

Senyawa Lipid Spons *Haliclona cymaeformis* sebagai Biomarka dan Aktivitasnya terhadap Mikroba

Ridho Herdhiansyah, Yulfi Zetra dan Zjahra V. Nugraheni
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS)
Jl. Arief Rahman Hakim, Surabaya 60111 Indonesia
e-mail: yzetra@chem.its.ac.id

Abstrak—Perairan Pulau Talango Madura merupakan habitat bagi berbagai invertebrata laut. Spons *Haliclona cymaeformis* adalah salah satu spesies invertebrata laut yang dapat ditemukan di perairan tersebut. Spons *Haliclona cymaeformis* biasanya ditemukan dalam hubungan simbiosis dengan makroalga *Ceratodictyon spongiosum*. Analisis data kromatogram dan spektra massa pada setiap fraksi menunjukkan adanya senyawa lipid golongan fosfolipid dan glikolipid. Senyawa asam fosfatidat (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)) dan fosfatidiletanolamina (2:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)) berpotensi sebagai biomarka. Ekstrak metanol dari spons *Haliclona cymaeformis* menunjukkan potensi aktivitas inhibitor pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Kata Kunci—aktivitas antimikroba; biomarka; *Haliclona cymaeformis*; lipid.

I. PENDAHULUAN

PERAIRAN yang meliputi 70% permukaan bumi merupakan habitat bagi satu hingga dua juta spesies. Keanekaragaman spesies ini terpusat pada pesisir lautan menjadikan wilayah tersebut paling tinggi tingkat produktivitas dan biodiversitasnya. Organisme yang hidup di habitat padat seperti pesisir laut memaksa mereka untuk berevolusi menjadi lebih kompleks dan kompetitif [1]. Evolusi organisme laut telah berlangsung sejak makhluk hidup pertama yang muncul di lautan 3500 juta tahun lalu. Evolusi tersebut melengkapi banyak organisme laut dengan mekanisme untuk dapat bertahan pada suhu ekstrim, perubahan salinitas dan tekanan, serta menahan efek mutasi, bakteri dan virus patogen [2].

Pesisir lautan adalah wilayah ideal untuk habitat organisme laut karena tersedia nutrisi melimpah, cahaya matahari, arus air dan suhu yang mendukung. Organisme laut dibagi menjadi dua berdasarkan gerakannya yaitu sesil yang hidup menetap dan motil yang dapat bergerak aktif. Organisme sesil yang hidup melekat di dasar laut, seperti alga, karang, spons dan invertebrata lain selalu bersaing untuk dapat melekat di posisi tertentu pada habitat ideal tersebut. Akan tetapi, mayoritas invertebrata sesil tidak mempunyai struktur morfologi untuk dapat bertahan dan bersaing dengan sesama spesies sesil maupun motil. Oleh karena itu, invertebrata sesil mengembangkan senyawa metabolit sekunder untuk dapat bertahan dari predator, bersaing dengan spesies lain, dan membantu aktivitas pencernaan. Golongan senyawa metabolit

sekunder yang dihasilkan oleh invertebrata sesil antara lain terpenoid, alkaloid, poliketida, peptida, gula dan steroid [3], [1].

Spons yang termasuk organisme sesil, menghasilkan lebih banyak senyawa metabolit baru yang ditemukan setiap tahunnya bila dibandingkan dengan filum tanaman atau hewan lain dari ekosistem laut. Hal ini menunjukkan bahwa spons adalah organisme yang sangat produktif menghasilkan senyawa dengan beragam struktur melalui proses biosintesis yang khas [4]. Siklus hidup spons laut terkait erat dengan berbagai mikroorganisme sehingga menghasilkan metabolit sekunder yang beragam. Banyak bahan alam turunan dari spons laut seperti halichondrin, discodermolide, hemiasterlin, dan arenastatin-A menunjukkan aktivitas yang baik pada uji farmakologi dan telah diidentifikasi sebagai senyawa utama untuk pengobatan tumor, peradangan, dan penyakit lainnya[5].

Tidak semua bahan alam turunan spons selalu dibiosintesis oleh spons tersebut namun dapat dihasilkan dari bakteri atau mikroorganisme lain yang bersimbiosis atau dimakan melalui sistem *filter feeding* spons. Senyawa asam okadat yang diisolasi dari spons *Halichondria* diketahui merupakan produk dinoflagelata dari genus *Prorocentrum* [5]. Adanya hubungan antara mikroorganisme dan inang (spons) yang dapat menghasilkan suatu senyawa khas merupakan topik yang menarik untuk diteliti. Senyawa-senyawa khas dari hubungan simbiosis tersebut dapat dijadikan sebagai penanda biomarka. Penanda biomarka tersebut dapat menunjukkan hubungan kemotaksonomi dalam suatu ekosistem [6].

Spons *Haliclona cymaeformis* dengan makroalga *Ceratodictyon spongiosum* adalah salah satu bentuk hubungan simbiosis. Simbiosis antara spons dan alga tersebut jarang ditemui dibandingkan dengan mikroorganisme fotosintetik (cyanobacteria, diatom). Simbiosis ini biasanya terjadi pada lingkungan laut yang kurang nutrisi sehingga dua organisme ini dapat memperoleh keuntungan dari pertukaran metabolit [7]. Hubungan simbiosis spons dengan makroalga tersebut dapat diamati dari kenampakan morfologinya. Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* ditunjukkan dengan adanya ramus berwarna hijau yang tumbuh pada cabang-cabang spons *Haliclona cymaeformis* yang berwarna coklat [8]. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa hubungan simbiosis ini dapat menghasilkan senyawa 1-gliserileter yang mempunyai aktivitas

sitotoksik lemah terhadap sel kanker [9], senyawa nortetilapirona yang berguna sebagai antifungi [10] dan senyawa ceratospongamida yang berpotensi sebagai antiradang [11].

Perairan tropis seperti kawasan Indo-Pasifik diketahui mempunyai keanekaragaman hayati hingga sekitar 1000 spesies setiap meter persegi, termasuk didalamnya beraneka ragam spesies spons [2]. Spons *Haliclona cymaeformis* dapat ditemukan pada perairan Thailand, Filipina, Sulawesi dan bagian utara Australia. Spons *Haliclona cymaeformis* pada dua penelitian sebelumnya, ditemukan telah bersimbiosis dengan makroalga *Ceratodictyon spongiosum* seperti yang ditemukan pada perairan Teluk Thailand [10] dan Filipina [12]. Perairan Pulau Talango, Madura merupakan habitat dari beragam invertebrata laut. Spons *Haliclona cymaeformis* dapat ditemukan di perairan tersebut. Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* juga dapat ditemukan di perairan yang sama pada posisi yang berdekatan. Penelitian ini akan mengkaji apakah ada hubungan simbiosis antara spons dengan makroalga tersebut melalui pendekatan biomarka. Pendekatan biomarka dilakukan dengan membandingkan kelompok senyawa yang dihasilkan oleh masing-masing spesies. Uji antimikroba terhadap ekstrak juga dilakukan sebagai pendukung.

II. METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kotak styrofoam, lemari pendingin, neraca analitik, gelas beker, erlenmeyer, gelas ukur, corong pisah, *vaccum rotaryevaporator*, peralatan distilasi, kolom kromatografi, botol vial, cawan petri, lampu UV, instrumen KC-SM Agilent 1200 RRLLC. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel spons *Haliclona cymaeformis*, *dry ice*, formaldehida, metanol, *molecular sieve*, gas nitrogen, n-heksana, etil asetat, plat kromatografi lapis tipis (KLT), *silica gel*, *sea sand*, *aluminium foil*, *nutrient agar*, antibiotik *streptomycin*, serta kultur mikroba *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang didapatkan dari Laboratorium Kimia Mikroorganisme, Jurusan Kimia, FMIPA, ITS.

B. Ekstraksi dan Fraksinasi Senyawa

Sampel spons ditimbang sebanyak 100 g dan dipotong hingga bentuk butiran kecil. Butiran spons dimasukkan dalam erlenmeyer dan diekstraksi dengan metanol. Maserat metanol dipisahkan dengan residu spons menggunakan kertas saring dan dipekatkan dengan *vaccum rotaryevaporator*. Maserat metanol yang telah dipekatkan dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksana dengan rasio (1:1). Dipisahkan lapisan atas (fase n-heksana) dan lapisan bawah (fase metanol). Fase n-heksana dipekatkan dengan *vaccum rotary evaporator*. Pemisahan komponen dari fase n-heksana dilakukan menggunakan kromatografi kolom. Kolom yang akan digunakan dikemas dengan cara kering. Proses elusi dilakukan dengan gradien kepolaran eluen dari pelarut n-

heksana – etil asetat – metanol. Hasil pemisahan kolom dimonitoring dengan plat KLT. Tujuh fraksi hasil kolom diidentifikasi kandungan senyawanya menggunakan kromatografi cair-spektrometri massa (KC-SM)

C. Uji Pendahuluan Antimikroba

Ekstrak n-heksana diuji potensi bioaktivitasnya terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan metode uji kertas cakram. Patogen yang akan digunakan untuk uji antimikroba diinokulasi pada media NA (*Nutrient Agar*) dalam cawan petri selama 24 jam pada suhu 37 °C. Ekstrak n-heksana dilarutkan dalam pelarut n-heksana dan metanol dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm kemudian diaplikasikan pada kertas cakram steril (Whatman, diameter 6 mm). Kertas cakram diletakkan di atas *nutrient agar* dalam cawan petri. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Antibiotik *streptomycin* digunakan sebagai variasi kontrol positif dan masing-masing pelarut sebagai kontrol negatif.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi dan Partisi Spons *Haliclona cymaeformis*

Spesimen invertebrata laut didapatkan dari perairan Pulau Talango, Madura memiliki bentuk bercabang dengan tubuh berwarna coklat dan lunak seperti ditunjukkan oleh Gambar 1. Identifikasi spesimen oleh Laboratorium Ekologi, Jurusan Biologi, ITS menunjukkan bahwa spesimen tersebut merupakan spons laut dengan nama latin *Haliclona cymaeformis* dari famili Chalinidae. Spesies spons ini biasanya hidup bersimbiosis dengan makroalga *Ceratodictyon spongiosum*. Makroalga *Ceratodictyon spongiosum* ditunjukkan dengan adanya ramus berwarna hijau yang tumbuh pada cabang-cabang spons *Haliclona cymaeformis* yang berwarna coklat [8].



Gambar 1 Spesimen spons *Haliclona cymaeformis* dari perairan Pulau Talango Madura

Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan terhadap spons *Haliclona cymaeformis* menggunakan pelarut metanol. Maserasi dipilih karena metode ini sederhana dan tidak perlu dilakukan pemanasan sehingga dapat menghindari penguraian senyawa aktif. Pelarut metanol yang digunakan akan dapat menembus dinding sel spons dan masuk ke rongga sel yang mengandung senyawa metabolit sekunder. Proses difusi dapat terjadi akibat perbedaan konsentrasi dalam sel dengan pelarut

metanol. Difusi tersebut berlangsung hingga dicapai keseimbangan konsentrasi antara dalam dan luar sel. Pelarut metanol akan melarutkan hampir seluruh senyawa metabolit sekunder spons yang bersifat polar maupun non polar. Proses maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam untuk mendapatkan ekstrak maksimal dari sampel sebanyak 200,04 g.

Maserasi pertama dihasilkan ekstrak metanol dengan warna coklat pekat, untuk itu dilakukan maserasi lanjutan menggunakan pelarut yang sama dengan pengulangan dua kali. Hasil ekstrak metanol terakhir berwarna coklat pucat/kuning mengindikasikan sebagian besar senyawa telah terekstrak dalam pelarut metanol. Maserat metanol dipekatkan dengan *rotary evaporator* dalam keadaan vakum untuk dapat menguapkan pelarut dibawah titik didihnya sehingga dapat dihindari kerusakan senyawa terlarut akibat pemanasan berlebih. Ekstrak pekat maserat metanol yang didapatkan adalah 110,07 g.

Maserat metanol hasil ekstraksi yang masih merupakan ekstrak kasar, dipartisi untuk mendapatkan kelompok senyawa dengan perbedaan tingkat polaritas. Ekstraksi cair-cair ini menggunakan dua pelarut yang mempunyai beda polaritas sehingga tidak saling bercampur. Senyawa yang terlarut dalam maserat akan terdistribusi diantara kedua pelarut berdasarkan tingkat polaritasnya. Partisi dilakukan dengan pelarut n-heksana. Ekstrak metanol pekat dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan dengan pelarut n-heksana (1:1) untuk memisahkan komponen senyawa non polar. Corong pisah dikocok dan didiamkan hingga terpisah antara lapisan atas (fase n-heksana) dan lapisan bawah (fase metanol). Partisi ini diulang sampai pelarut n-heksana lebih jernih yang menunjukkan senyawa non polar telah larut ke fase n-heksana. Fase n-heksana pekat dari ekstrak metanol yang diperoleh sebesar 4,75 g.

B. Fraksinasi menggunakan Kromatografi Kolom

Fase n-heksana hasil partisi masih merupakan ekstrak kasar sehingga diperlukan fraksinasi untuk memisahkan ekstrak kasar tersebut menjadi kelompok senyawa sederhana. Pemisahan senyawa dengan kolom kromatografi ini akan dapat terjadi atas dasar perbedaan polaritas. Eluen dipilih dengan gradien kepolaran dari n-heksana 100%, selanjutnya kepolaran ditingkatkan hingga etil asetat 100% dan terakhir eluen metanol 100%. Fraksinasi dengan kolom kromatografi memperoleh 7 fraksi yang dikelompokkan berdasarkan pemisahan warna saat proses elusi berlangsung. Monitoring hasil fraksinasi pada plat KLT dengan eluen n-heksana:etil asetat (4:6) dilakukan untuk mengamati senyawa yang dikandung setiap fraksi berbeda berdasarkan tingkat polaritas. Pengamatan plat KLT dibawah lampu UV (254 nm dan 366 nm) menunjukkan noda yang terpisah antara satu fraksi dengan fraksi lain, seperti ditunjukkan Gambar 2. Fraksi 1 tidak memperlihatkan adanya noda. Noda fraksi 2 berwarna merah muda dan biru yang terelusi hingga dekat batas garis. Fraksi 3 ditunjukkan dengan noda merah yang diikuti dengan noda merah muda dan biru. Fraksi 4 dan 6 tampak sebagai noda merah muda, sedangkan fraksi 5 tidak tampak adanya noda.

Fraksi 7 ditunjukkan oleh noda samar yang memanjang dari titik awal hingga titik akhir berwarna oranye.



Gambar 2 Monitoring hasilkolompada Plat KLT

C. Identifikasi Senyawa menggunakan KC-SM

Fraksi 1-7 hasil fraksinasi kolom kromatografi diidentifikasi menggunakan instrumen KC-SM untuk mengetahui kandungan senyawa masing-masing fraksi. Analisis data komponen senyawa pada kromatogram ion total (TIC) dan spektra massa seluruh fraksi dilakukan menggunakan software *Automated MassSpectral Deconvolution and Identification System* (AMDIS) yang dilengkapi dengan database LipidBlast [13]. Hasil analisis pada masing-masing fraksi menunjukkan kandungan senyawa turunan fosfolipid dan glikolipid. Turunan senyawa tersebut biasanya ditemukan sebagai komponen penyusun membran sel. Tabel 1 menunjukkan hasil identifikasi senyawa dari seluruh fraksi.

Tabel 1 Hasilidentifikasisenyawamenggunakaninstrumen KC-MS

Fraksi	Senyawa
1	Fosfatidiletanolamina (PE) (5:0/19:0)
2	Digalaktosildiasilgliserol (DGDG) (2:0/13:0); DGDG (18:2(2E,4E)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)); PE (7:0/16:0)
3	Asam fosfatidat (PA) (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)); PE (3:0/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z))
4	PA (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)); PE (2:0/18:4(6Z,9Z,12Z,15Z))
5	PA (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)); PE (2:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))
6	Liso fosfatidilkolin (PC) (18:1(11E)); DGDG (16:1(7Z)/18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)); PE (2:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))
7	PE (2:0/8:0); PA (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)); PE (2:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z))

D. Uji Pendahuluan Antimikroba

Uji pendahuluan antimikroba dilakukan untuk mengetahui potensi bioaktivitas ekstrak spons *Haliclona cymaeformis*. Fase n-heksana hasil partisi maserat metanol digunakan untuk uji antimikroba terhadap dua kultur mikroba. *Staphylococcus*

aureus sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif. Metode difusi agar digunakan karena memiliki tingkat ketelitian cukup tinggi dengan metodologi sederhana. Daya hambat ekstrak spons *Haliclona cymaeformis* ini dapat diketahui dari diameter area yang lebih jernih. Koloni mikroba ditunjukkan dengan kekeruhan pada media agar. Fase pekat n-heksana dilarutkan dengan dua macam pelarut yaitu n-heksana dan metanol. Antibiotik streptomycin digunakan sebagai kontrol positif, sedangkan kontrol negatif menggunakan masing-masing pelarut. Tabel 2 menunjukkan zona hambat masing-masing sampel uji.

Tabel 2 Pengamatan zona hambat di sekitar kertascakram

Sampel	Zona Hambat (mm)			
	Metanol		n-Heksana	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Ekstrak <i>H. cymaeformis</i>	14	9,5	6,5	0
Streptomycin (kontrol +)	19,5	20	19	18,5
Pelarut (kontrol -)	11,5	0	0	0

Berdasarkan zona hambat yang terbentuk diketahui bahwa ekstrak *Haliclona cymaeformis* mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik streptomycin, baik dengan pelarut metanol maupun n-heksana. Daya hambat pertumbuhan mikroba dengan pelarut metanol menunjukkan aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan pelarut n-heksana, bahkan metanol sebagai kontrol negatif mempunyai daya hambat terhadap mikroba. Senyawa metabolit dari ekstrak spons *Haliclona cymaeformis* lebih mudah larut dalam metanol sehingga mempunyai efek inhibitor pertumbuhan bakteri lebih baik. Pelarut metanol juga cenderung mempunyai daya hambat terhadap bakteri apabila metanol tersebut berkonsentrasi tinggi, seperti yang terlihat pada kontrol negatif metanol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemampuan daya hambat tersebut dapat dikurangi apabila digunakan pelarut metanol dengan konsentrasi lebih rendah [14].

Tabel 2 menunjukkan aktivitas hambat yang lebih baik pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* mempunyai struktur dinding sel yang tebal sekitar 15–80 nm dan berlapis tunggal. Dinding sel tersebut memiliki kandungan lipid yang rendah dan 90 % berat dinding sel merupakan peptidoglikan. *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif mempunyai struktur dinding sel tipis (10-15 nm), berlapis tiga (lipopolisakarida, lipoprotein, dan peptidoglikan) dengan kandungan lipid tinggi. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak *Haliclona cymaeformis* dapat menyebabkan kerusakan pada dinding bakteri gram positif dengan mekanisme peningkatan permeabilitas membran sel yang menyebabkan keluarnya materi intraseluler [15]. Tiga lapis dinding sel pada bakteri gram negatif lebih tahan

terhadap aktivitas inhibitor ekstrak karena adanya mekanisme seleksi zat-zat asing pada lapisan lipopolisakarida [16].

Senyawa golongan fosfolipid dan glikolipid telah terbukti mempunyai potensi bioaktivitas. Senyawa fosfolipid yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus subtilis* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan gram negatif dengan daya inhibitor paling baik pada *S. aureus* [17]. Senyawa glikolipid seperti caminosida yang diisolasi dari spons *Caminus sphaeroconia* juga mempunyai kemampuan hambat bakteri, namun terbatas pada bakteri gram positif [18]. Rujukan [19] memaparkan bahwa potensi bioaktivitas senyawa fosfolipid berkaitan dengan asam lemak yang terasilasi pada struktur senyawa tersebut, terutama asam lemak tak jenuh jamak.

IV. KAJIAN LIPID, BIOMARKA DAN BIOAKTIVITAS

Interpretasi data kromatogram ion total beserta spektra massa masing-masing dari hasil analisis menggunakan instrumen KC-SM, diketahui bahwa golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol spons *Haliclona cymaeformis* adalah lipid. Secara umum ada dua kelompok senyawa lipid yang terkandung dalam setiap fraksi, yaitu fosfolipid dan glikolipid. Dua golongan lipid tersebut adalah penyusun utama membran biologis. Beberapa senyawa fosfolipid tersebut antara lain fosfatidiletanolamina (PE), asam fosfatidat (PA), dan fosfatidilkolin (PC). Sedangkan satu senyawa glikolipid adalah digalaktosildiasilgliserol (DGDG). Senyawa PE adalah kelompok senyawa yang paling banyak ditemukan pada setiap fraksi. Hal ini bersesuaian dengan pernyataan yang dikemukakan oleh rujukan [20] bahwa senyawa PE adalah penyusun utama fosfolipid spons laut. Kelimpahan senyawa PE akan mendukung densitas membran sel karena adanya ikatan hidrogen antara gugus-gugus etanolamina. Membran ini menjadikan spons mampu beradaptasi dengan lingkungan laut dengan perubahan suhu ekstrim, perubahan salinitas dan tekanan, serta menahan efek mutasi, bakteri dan virus patogen. Adaptasi yang dilakukan spons akan menyesuaikan habitat dimana spons tersebut melekat, sehingga metabolit sekunder yang dihasilkan juga akan berbeda [20]. Senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh spons *Haliclona cymaeformis* di habitat perairan Pulau Talango, Madura ini berbeda dengan spesimen *Haliclona cymaeformis* yang diteliti dari perairan lain [9], [10], [11], [12] karena bentuk adaptasi yang berbeda.

Perbandingan dengan senyawa hasil identifikasi dari ekstrak makroalga *Ceratodictyon spongiosum* yang diambil dari perairan yang sama, menunjukkan adanya kesamaan kelompok senyawa, yaitu fosfolipid dan glikolipid [21]. Dua spesies ini ditemukan pada posisi berbeda dalam radius 10 m di perairan Pulau Talango, Madura. Hubungan simbiosis antara spons *Haliclona cymaeformis* dan makroalga *Ceratodictyon spongiosum* belum dapat dipastikan melalui kemiripan kelompok senyawa. Pengamatan secara visual pada morfologi spons *Haliclona cymaeformis* juga tidak ditemukan adanya ramus hijau milik makroalga *Ceratodictyon*

spongiosum. Senyawa fosfolipid dan glikolipid merupakan penyusun utama membran spons dan makroalga. Senyawa glikolipid (DGDG) (2:0/13:0) dan DGDG (18:2(2E,4E)/20:5(5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)) adalah senyawa yang dapat ditemukan pada masing-masing ekstrak spons dan makroalga ini. Kedua spesies tersebut dapat menghasilkan senyawa yang sama karena keduanya beradaptasi pada habitat yang sama dan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang identik sebagai mekanisme pertahanan diri.

Senyawa yang dipilih sebagai biomarka makroalga *Ceratodictyon spongiosum* adalah asam arakhidonat (C20:4(n-6)). Senyawa tersebut merupakan asam lemak tak jenuh jamak yang menjadi pembeda kandungan bahan organik antara 3 filum utama makroalga yaitu, Rhodophyta kaya dengan PUFA C20:4(n-6) dan C20:5(n-3), Phaeophyta C20:5(n-3) dan C18:4(n-3), sedangkan Chlorophyta dominan dengan C18:3(n-3) [21]. Asam lemak dalam organisme hidup merupakan gugus asil yang terikat pada struktur kompleks lipid. Organisme hidup hanya mempunyai sedikit asam lemak bebas. Dalam struktur fosfolipid dan glikolipid yang diperoleh dari ekstrak spons ini, ditemukan asam lemak beragam jenis yang terasili pada posisi sn-1 maupun sn-2. Asam lemak yang dibiosintesis dalam spons bergantung pada makanan yang dimakan dan mikroorganisme yang hidup bersimbiosis. Oleh karena itu, komposisi asam lemak yang terekstrak dari spons berkaitan dengan komposisi asam lemak dari makanan dan mikroorganisme simbiotiknya. Adanya keterkaitan tersebut membuat asam lemak dapat dijadikan suatu biomarka [22]. Apabila diamati pada setiap fraksi yang dianalisis, asam lemak khas yang sering ditemukan adalah C18:3(6Z,9Z,12Z) dan C22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z). Asam lemak C18:3(6Z,9Z,12Z) terasili pada struktur asam fosfatidat (PA) dan asam lemak C22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z) pada struktur fosfatidiletanolamina (PE). Berdasarkan analisis struktur yang dilakukan, maka kemungkinan dua senyawa tersebut merupakan biomarka untuk spesies *Haliclona cymaeformis* ini.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Analisis yang dilakukan terhadap fase n-heksana dari ekstrak metanol spons *Haliclona cymaeformis* menunjukkan bahwa ekstrak spons ini mengandung lipid golongan fosfolipid dan glikolipid. Beberapa kelompok senyawa yang termasuk fosfolipid adalah asam fosfatidat (PA), fosfatidilkolin (PC), dan fosfatidiletanolamina (PE). Sedangkan satu senyawa glikolipid adalah digalaktosildiasilgliserol (DGDG). Senyawa asam fosfatidat (3:0/18:3(6Z,9Z,12Z)) dan fosfatidiletanolamina (2:0/22:5(4Z,7Z,10Z,13Z,16Z)) merupakan dua senyawa yang banyak ditemukan pada setiap fraksinya dan berpotensi digunakan sebagai biomarka.

Uji bioaktivitas yang dilakukan terhadap ekstrak spons *Haliclona cymaeformis* dari perairan Pulau Talango, Madura menunjukkan adanya aktivitas inhibitor terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan gram negatif *Escherichia*

coli.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjut terhadap fraksi lain untuk proses ekstraksi spons *Haliclona cymaeformis* untuk mengetahui hubungan simbiosis dengan makroalga *Ceratodictyon spongiosum* melalui pendekatan biomarka.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DIKTI atas dana penelitian dan Center for Marine Natural Products and Drugs Discovery, Seoul National University atas kerjasama dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Simmons T. L., Andrianasolo E., McPhail K., Flatt P. dan Gerwick W. H. (2005) Marine Natural Products as Anticancer Drugs. *Mol Cancer Ther* 4, 333–342.
- [2] Thakur N. L., Thakur A. N. dan Muller W. E. G. (2005) Marine Natural Products in Drug Discovery. *Nat. Prod. Rad* 4, 471–477.
- [3] Hussain M. S., Fareed S., Ansari S. dan Khan M. S. (2012) Marine Natural Products: A Lead for Anticancer. *Indian J. Geo-Mar. Sci.* 41, 27–39.
- [4] Taylor M. W., Radax R., Steger D. dan Wagner M. (2007) Sponge-Associated Microorganisms: Evolution, Ecology, and Biotechnological Potential. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71, 295–347.
- [5] Ebada S. S. dan Proksch P. (2012) The Chemistry of Marine Sponges. In *Handbook of Marine Natural Products* (ed. E. Fattorusso). Springer, London. p. 191.
- [6] Bergé J.-P. dan Barnathan G. (2005) Fatty Acids from Lipids of Marine Organisms: Molecular Biodiversity, Roles as Biomarkers, Biologically Active Compounds, and Economical Aspects. *Adv. Biochem. Engin./Biotechnol.* 96, 49–125.
- [7] Azzini F., Calcinaï B., Cerrano C. dan Pansini M. (2008) Symbiotic Associations of Sponges and Macroalgae: The Case of *Haliclona (Gellius) cymaeformis* and *Ceratodictyon spongiosum* from the Ha Long Bay (Vietnam). *Biol. Mar. Mediterr.* 15, 248–249.
- [8] Trautman D. A., Hinde R. dan Borowitzka M. A. (2000) Population dynamics of an association between a coral reef sponge and a red macroalga. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 244, 87–105.
- [9] Akiyama T., Ueoka R., van Soest R. dan Matsunaga S. (2009) Ceratodictyols, 1-Glyceryl Ethers from the Red Alga-Sponge Association *Ceratodictyon spongiosum/Haliclona cymaeformis*. *J. Nat. Prod.* 72, 1552–1554.
- [10] Wattanadilok R., Sawangwong P., Rodrigues C., Cidade H., Pinto M., Pinto E., Silva A. dan Kijjoa A. (2007) Antifungal Activity Evaluation of the Constituents of *Haliclona baeri* and *Haliclona cymaeformis*, Collected from the Gulf of Thailand. *Mar. Drugs* 5, 40–51.
- [11] Tan L. T., Williamson R. T., Gerwick W. H., Watts K. S., McGough K. dan Jacobs R. (2000) cis,cis- and trans,trans-Ceratospongamide, New Bioactive Cyclic Heptapeptides from the Indonesian Red Alga *Ceratodictyon spongiosum* and Symbiotic Sponge *Sigmatocia symbiotica*. *J. Org. Chem.* 65, 419–425.
- [12] Bugni T. S., Concepcion G. P., Mangalindan G. C., Harper M. K., James R. D. dan Ireland C. M. (2002) p-Sulfooxyphenylpyruvic acid from the Red Macro Alga *Ceratodictyon spongiosum* and its Sponge Symbiont *Haliclona cymaeformis*. *Phytochemistry* 60, 361–363.
- [13] Kind T., Liu K.-H., Lee D. Y., DeFelice B., Meissen J. K. dan Fiehn O. (2013) LipidBlast in silico tandem mass spectrometry database for lipid identification. *Nat. Methods* 10, 755–758.
- [14] Wadhvani T., Desai K., Patel D., Lawani D., Bahale P., Joshi P. dan Kothari V. (2008) Effect of various solvents on bacterial growth in context of determining MIC of various antimicrobials. *Internet J. Microbiol.* 7.
- [15] Judianti O. W. D., Fiqri M. M., Ansyori M. K. dan Trimulyono G. (2014) Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri yang Berasosiasi dengan

- Spons Demospongiae dari Pantai Paciran Lamongan. Sains Mat. 2, 49–53.
- [16] Zuhud E. A. M., Rahayu W. P., Wijaya C. H. dan Sari P. P. (2001) Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kedawung (*Parkia roxburghii* G. Don) terhadap Bakteri Patogen. J. Teknol. dan Ind. Pangan 12, 6–12.
- [17] More S. M., Shinde V. A., Saiqua K., Girde A. V. dan Pawar V. N. (2012) Antimicrobial Activity of Phospholipid Compound Produced by Acidophilic *Bacillus subtilis* Isolated from Lonar Lake, Buldhana, India. Res. J. Recent Sci. 1, 22–26.
- [18] Linington R. G., Robertson M., Gauthier A., Finlay B. B., MacMillan J. B., Molinski T. F., Soest R. van dan Andersen R. J. (2006) Caminosides B-D, Antimicrobial Glycolipids Isolated from the Marine Sponge *Caminus sphaeroconia*. J. Nat. Prod. 69, 173–177.
- [19] Khaselev N. dan Murphy R. C. (1999) Susceptibility of plasmemyl glycerophosphoethanolamine lipids containing arachidonate to oxidative degradation. Free Radic. Biol. Med. 26, 275–284.
- [20] Djerassi C. dan Lam W.-K. (1991) Sponge Phospholipids. Acc. Chem. Res 24, 69–75.
- [21] Ikrari K. I. (2015) Lipid Makroalga *Ceratodictyon spongiosum*: sebagai Biomarka dan Senyawa Bioaktif. Skripsi, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- [22] Rod'kina S. A. (2005) Fatty Acids and Other Lipids of Marine Sponges. Russ. J. Mar. Biol. 31, 49–60.