rotary evaporator dan pompa silica.
- Gelas tabung kromatografi diisi dengan silica gel dan tambahkan N Heksana.
- Larutan senyawa sampel dilatakkan di puncak dari kolom dan mulai titrasi. Koleksi dibuat setiap 75 ml dengan perubahan eluen didasarkan pada kenaikan pelarut sesuai peningkatan muatan kutub.
- Setelah itu sampel dikeringkan dengan rotary evaporator dan diberi tanda pada kromatografi kertas dan sampel yang sisa ditaruh di tabung reaksi berdasarkan nomor urut.
- Di dalam kromatografi kertas penandaan didasarkan pada nomor urut dan setelah nomor 1 – 5 langsung pada kromatografi TLC (Thin Layer kromatografi).
- Di dalam wadah TLC ditaruh N Heksana dan etil asetat dan lihat pergerakan larutan.
- Setelah itu keringkan larutan dengan alat pengering dan celupkan di dalam larutan contoh (larutan Pancaldi) dapat membantu perubahan zat kimia dan keringkan lagi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil literatur review Teffu, *dkk.* (2015) Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran awal

mengenai kandungan golongan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam simplisia maupun ekstrak. Kandungan metabolit sekunder simplisia dan ekstrak akar bahar disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia simplisia dan ekstrak kasar gabungan sampel Gorgonia

Komponen Bioaktif	Simplisia Gorgonia							
	Kulit				Aksial			
	Kulit	Aksial	Metanol	Etil Aseta	n-Heksana	Metanol	Etil Asetat	n-Heksana
Alkaloid	-	-	+	-	-	+	-	+
- Mayer	-	-	+	-	-	+	-	+
Dragendorff	-	-	+	-	-	+	-	+
Wagner	-	-	+	-	-	+	-	+
Flavonoid	+	+	-	+	+	-	+	+
Fenol hidrokuinon	-	-	+	-	+	+	-	+
Steroid	+	+	+	+	+	+	+	+
Triterpenoid	-	-	-	+	+	+	+	+
Tanin	+	-	-	-	-	-	-	-
Saponin	+	+	+	+	+	+	-	+

Komponen metabolit sekunder yang terdeteksi pada pelarut etil asetat seperti flavanoid, triterpenoid, steroid, dan saponin kecenderungan terdeteksinya sama pada pelarut n-heksana dibandingkan pelarut metanol. Hasil penelitian ini berbeda dengan Chen *et. al.* (2003) yang melaporkan metabolit sekunder hasil ekstraksi menggunakan etil asetat dari karang lunak *Sinularia arborea* berupa diterpenoid dan steroid. Metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak n-heksana pada kulit maupun Gorgonia tergolong dalam senyawa yang bersifat

non polar sama seperti sifat pelarut yang digunakan. N-heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C_6H_{14} . Isomer heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi organik karena heksana bersifat sangat tidak polar. Heksana digunakan di laboratorium untuk mengekstrak minyak dan lemak (Aziz *et. al.*, 2009).

Metabolit sekunder flavonoid yang terdeteksi diduga berasal dari warna koloni pada akar bahar. Manuputty (2008) menyatakan warna koloni dipengaruhi oleh kandungan pigmen dari alga uniseluler zooxanthela yang hidup bersimbiosis di dalam jaringan koenensimnya.

Metabolit sekunder fenol hidrokuinon terdeteksi pada ekstrak akar bahar menggunakan pelarut n-heksana dan pelarut methanol

Metabolit sekunder steroid terdeteksi di semua bahan baik simplisia maupun ekstrak akar bahar pada berbagai pelarut.

Triterpenoid terdeteksi pada ekstrak etil asetat, n-heksana dan methanol pada kulit dan aksial ekstrak Gorgonia.

Saponin terdeteksi pada semua ekstrak akar bahar baik di luar maupun pada aksialnya kecuali ekstrak aksial menggunakan pelarut etil asetat, hal ini menunjukkan secara keseluruhan ekstrak mengandung saponin. Van Dyck *et. al.* (2010) melaporkan kandungan saponin banyak terdapat pada teripang laut yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol-air.

Hasil literatur review Teffu, *dkk.* (2015), ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu n-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan methanol (polar). Hasil ekstraksi pada tabel 2 menunjukkan ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda menghasilkan rendemen yang berbeda juga. Rendemen

terbanyak diperoleh dari ekstrak methanol, n-heksana dan etil asetat.

Tabel 2. Rendemen ekstrak gabungan sampel Gorgonia

Jenis Pelarut	Rendemen (%)	
	Kulit Gorgonia	Aksial Gorgonia
n-Heksana	0,58	0,57
Etil asetat	0,15	0,74
Metanol	6,99	3,44

KESIMPULAN

1. Tahap penelitian metabolisme sekunder dan dari Gorgonia yaitu sebagai berikut : Ekstraksi, Partisi, Kromatografi dan Spektroskopi.
2. Senyawa metabolisme sekunder yang terdeteksi adalah : Triterpenoid, Steroid, Flavonoid, Saponin.
3. Komponen metabolit sekunder yang terdeteksi pada pelarut etil asetat seperti flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin kecenderungan terdeteksinya sama pada pelarut n-heksana dibandingkan pelarut metanol.
4. Metabolit sekunder steroid terdeteksi di semua bahan baik simplisia maupun ekstrak akar bahar pada berbagai pelarut.
5. Triterpenoid terdeteksi pada ekstrak etil asetat, n-heksana dan methanol pada kulit dan aksial ekstrak Gorgonia.
6. Saponin terdeteksi pada semua ekstrak akar bahar baik di luar maupun pada aksialnya kecuali ekstrak aksial menggunakan pelarut etil asetat.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnan, O. A., A. D. Akinpelu, O. A. Ogundaini and A. C. Obafemi. 2007. Studies on Antimicrobial, Antioxidant and Phytochemical Analysis of *Urena labata* Leaves. J. Phy. And Nat. Sci. 1 (2): 1-9.

- Antonius, A. 2000. Threats to and Protection of Coral Reefs. University of Vienna, Germany.
- Aziz T, Ratih CKN, Fresca A. 2009. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia* 1 (16):1-8).
- Baker T. A., Wood J. B. Marine Invertebrates of Bermuda. Common Sea Fan (*Gorgonia ventalina*).
- Chen KH, Dai CF, Lu MC, Li JJ, Chen JJ, Chang YC, Su YD, Wang WH, and Sung PJ. 2013. Secondary Metabolites from the Soft Coral *Sinularia arborea*. *Marine Drugs* (11):3372-3380.
- Cheng SY, Huang KJ, Wang SK, Duh CY,. 2011. Cappilloquinol: a novel farnesly quinol from the dongsha atoll soft coral *Sinularia capillosa*. *Marine Drugs* (9):1469-1476. doi:10.3390/md9091469.
- Fabricius Katherina and Alder Slade Philip, 2001. Soft Corals and Sea Fans. New Citho, Survey Hills Melbourne, Australia.
- Fabricius, K. and P. Alderslade. 2001. Soft Corals and Sea Fans. Australian Institute of Marine Science and The Museum and Art Gallery of Northern Territory, Australia.
- Gao CH, Wang YF, Li S, Qian PY, and Qi SH. 2011. Alkaloids and Sesquiterpenes from the South China Sea *Gorgonian Echinogorgia pseudossapo*. *Marine Drugs* (9):2479-2487.
- Gerhart, D.J. 1983. The Chemical Systematics of Colonial Marine Animals: An Estimated Phylogeny of The Order Gorgonaceae Based on Terpenoid Characters. *Biol. Bull.* 164: 71-81.
- Grajales, A., C. Aguilar and J. A. Sanchez. 2007. Phylogenetic Reconstruction Using Secondary Structures of Internal Transcribed Spacer 2 (ITS2, rDNA): finding the molecular and morphological gap in Caribbean gorgonian corals. *BMC Evolutionary Biology.* 7 (90): 1-9.
- Gutierrez, M., T. L. Capson, He'ctor M. Guzma'n, J. Gonza'lez, R. Ortega-Barri'a, E. Quin'oa', and R. Riguera. 2006. Antiplasmodial Metabolites Isolated from the Marine Octocoral *Muricea austere*. *J. Nat. Prod.* 4:A-E.
- Hein Morris, Best Leo R., Pattison Scott and Arena Susan. 1993. Organic and Biochemistry Wadsworth. Belmont, California.
- Ikan, Raphael. 1991. Natural Products A. Laboratory Guide. Acedemi Press. Inc. San Diego, California.
- Kelman, D., U. Kashman, E. Rosenberg, A. Kushmaro and Y. Lova. 2006. Antimicrobial Activity of Red Sea Corals. *Mar. Biol.* 149:357-363.
- Lehniger, N. C. 1993. Prinsiples of Biochemistry. Publ. Inc. USA.
- Loomis, T.A. 1978. Toksikologi Dasar. Diterjemahkan oleh Imono A. D, Edisi III, 3, 228-233, IKIP Semarang-Press, Semarang.
- Manuputty AEW. 2008. Isis Hippuris Lannaeus 1758: Oktokoral Penghasil Anti Virus. *Oseana* 33(1):19-24.
- McFadden, C.S., Scott C. France, Juan A. Sanchez and Phil Alderslade. 2006. A Molecular Phylogenetic Analysis of the Octorallia (Cnidaria: Anthozoa) Based on Mitochondrial protein-coding sequences. *Mol Phylo and Evo.* 41: 513-527.
- Meyer, B.N., Feringgi, N.R., Putman. 1982. Brine Shrimp: Aconventient General for Active Plant Constituent, *Planta medica*, 45, 31-34. Dalam Dwitmaka, Y, 2001. Identitas Simpleks dan Uji Toksisitas Akut Secara BST Ekstrak kulit batang Pule Alstonia Scholaris (L) R. Br. Program Pascasarjana UGM. Program Studi Ilmu Framasi, Jurusan Ilmu Matematika dan Pengetahuan Alam.

- P. Dc. Leenheer, Lambert, Willy E. and Nelis Hans J. 1992.3 Modern Chromatography Analysis of Vitamins. Marcell Deckher Inc.
- P. Dc. Leenheer, W. C. Lambert and I. J. Nelis. 1992. Modern Chromatography : Analysis of Vitamins. Marcell Deckher Inc.
- Purwoko, A.1998. Uji Toksisitas Ekstrak Kloroform dan Ekstrak Methanol Beberapa Jamu Pengatur Haid Dengan BST. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta.
- Rohkayati, E. 2009. Analisis Senyawa Antibakteri Pada Beberapa Jenis Karang Gorgonian dan Identifikasi Berdasarkan Karakter Spikula. Skripsi FMIPA. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Siswandono, Soekardjo, B. 1995. Kimia Medisinal. Penerbit Universitas Airlangga Press. Surabaya. : 351-354 hm.
- Sun ZH, Cal YH, Fan CQ, Tang GH, Luo HB and Yin S. 2014. Six New Tetraprenylated Alkaloids from the South China Sea Gorgonian *Echinogorgia pseudosapo*. *Marine Drugs* (12) 672-681.
- Tanaka, J. Trianto, A. Musman, M. Hamad, H, Isa. Ikuko, I, O. T, Ichiba. Tatsuo, H. Wesley, Y, Y. and Paul J, S. 2002. New Polyoxygenated Steroids Exhibiting Reversal of Multidrug Reistance from the Gorgonian *Isis hippuris*. University of Ryukus. Japan.
- Teffu, Y.H., Suwandi, R., Nurjanah. 2015. Komponen Kimia dan Bioaktif Akar Bahar Gorgonian (Genus *Rumphella* dan *Hicksonella*) dari Pulau Raijua-Nusa Tenggara Timur. *Jurnal IPHPI*, Volume 18 Nomor 1. IPB Bogor.
- Trianto, A., Yan Yan HAS, Ambraiyanto, Murwani, R. 2004. Uji Toksisitas Ekstrak Gorgonian *Isis hippuris* Terhadap Nauplius *Artemia Salina*. *Jurnal Ilmu Kelautan*. Volume 9 (2) : 61 – 66. ISSN 0853-7291.
- Zhao HY, Shao CL, Li ZY, Han L, Cao, F and Wang CY. 2013. Bioactive pregnane steroids from a south china sea gorgonian *Carijoa* sp. *Molecule* (18):3458-3466.