

Senyawa Steroid Spons *Xestospongia* sp. dari Perairan Sulawesi Tenggara

Baru Sadarun¹, Muhammad Hajrul Malaka², Wahyuni², Sahidin^{2*}

¹Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232

²Fakultas Farmasi Universitas Halu Oleo, Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu Kendari 93232

Abstrak

Telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa kimia spons *Xestospongia* sp. dari perairan Sulawesi Tenggara serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri. Ekstrak spons diperoleh dengan teknik maserasi menggunakan pelarut metanol. Pemisahan senyawa kimia dari ekstrak tersebut dilakukan dengan teknik kromatografi kolom vakum (KCV), kromatografi radial (KR), dan kromatografi lapis tipis (KLT). Identifikasi isolat menggunakan spektroskopi infra merah serta spektroskopi NMR-1D (¹H dan ¹³C-NMR). Bakteri uji menggunakan *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi cakram. Isolat diperoleh sebagai padatan berwarna putih, dan hasil analisis spektroskopi infra merah maupun NMR-1D (¹H dan ¹³C-NMR) memperlihatkan bahwa isolat merupakan senyawa dengan kerangka steroid sarangosterol. Uji aktivitas senyawa isolat menunjukkan tidak adanya aktivitas terhadap bakteri *E. coli* ATCC 35218 dan *S. aureus* ATCC 25923.

Kata kunci: *Xestospongia*, spons, isolasi, antibakteri, *E. coli*, *S. aureus*

1. Pendahuluan

Terumbu karang merupakan habitat berbagai biota laut untuk tumbuh dan berkembang biak dalam kehidupan yang seimbang. Sifat yang menonjol dari terumbu karang adalah keanekaragamannya yang tinggi, jumlah spesies yang banyak dan bentuk morfologinya yang sangat bervariasi [1]. Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan [2], serta sangat mayoritas ditemukan di belahan timur wilayah Indonesia [3, 4]. Ekstrak metabolit dari spons mengandung senyawa bioaktif yang diketahui mempunyai sifat aktivitas antivirus [5], anti HIV, antiinflamasi, antifungi [6], antileukimia [7], serta antikanker [8].

Jumlah senyawa yang telah didapatkan dari spons laut sekitar 3500 jenis senyawa, yang diambil dari 475 jenis dari dua kelas yaitu Calcarea dan Demospongiae [9]. Salah satu genus kelas *Demospongiae* yaitu *Xestospongia* mempunyai aktivitas antibiotik, antijamur, kardiotonik, sitotoksik, dan antimalaria [10]. Spons laut dari genus *Xestospongia* sp. memiliki berbagai produk metabolit sekunder antara lain alkaloid (xestospongins/araguspongines, aptamines, manzamines, ingenamines,

dan renieramycins), kuinon polisiklik dan hidrokuinon, turunan poliasetilen, amin alkohol, senyawa heterosiklik, dan sterol [10], adociaquinon B [11], β -Carbdine, terpenoid, laktan [9]. Beberapa senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antiplasmodial atau aktivitas vasodilatasi [12].

Keanekaragaman berbagai jenis metabolit sekunder dari *xestospongia* sp. yang telah ditemukan dari penelitian sebelumnya memiliki tantangan besar untuk menjawab berbagai macam permasalahan penyakit. Berbagai macam penyakit ini di sebabkan oleh bakteri dan fungi yang sangat familiar dilingkungan namun memiliki potensi yang tinggi untuk menginfeksi.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam dengan penggantian pelarut. Isolasi dilakukan dengan teknik kromatografi vakum cair (KCV), kromatografi radial (KR) menggunakan fase diam Si-Gel 60 GF (Merck), analisis kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel (Merck Si-Gel

* KBK Farmasi Sains Fakultas Farmasi UHO
Email : sahidin02@yahoo.com

60GF254, 0.25 mm). Pengukuran spektra 1D-NMR (^1H and ^{13}C -NMR) dan 2D-NMR (HMBC, HMQC) menggunakan spektrometer JEOL pada frekuensi 500 MHz (^1H) dan 125 MHz (^{13}C) di Pusat Penelitian Kimia LIPI, Serpong, Indonesia. Bakteri uji diperoleh dari koleksi Laboratorium Farmasi Bahan Alam Universitas Halu Oleo.

2.2 Sampel Spons

Spons *Xestospongia* sp. diperoleh di Taman Pendidikan Laut Bintang Samudra, Kabupaten Konawe ($3^{\circ}53'48.3''\text{S}$ $122^{\circ}36'51.2''\text{E}$). Pengambilan sampel dilengkapi dengan perlengkapan *Self-Contained Underwater Breathing Apparatus* (SCUBA) pada daerah tubir karang (*reef slope*). Spons dipotong 70 % dari volume awal untuk memberikan kesempatan beregenerasi [2].

2.3 Isolasi

Sebanyak 3 kg serbuk kering spons *Xestospongia* sp. dimaserasi dengan metanol selama 3x24 jam di dalam wadah yang tertutup dengan penggantian pelarut. Setelah dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* (Buchi, Switzerland), diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kemerahan sebanyak 173 g. Ekstrak dipisahkan dengan kromatografi cair vakum (25 g, diameter kolom Φ 13,5 cm, fase diam Si-gel 150 g) dengan fase gerak yang ditingkatkan kepolarannya (*n*-heksan:etilasetat, metanol), menghasilkan 18 fraksi yang selanjutnya dikelompokkan ke dalam 6 fraksi gabungan berdasarkan profil KLT. Fraksi 4 dipisahkan lebih lanjut dipisahkan lebih lanjut dengan KCV (diameter kolom Φ 5 cm, fase diam Si-gel 80 g, dan fase gerak etilasetat:*n*-heksan (10-100%, MeOH 100%)) menghasilkan 4 fraksi gabungan. Pemurnian fraksi 4e menggunakan kromatografi radial (KR), fase diam Si-gel PF₂₅₄, fase gerak etilasetat:*n*-heksan (30:70%) menghasilkan padatan putih sebanyak 20 mg.

2.4 Identifikasi

Isolat diperoleh sebagai padatan putih, Spektrum IR (KBr) $\tilde{\nu}_{\text{maks}}$ (cm^{-1}) 2924,59 2954 (*Csp*³-H); 1371,9 (C-C); 1554,7 (C=C); 1057,3 (C-O). Spektrum (^1H -NMR (CDCl₃, 500 MHz): 3,71 (1H, *dd*); 3,41 (1H, *t*, *J*=7,7 Hz); 1,11 (1H, *d*, *J*=6,5 Hz); 0,85 (1H, *d*); 0,7 (1H, *s*); 0,6 (1H, *s*). Spektrum ^{13}C -NMR (CDCl₃, 125 Hz): 39.2, 27.4, 42.7, 67.1, 52.6, 24.6, 32.8, 35.6, 55.5, 44.1, 22.8, 39.9, 43.1, 56.5, 24.6, 28.3, 56.4, 14.7, 12.5, 35.9, 18.9, 36.3, 23.9, 40.9, 28.1, 22.9, 23.3

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji dengan metode difusi Kirby-Bauer. Bakteri uji diinokulasikan dalam media pertumbuhan NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [13]. Masing-masing mikroba disuspensikan pada larutan NaCl fisiologis steril. Suspensi bakteri diukur kekeruhannya sesuai dengan standar 0,5 McFarland menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan larutan NaCl fisiologis sebagai blanko [14, 16]. Sebanyak 1 mL Suspensi bakteri dan fungi dicampurkan ke dalam 15 ml media agar yang telah di cairkan dalam cawan petri steril dan kemudian dibiarkan menjadi padat. Kertas cakram steril dengan diameter 6 mm yang telah ditetaskan zat uji, kontrol negatif (pelarut) dan sebanyak 2 mg kontrol positif [15]. Kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif untuk uji antibakteri. Senyawa isolat dibuat dengan beberapa konsentrasi yaitu 1mg/1mL, 2mg/1mL, 3mg/1mL. Hasil uji daya antibakteri didasarkan pada pengukuran diameter daerah hambat (DDH) pertumbuhan mikroba yang terbentuk di sekeliling kertas cakram [17].

3. Hasil dan Pembahasan

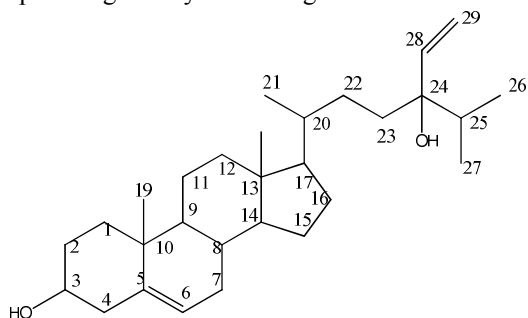
3.1 Isolasi dan Identifikasi

Pengkajian kandungan senyawa metabolit sekunder spons *Xestospongia* sp. dilakukan dengan mengisolasi senyawa yang terkandung dari spons dan menguji aktivitas isolat tersebut sebagai antibakteri. Secara keseluruhan kegiatan penelitian ini terdiri atas tahapan isolasi, identifikasi dan pengujian aktivitas isolat. Spons diperoleh dalam keadaan segar pada daerah tubir karang (*Reef Slope*) dengan kemiringan 70⁰ mengikuti kontur sejajar garis pantai pada kedalaman 10 meter dengan menggunakan peralatan selam *Self Contained Underwater Breathing Apparatus* (SCUBA).

Spons yang diperoleh diekstraksi menggunakan metanol kemudian difraksinasi menggunakan berbagai metode kromatografi sampai diperoleh padatan berwarna putih. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan berbagai teknik spektroskopi. Hasil analisis infra merah (IR) isolat menunjukkan pada serapan 3307,28 cm^{-1} adanya gugus hidroksil (O-H) yang terbaca pada daerah serapan tersebut. Serapan pada daerah vibrasi serapan 2924,59 cm^{-1} menandakan adanya gugus C-H alifatik atau *Csp*³. Daerah serapan pada bilangan gelombang 1371,96 cm^{-1} menandakan adanya gugus C-C dan (C=C) atau *Csp*² terdapat pada daerah serapan 1554,75 cm^{-1} dan pada serapan 1057,35 cm^{-1} terdapat gugus C-O.

Data ^1H -NMR menunjukkan bahwa terdapat 48 proton, 4 diantaranya memiliki geseran kimia yang cukup besar yaitu 5,8; 5,3; 5,1 dan 3,5 ppm. Besaran ini mengindikasikan bahwa proton tersebut memiliki kerapatan elektron yang sangat kecil atau terikat pada

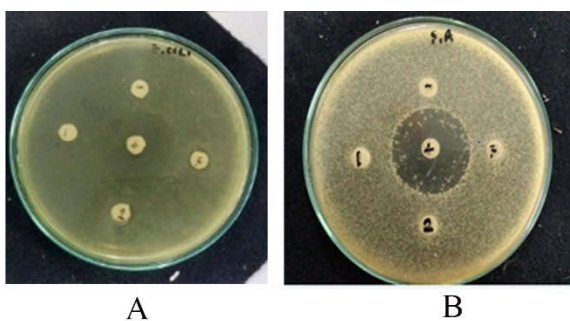
karbon dengan ikatan rangkap. Selain itu, spektrum $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan penumpukkan proton dengan integrasi yang sangat besar. Melalui signal 1D-NMR dapat diperkirakan rumus molekul senyawa isolat yaitu $\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$ dengan DBE (*Double Bond Equivalence*) 6, dimana 4 dari cincin siklik serta 2 dari ikatan rangkap. Hipotesis awal struktur senyawa untuk isolat 2 memiliki kemiripan dengan senyawa sarangosterol.



Gambar 1. Senyawa sarangosterol.

3.2 Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian antibakteri memperlihatkan zona hambat hanya terbentuk pada kontrol positif sedangkan, isolat tidak membentuk zona hambat terhadap bakteri. Tidak adanya aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan nihilnya zona bening yang terbentuk pada media agar. Suatu senyawa dapat bekerja sebagai antibakteri apabila dapat menghambat sintesis dinding sel, mengganggu permeabilitas membran sel, menghambat sintesis protein, menghambat sistesis asam nukleat sel dan menghambat metabolisme mikroba. Selain itu senyawa dengan kerangka spesifik dalam molekulnya dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri suatu senyawa [18].



Gambar 2. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram; (a) *E. coli*; (b) *S. aureus*

4. Kesimpulan

Senyawa yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari ekstrak metanol spons laut *Xestospongia* sp. yaitu sarangosterol yang tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia sebagai penyedia dana penelitian melalui skim Hibah Kompetensi 2016.

Daftar Pustaka

- Sadarun B, Lestari A, Yusuf AA, Leri N, Eric Z. *Petunjuk Pelaksanaan Tranplantasi Karang*. Jakarta: Departemen Kelautan dan Perikanan, 2008.
- Sadarun B, Malaka MH, Wahyuni, Sahidin. Toksisitas Akut Senyawa Metabolit Sekunder dari Spons Laut *Clathria* sp. *Pharmauho*, 2017, **Vol 3(1)**; 6-9
- van Soest RWM. The Indonesia sponge fauna: a status report. *Netherlands Journal of Sea Research*, 1989, **23**; 223-230.
- Soekarno R. Comparative studies on the status of Indonesia coral reefs. *Netherlands Journal of Sea Research*, 1989, **23**, 215-222.
- Munro MHG, Luibrand RT, and Blunt JW. 1989. The Search for Antiviral and Anticancer Compounds from Marine Organisms. Di dalam Scheuer PJ (ed.). *Bioorganic Marine Chemistry*. Volume 1. Springer – Verlag. Hlm 94 – 176.
- Muliani, Suryati E, Tompo A, Parenrengi A, Rosmiati. 1998. Isolasi Bioaktif Bunga Karang Sebagai Fungisida pad Benih Udang Windu *Penaesusmonadon*. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 1989, **V(2)**.
- Soediro IS. *Produk Alam Hayati Bahari dan Prospek Pemanfaatannya di Dunia Farmasi*. Bandung: Penerbit ITB, 1999.
- Bakuni, DS dan Rawat, DS. *Bioactive Marine Natural Products Central, India: Drug Research Institute Lucknow*, 2005.
- van Soest RWM, Braekman JC. *Chemosystematics of Porifera: A Review*, *Memoir of the Queensland Museum*, 1999, **44**: 569 -589.
- Laurent D, Jullian V, Parenty A, Knibiehler M, Dorin D, Schmitt S, Lozach O, Lebouvier N, Frostin M, Alby F, Maurel S, Doerig C, Meijer L, Sauvain M. Antimalarial potential of xestoquinone, a protein kinase inhibitor isolated from a Vanuatu marine sponge *Xestospongia* sp. *Bioorg Med Chem*. 2006 Jul 1; **14(13)**:4477-82.
- Swersey. JC. *Biomedical Importance of Marine Organisms* D.G. Fautin, Ed., *California Academy of Sciences*, San Francisco, 1988.
- Girard E, Jaimovitch E, Vergne C, Almourabit A, Laurent D, Molgo J, *Rencontres en toxicologie. Envenimations, intoxications; Lavoisier*, 2004; pp 141–152
- Assidqi K, Wahyu T, dan Setyawati S. Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri Terhadap *Aeromonas hydrophila* Secara *In Vitro*. *J. of Marine Coast. Sci.*, 2012, **1(2)**:113-124.
- Clinical Laboratory of Standard Institute. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria That Grow Aerobically*, Wayne, PA, Clinical and Laboratory Standard Institute, 2012, **9**, 16-19.

15. Adnyana IK, Yulina E, Sigit JI, Fisheri NK, dan Insanu M, 2004. Efek Ekstrak Daun Jambu Biji Daging Buah Putih dan Jambu Biji Daging Buah Merah Sebagai Antidiare. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. **XXIX (1)**: 2-9.
16. Sutton S. Measurement of Microbial Cells by Optical Density. *J. of Val. Tech.*, 2011, **17**: 46-49
17. Rostinawati T, Suryana S, Fajrin M, Nugrahani H. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm.F) Bedd) Terhadap *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar CLSI M02-A11. *Pharmauho*, 2017, Vol **3(1)**; 1-5.
18. Nogrady T. *Kimia Medisinal: Pendekatan secara Biokimia*, Bandung: Penerbit ITB, 1992.