

Lipid Makroalga *Ceratodictyon spongiosum*: Sebagai Biomarka dan Senyawa Bioaktif

Karaben Ikhtiyana Ikrari, R. Y. Perry Burhan, Agus Wahyudi, Yulfi Zetra, Endah Mutiara Marhaeni Putri

Laboratorium Geokimia Molekuler, Institut Teknologi Sepuluh Nopember,
Sukolilo, Surabaya 60111 Indonesia
E-mail: theikrari@gmail.com

ABSTRAK

Lipid dominan pada makroalga *Ceratodictyon spongiosum* perairan tropis pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur diketahui berupa asam arakhidonoat (1). Senyawa (1) berhasil dipisahkan dari fraksi n-heksana ekstrak metanol menggunakan kromatografi cair – spektroskopi massa. Fraksi n-heksana ekstrak metanol diketahui aktif terhadap bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*. Senyawa (1) dapat digunakan sebagai marka makroalga *Ceratodictyon spongiosum* serta bioaktivitasnya pada perairan tropis.

ABSTRACT

Major lipid of macroalgae *Ceratodictyon spongiosum* from tropic ocean Talango island, Sumenep, Jawa Timur were obtained as arachidonic acid (1). Compound (1) was extracted from n-hexane fraction of methanol extract by liquid chromatography – mass spectrometry. N-hexane fraction of methanol extract was evaluated for antibacterial activity against gram-negative strain *E. coli* and gram-positive strain *S. aureus*. Compound (1) is useful as biomarker of macroalgae *Ceratodictyon spongiosum* and its antibacterial activity in those area.

Kata Kunci: *Ceratodictyon spongiosum*, biomarka, bioaktif, lipid

PENDAHULUAN

Lautan merupakan salah satu ekosistem yang memberikan informasi senyawa bahan alam dengan struktur unik yang terkandung dalam organisme yang hidup di dalamnya [1]. Organisme laut menghasilkan senyawa lipid dan turunannya yang bervariasi dikarenakan karakteristik yang khas dari lingkungan hidup organisme tersebut. Komposisi dan proporsi asam lemak pada organisme laut memiliki karakteristik tertentu bergantung pada spesies, genus, dan keadaan lingkungan. Senyawa bioaktif dari lipid biasanya dalam bentuk asam lemak tidak jenuh jamak (*polyunsaturated fatty acid* / PUFA) [2].

Kondisi lingkungan hidup organisme laut yang bervariasi menyebabkan setiap organisme menghasilkan suatu produk bahan alam yang spesifik dengan peranan yang hanya sesuai untuk masing-masing spesies. Umumnya, produk bahan alam yang dihasilkan digunakan sebagai agen pertahanan. Kemampuan bahan alam sebagai agen pertahanan tersebut dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologis yakni sebagai senyawa penghambat mikroba patogen yang menyebabkan

berbagai macam penyakit pada manusia [3]. Pada perairan tropis, berbagai organisme laut dapat tumbuh dengan baik. Pertumbuhan suatu organisme tertentu dapat mengganggu organisme yang lain, baik sebagai parasit maupun predator. Oleh karena itu, suatu organisme akan menghasilkan suatu senyawa bahan alam spesifik yang bersifat aktif sebagai pertahanan diri dari ancaman organisme lain. Hal ini mendasari hipotesis bahwa senyawa bahan alam yang spesifik untuk setiap organisme dapat menjadi suatu marka bioaktivitasnya.

Salah satu jenis organisme laut adalah makroalga. Makroalga mengandung sterol yang bervariasi strukturnya. Sterol bersama-sama fosfolipid berfungsi sebagai membran yang memiliki kemampuan sebagai pengatur aliran dalam membran, mempengaruhi berbagai fungsi membran dan enzim penghubung membran. Sterol berpotensi sebagai senyawa biomarka dikarenakan kestabilan dan variasi strukturnya [4]. Selain itu, makroalga mengandung asam lemak dengan jenis PUFA antara 10-70% dari total asam lemak. Senyawa PUFA dari makroalga merupakan karakteristik biomarka organisme makroalga yang dapat menjadi pembeda antara satu

jenis alga dengan yang lainnya. Beberapa senyawa PUFA yang ditemukan dalam makroalga antara lain asam arakhidonoat (20:4n-6) dan asam eikosapentaenoat (20:5n-3) yang merupakan prekursor dari bioregulator prostaglandin, tromboksana, dan eikosanoida yang lainnya [5].

Perairan Indonesia merupakan wilayah dengan keanekaragaman hayati yang cukup melimpah, salah satunya adalah perairan pulau Talango, Kabupaten Sumenep. Salah satu jenis organisme laut yang ditemukan di perairan Pulau Talango adalah makroalga *Ceratodictyon spongiosum*. Beberapa senyawa metabolit sekunder dalam makroalga tersebut adalah senyawa isomer heptapeptida siklik dengan thiazol [6], golongan ceramide dan sterol [7], derivat asam piruvat [8], dan ceratodictyols yakni senyawa turunan eter [9]. Keberadaan komponen kimia makroalga *Ceratodictyon spongiosum* disebabkan kebutuhan organisme tersebut untuk mempertahankan diri atau untuk berkembang biak. Lingkungan perairan pulau Talango yang merupakan bagian dari perairan tropis memungkinkan berbagai bakteri untuk berkembang dengan baik. Oleh sebab itu, makroalga yang hidup pada perairan tersebut seharusnya mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat melindunginya dari serangan bakteri (antibakteri). Permasalahannya adalah senyawa metabolit sekunder manakah yang berfungsi sebagai antibakteri bagi makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dan tentunya akan menjadi senyawa biomarka bagi makroalga di perairan dengan karakteristik sama.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah makroalga *Ceratodictyon spongiosum*, metanol, kloroform, *n*-butanol, *n*-heksana, formaldehida, akuades, silica gel (Merck Kiesgel), plat KLT 20 x 20 cm (Merck Kiesgel F₂₅₄).

Peralatan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, pengaduk, pipet tetes, corong pisah, botol penampung, oven, *rotary evaporator*

Buchi Heating Bath B-491, kolom kromatografi, *Selecta Ultrasons-H*, lampu UV 254/366 nm *Desaga Heiidelburg*, instrumen LCMS.

Prosedur

Sampel Makroalga

Sampel makroalga diambil dari pantai selatan pulau Talango, Desa Kombang, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur pada kedalaman antara 1-2 meter menggunakan teknik *snorkeling*. Sampel diidentifikasi taksonomi sampai tingkat spesies di Laboratorium Riset Ekologi Jurusan Biologi, ITS, Surabaya.

Ekstraksi

Seratus gram sampel makroalga basah dipotong kecil-kecil kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol secara bertahap 3 x 500 mL masing-masing didiamkan 3 x 24 jam. Maserat metanol disaring menggunakan kertas saring. Residu dimaserasi menggunakan kloroform 1 x 500 mL selama 3 x 24 jam. Maserat kloroform disaring menggunakan kertas saring. Masing-masing maserat dilakukan evaporasi untuk mendapatkan ekstrak pekat.

Partisi

Ekstrak pekat dari maserat metanol dipartisi dalam corong pisah dengan pelarut *n*-heksana 3x (1:1). Fase *n*-heksana dipisahkan, sedangkan fase metanol dipartisi lagi di corong pisah menggunakan *n*-butanol 3x (1:1). Fase metanol dan fase butanol dipisahkan dan ditampung. Masing-masing fase *n*-heksana dan *n*-butanol dievaporasi. Ekstrak pekat dari maserat kloroform diberi perlakuan sama.

Fraksinasi

Sampel fase *n*-heksana dari maserat metanol maupun kloroform dipisahkan menggunakan kromatografi kolom gravitasi dengan pelarut *n*-heksana:etil asetat:metanol bergradien yang sebelumnya ditentukan melalui kromatografi lapis tipis. Setiap fraksi yang diperoleh dipisahkan menggunakan kromatografi cair – spektroskopi massa di Center for Marine Natural Products and Drugs Discovery, Seoul National University.

Uji Bioaktivitas

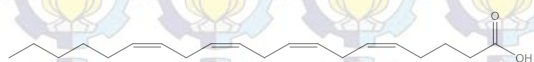
Media pertumbuhan bakteri dibuat dari nutrient broth yang diinokulasi dengan bakteri dan juga agar. Agar dibuat lubang dan diisi sampel yang akan diuji serta kontrol. Cawan agar dibiarkan terdifusi dan diinkubasi. Diameter daerah inhibisi diukur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Lipid Makroalga

Senyawa lipid yang ditemukan dalam ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* perairan pulau Talango adalah asam arachidonoat (1). Senyawa (1) merupakan komponen utama PUFA yang memiliki potensi sebagai senyawa bioaktif [5, 10-11].

Analisa spektrum massa senyawa (1) diketahui menghasilkan puncak [M] dengan intensitas yang sangat rendah namun masih dapat terdeteksi pada m/z 304 dengan pola fragmentasi pada m/z 105, 133, 150, 209.



(1)

Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas ekstrak metanol dan kloroform dilakukan dengan uji antimikroba menggunakan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Ekstrak makroalga dilarutkan pada pelarut *n*-heksana, metanol, dan etil asetat kemudian diujikan pada biakan bakteri menggunakan metode penyebaran (*diffusion*) yaitu metode lubang (*well diffusion method*). Kemampuan hambat atau aktivitas ekstrak diketahui dengan adanya zona bening disekitar lubang pada agar biakan bakteri.

Ekstrak makroalga dalam pelarut *n*-heksana menunjukkan adanya aktivitas hambat bakteri yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar lubang. Ekstrak metanol diketahui memiliki aktivitas hambat pada dua bakteri uji yaitu *E. coli* dan *S. aureus*. Uji antimikroba dari ekstrak metanol makroalga dalam pelarut metanol maupun pelarut etil asetat hanya menunjukkan aktivitas hambat pada bakteri *S. aureus*. Hasil uji antimikroba bakteri *E.*

coli memberikan hasil negatif. Ekstrak kloroform dalam pelarut *n*-heksana, metanol, maupun etil asetat tidak menunjukkan zona bening disekitar lubang. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform tidak memiliki aktivitas hambat bakteri (Tabel 1).

Tabel I. Aktivitas hambat ekstrak makroalga dalam beberapa pelarut pada bakteri uji

| Pelarut | Bakteri | Ekstrak | |
|---------|---------|---------|-----------|
| | | Metanol | Kloroform |
| NH | EC | + | - |
| | SA | + | - |
| EA | EC | - | - |
| | SA | + | - |
| MeOH | EC | - | - |
| | SA | + | - |

NH: *n*-heksana

EA: etil asetat

EC: *E. coli*SA: *S. aureus*

Lipid Sebagai Senyawa Biomarka

Asam lemak merupakan penyusun utama sebagian besar lipid. Beberapa asam lemak berasal dari sumber yang telah diketahui pasti. Hal ini menjadikan asam lemak salah satu senyawa biomarka yang baik [14]. Profil kandungan asam lemak dalam alga tidak bergantung pada letak geografis dan dapat diklasifikasikan berdasarkan tinjauan kemotaksonomi [2]. Berdasarkan tinjauan kemotaksonomi, Rhodophyta kaya dengan PUFA 20:4(n-6) dan 20:5(n-3), Phaeophyta 20:5(n-3) dan 18:4(n-3), sedangkan Chlorophyta dominan dengan 18:3(n-3) [12].

Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* yang merupakan salah satu filum Rhodophyta memiliki kandungan bahan organik PUFA C₂₀ yang dominan sebagai penanda kemotaksonomi. Hasil identifikasi kandungan ekstrak metanol makroalga *Ceratodictyon spongiosum* terdapat senyawa asam arachidonoat (1) yang merupakan PUFA 20:4(n-6). Keberadaan senyawa PUFA 20:4(n-6) menjadi pembeda kandungan bahan organik yang cukup jelas antara 3 filum utama makroalga. Selain itu, senyawa PUFA kelompok (n-6) lebih umum

ditemukan pada makroalga daripada mikroalga [13].

Kemampuan antimikroba ekstrak makroalga bergantung pada spesies dan efisiensi ekstraksi [10]. Ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* diketahui bersifat aktif terhadap bakteri gram negatif maupun positif. Keberadaan senyawa (1) sebagai senyawa biomarka organisme makroalga dalam ekstrak metanol mendukung sebagai penanda antibakteri sanyawa bahan organik makroalga tersebut. Senyawa biomarka tersebut tentunya menjadi senyawa biomarka bagi makroalga *Ceratodictyon spongiosum* di perairan dengan karakteristik yang sama.

KESIMPULAN

Isolasi senyawa metabolit sekunder makroalga *Ceratodictyon spongiosum* dari perairan tropis pulau Talango, Sumenep, Jawa Timur menghasilkan asam arakhidonoat (1). Fraksi *n*-heksana ekstrak metanol aktif sebagai antibakteri pada bakteri gram negatif *E. coli* dan bakteri gram positif *S. aureus*. Senyawa (1) dapat menjadi senyawa biomarka bagi makroalga di perairan dengan karakteristik sama.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada DIKTI atas dana penelitian kerjasama luar negeri dengan Center for Marine Natural Products and Drugs Discovery, Seoul National University.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jha, R. K., and Zi-rong, X., 2004, *Mar. Drugs*, **2**, 123–146.
2. Berge, J.-P., and Barnathan, G., 2005, *Mar. Biotechnol.* **96**, 49–125.
3. Kristanti A. N., Aminah N. S., Tanjung M. and Kurniadi B., 2008, *Buku Ajar Fitokimia.*, Airlangga University Press, Surabaya.
4. Parrish C. C., Abrajano T. A., Budge S. M., Helleur R. J., Hudson E. D., Pulchan K. and Ramos C., 2000, *Handb. Enviromental Chem.* **5**, 193–223.
5. Fleurence J., Gutbier G., Mabeau S. and Leray C., 1994, *J. Appl. Phcology* **6**, 527–532.
6. Tan L. T., Williamson R. T., Gerwick W. H., Watts K. S., McGough K. and Jacobs R., 2000, *J. Org. Chem.* **65**, 419–425.
7. Lo J.-M., Wang W.-L., Chiang Y.-M. and Chen C.-M., 2001, *J. Chin. Chem. Soc.* **48**, 821–826.
8. Bugni T. S., Concepcion G. P., Mangalindan G. C., Harper M. K., James R. D. and Ireland C. M., 2002, *Phytochemistry* **60**, 361–363.
9. Akiyama T., Ueoka R., van Soest R. W. M. and Matsunaga S., 2009, *J. Nat. Prod.* **72**, 1552–1554.
10. Lima-Filho J. V. M., Carvalho A. F. F. U., Freitas S. M. and Melo V. M. M., 2002, *Braz. J. Microbiol.* **33**, 311–313.
11. Lipton A. P., Pramitha V. S. and Jose J. J., 2009, *Isr. J. Aquac.* **61**, 42–47.
12. Graeve M., Kattner G., Wiencke C. and Karsten U., 2002, *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **231**, 67–74.
13. Dalsgaard J., John M. S., Kattner G., Muller-Navarra D. and Hagen W., 2003, *Adv. Mar. Biol.* **46**, 225–340.
14. Nyssen F., Brey T., Dauby P. and Graeve M. (2005) Trophic position of Antarctic amphipods - enhanced analysis by a 2-dimensional biomarker assay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **300**, 135–143