

## SKRINING SENYAWA BIOAKTIF EKSTRAK METANOL DARI KARANG LUNAK ALCYONIIDAE

Muhammad Nursid, Ifah Munifah, dan Hedi Indra Januar<sup>\*)</sup>

### ABSTRAK

Skrining senyawa bioaktif ekstrak metanol dari karang lunak familia Alcyoniidae telah dilakukan. Uji hayati dilakukan terhadap ekstrak metanol dari 4 jenis karang lunak yaitu *Sinularia leptoclados*, *Lobophytum pauciflorum*, *Lobophytum A* dan *Lobophytum B*. Skrining dilakukan dengan menggunakan 3 jenis uji hayati yaitu uji toksisitas metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), uji sitotoksitas menggunakan sel kanker HeLa dengan metode uji 3-[4,5-dimethylthiazol-2yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay), dan uji antibakteri menggunakan metode agar difusi. Bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus mutan*. Hasil uji BST menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari *Lobophytum A* dan *Lobophytum B* bersifat toksik dengan  $LC_{50} < 100$  ppm. Hasil uji MTT memperlihatkan bahwa *Lobophytum B* memiliki efek sitotoksik yang paling baik dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar 27,86 ppm. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa dari 4 jenis karang lunak yang diskining tidak satupun memiliki aktivitas antibakteri.

**ABSTRACT:** Screening on bioactive compounds of methanol extract from the Alcyoniidae soft coral. By: Muhammad Nursid, Ifah Munifah, and Hedi Indra Januar

Screening on bioactive compounds of methanol extract from the soft coral Alcyoniidae have been done. Bioassay was conducted on 4 soft coral methanol extract including *Sinularia leptoclados*, *Lobophytum pauciflorum*, *Lobophytum A* and *Lobophytum B*. Screening was performed applying three bioassay methods namely *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT), cytotoxicity test against HeLa cancer cell-line using 3-[4,5-dimethylthiazol-2yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay (MTT assay) and antibacterial test using agar diffusion method. The target bacteria were *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus mutan*. BSLT result showed that *Lobophytum A* and *Lobophytum B* had toxic effect with the  $LC_{50}$  values of below 100 ppm. MTT assay indicated that *Lobophytum B* had the highest cytotoxicity with  $LC_{50}$  of 27.86 ppm. None of the tested extract showed antibacterial activity.

**KEYWORDS:** cytotoxicity, antibacterial, Alcyoniidae, bioactive methanol extract

### PENDAHULUAN

Karang lunak (filum Cnidaria) merupakan kelompok hewan invertebrata yang melimpah dan beragam pada ekosistem terumbu karang. Menurut Colin & Arneson (1995), terminologi karang lunak (*soft coral*) biasanya merujuk pada kelompok anak kelas Alyconaria (Octocorallia). Kelompok ini memiliki morfologi, warna, dan ukuran yang bervariasi. Filum Cnidaria pada umumnya memiliki tentakel yang dilengkapi organ penyengat khas yang disebut nematosit atau cnidosit (Tursch *et al.*, 1995). Salah satu familia yang terdapat pada anak kelas Alyconaria adalah Alcyoniidae. Genera yang umum ditemukan dari karang lunak Alcyoniidae adalah *Dendronephthya*, *Sinularia*, *Lobophytum*, *Cladiella* dan *Sarcophyton*. Colin & Arneson (1995) menyatakan bahwa genera ini umum

dijumpai pada ekosistem terumbu karang karena memiliki kemampuan tumbuh yang lebih cepat dibanding karang keras (*stony corals*).

Interaksi biota laut dalam suatu ekosistem berjalan sangat kompleks dan dinamis. Menurut Widjhati *et al.* (2004), salah satu cara yang ditempuh oleh biota laut dalam rangka mempertahankan hidupnya adalah dengan memproduksi senyawa metabolit sekunder. Makna ekologis dari senyawa metabolit sekunder salah satunya adalah sebagai perisai untuk melindungi diri dari musuh atau kompetitornya (Pawlik, 1993; Pisut & Pawlik, 2002). Senyawa metabolit sekunder ini umumnya bermanfaat bagi manusia sebagai senyawa bioaktif yang bernilai tinggi.

Eksplorasi produk alami lautan sebagai bahan obat saat ini semakin intensif dilakukan. Cnidaria

<sup>\*)</sup> Peneliti pada Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan

menduduki rangking ke dua setelah sponge (*filum Porifera*) sebagai obyek studi (Munro *et al.*, 1999). Banyak senyawa dari organisme laut yang menunjukkan aktivitas farmakologis sebagai senyawa anti kanker, anti *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), analgesik, anti peradangan dan lain-lain (Jha & Zi-rong, 2004). Eksplorasi karang lunak Alcyoniidae untuk tujuan farmakologis sudah dilakukan misalnya oleh Rashid *et al.* (2000) yang meneliti *Lobophytum* sp. sebagai penghambat virus HIV, Vanisree *et al.* (2000) melakukan eksplorasi karang lunak dari *Lobophytum denticulatum* dan *L. strictum* sebagai antibiotik serta Hirono *et al.* (2003) yang meneliti aktivitas antiparasit dari karang lunak *Sinularia* sp.

Salah satu perairan di Indonesia yang sangat potensial sebagai sumber senyawa obat adalah perairan Karimunjawa yang terletak di sebelah Utara Pulau Jawa, tepatnya di Kabupaten Jepara. Perairan ini berstatus sebagai kawasan konservasi dengan nama Balai Taman Nasional Laut Karimunjawa. Hasil survai pendahuluan menunjukkan bahwa perairan ini kaya dengan berbagai jenis invertebrata laut seperti Porifera, Cnidaria, Echinodermata, dan Mollusca. Biota-biota tersebut umumnya hidup pada daerah hamparan terumbu (*reef flat*) di sekitar pulau-pulau yang terdapat di perairan Karimunjawa. Eksplorasi biota yang ada di perairan Karimunjawa sebagai sumber senyawa bioaktif belum banyak dilakukan. Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian tentang senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh biota laut yang hidup di perairan ini khususnya karang lunak perlu untuk dilakukan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui toksisitas, sitotoksitas, dan aktivitas antibakteri karang lunak Alcyoniidae yang diambil dari perairan Karimunjawa, Kabupaten Jepara, Jawa Tengah.

## BAHAN DAN METODE

### Pengambilan Contoh, Identifikasi dan Ekstraksi

Karang lunak Alcyoniidae diambil dari ekosistem terumbu karang di perairan Karimunjawa. Perairan Karimunjawa terletak di sebelah utara Pulau Jawa pada posisi 6°50' Lintang Selatan dan 105° 5' Bujur Timur. Kawasan ini terdiri atas gugusan pulau-pulau kecil yang dikelilingi oleh laut dangkal membentuk suatu ekosistem terumbu karang yang sangat menarik. Ekosistem ini terbentuk karena adanya hamparan terumbu yang terdapat di sekitar pulau. Pengambilan contoh dilakukan di sekitar perairan pulau Menjangan Kecil, Bengkoang dan Karawang. Contoh diambil pada kedalaman 5–15 meter dengan *Scuba Diving*.

Contoh yang diperoleh ditimbang lalu dimasukkan ke dalam kantong plastik yang telah berisi larutan metanol teknis. Identifikasi dilakukan menurut Colin & Arneson (1995), Alderslade (2003), dan Benayahu *et al.* (2004). Identifikasi spesimen dilakukan sampai ke takson yang paling memungkinkan.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Contoh dipotong-potong lalu dimasukkan ke dalam larutan metanol dan direndam selama 12 jam. Proses maserasi ini dilakukan sampai 3 kali. Larutan yang diperoleh dievaporasi dengan *Buchi Rotavapor*. Setelah pelarut kering sisa air yang masih terdapat pada ekstrak dikeringkan dengan pengering beku (*freeze dryer*) sampai diperoleh ekstrak berbentuk bubuk.

### Uji Toksisitas Menggunakan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Uji BSLT dilakukan menurut metode McLaughlin & Rogers (1998). Uji BSLT merupakan uji pendahuluan untuk memprediksi toksisitas suatu bahan dan digunakan untuk mendeteksi toksin *fungi*, logam berat, toksin sianobakteria, dan aktivitas pestisida. Uji ini juga dilakukan untuk menskrining aktivitas farmakologis pada produk alami laut (Carballo *et al.*, 2002; Guerrero & Guzman, 2004). Suatu ekstrak dianggap aktif apabila memiliki nilai  $LC_{50}$  sama dengan atau dibawah 100 ppm (Guerrero & Guzman, 2004).

Hewan yang digunakan dalam uji ini adalah larva *Artemia salina*. Telur *A. salina* yang digunakan berasal dari telur yang tersedia secara komersial di pasaran (merek ARTEMIA). Mula-mula telur *A. salina* ditetaskan di dalam air laut buatan (38 g garam dapur dalam 1000 ml air biasa) dan ditempatkan di bawah lampu TL 40 watt. Setelah 48 jam telur menetas menjadi nauplii instar III/IV dan siap digunakan sebagai hewan uji. Sepuluh larva *A. salina* dimasukkan ke dalam vial yang telah berisi ekstrak sampel dengan konsentrasi 5, 50, 250 dan 1000 ppm dan ditambahkan air laut buatan sampai volume 10 ml. Air laut buatan tanpa pemberian ekstrak (0 ppm) digunakan sebagai kontrol. Setiap perlakuan serta kontrol dibuat tiga ulangan. Semua vial diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam di bawah penerangan lampu TL 40 watt. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah *A. salina* yang mati pada tiap konsentrasi.

### Uji Sitotoksik Ekstrak Metanol terhadap Sel Kanker HeLa

Uji sitotoksitas dilakukan dengan metode MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] (*MTT assay*). *MTT assay* merupakan salah satu uji kolorimetri yang didasarkan atas pemecahan

garam tetrazolium (MTT) yang berwarna kuning dan larut dalam air menjadi biru-formazan yang tidak larut dalam air. Pemecahan MTT terjadi pada mitokondria sel yang hidup oleh enzim suksinat dehidrogenase. Absorbansi yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi biru-formazan dalam pelarut organik misalnya isopropanol. Semakin tinggi absorbansi yang dihasilkan, maka semakin banyak sel yang hidup (viabilitasnya tinggi) (Hughes & Mehmet, 2003).

Sel tumor HeLa diperoleh dari koleksi Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Sel HeLa dikultur dalam medium RPMI 1640 lengkap, *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10%, fungison 0,5%, dan penisilin-streptomisin 2%.

Ekstrak yang akan diuji dibuat dengan seri konsentrasi 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm dengan 3 kali ulangan. Larutan ekstrak dimasukkan ke dalam *microplate* 96 sumuran sebanyak 100  $\mu$ L. Sel HeLa (jumlah sel HeLa yang digunakan  $3 \times 10^4$  sel/ml) dimasukkan ke dalam tiap sumuran sebanyak 100  $\mu$ L. Kontrol yang digunakan ada 3 jenis yaitu kontrol sel (100  $\mu$ L sel + 100  $\mu$ L media), kontrol sampel (100  $\mu$ L ekstrak + 100  $\mu$ L media) dan kontrol media (200  $\mu$ L media). *Microplate* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan aliran CO<sub>2</sub> 5 ml/menit. Setelah 24 jam ditambahkan MTT sebanyak 10  $\mu$ L ke dalam tiap sumuran. *Microplate* diinkubasi kembali pada inkubator CO<sub>2</sub> selama 4 jam, kemudian reaksi MTT dihentikan dengan cara menambahkan 100  $\mu$ L sodium dodesil sulfat (SDS) 10%. *Microplate* diinkubasi kembali selama 12 jam pada suhu kamar. Setelah 12 jam, absorbansi tiap sumuran dibaca dengan spektrofotometer *ELISA plate reader* pada panjang gelombang 560 nm.

### Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi ekstrak sebagai senyawa antibiotik. Dalam penelitian ini digunakan 6 bakteri patogen yaitu *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus mutan*. Kultur bakteri tersebut diperoleh dari Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Bahan-bahan yang diperlukan sebagai media kultur bakteri adalah 3 g *beef extract*, 5 g pepton, 15 g agar dan 1000 ml akuades. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dengan akuades sampai homogen kemudian disterilisasi.

Kepadatan setiap jenis bakteri adalah 10<sup>6</sup> sel/ml. Sebanyak 20  $\mu$ L bakteri dimasukkan ke dalam 15 ml media agar, kemudian dihomogenkan. Setelah campuran bakteri homogen, campuran dimasukkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan selama sekitar

15 menit. *Paper disc* yang digunakan dalam uji ditetesi dengan 20  $\mu$ L larutan ekstrak yang memiliki konsentrasi 10, 20, 40, dan 50 mg/ml kemudian dibiarkan beberapa saat sampai kering. *Paper disc* yang sudah kering diletakkan ke dalam cawan petri yang sudah berisi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C. Pengamatan zona hambatan dilakukan setelah 24 jam.

### Analisis Data

Aktivitas antibakteri dilihat dengan mengukur diameter zona hambatan pertumbuhan yang terjadi setelah inkubasi 24 jam. Untuk uji BSLT, kematian larva dihitung berdasarkan metoda Harmita & Radji (2004) dengan rumus  $B-C/D \times 100\%$ , dimana B adalah jumlah larva yang mati, C adalah jumlah larva yang mati pada kontrol (0 ppm ekstrak) dan D adalah jumlah larva yang diujikan.

Kematian sel HeLa dihitung berdasarkan besarnya viabilitas sel akibat pengaruh pemberian ekstrak. Semakin tinggi viabilitas sel, maka sel yang mati dianggap semakin sedikit. Penentuan persentase kematian sel dihitung berdasarkan rumus  $(A-B)/A \times 100\%$ , dimana A adalah jumlah sel yang hidup (viabel) pada sumuran tanpa perlakuan ekstrak (kontrol sel) dan B adalah jumlah sel hidup pada sumuran yang diberi ekstrak uji. Perhitungan nilai LC<sub>50</sub> (dalam satuan  $\mu$ g/ml atau ppm) dari uji BSLT dan uji sitotoksik dilakukan dengan menggunakan analisis probit menurut Harmita & Radji (2004). Persentase kematian *A. salina* dan sel HeLa dikonversi menjadi nilai probit. Nilai probit versus log konsentrasi diplotkan pada sumbu x dan y untuk mencari nilai LC<sub>50</sub>.

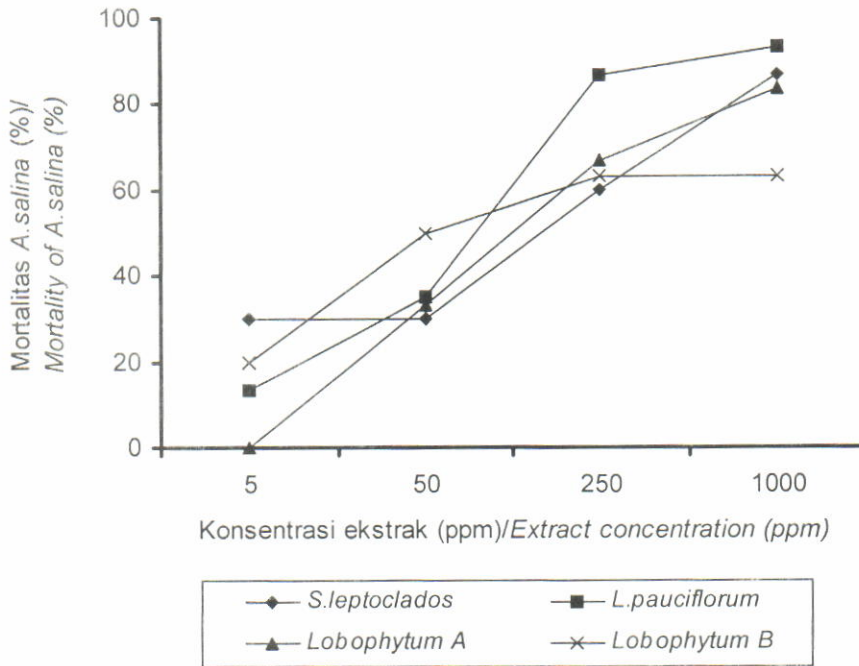
## HASIL DAN BAHASAN

### Identifikasi Spesimen

Karang lunak dari familia Alcyoniidae yang berhasil dikoleksi dari Perairan Karimunjawa sebanyak 4 spesimen. Keempat spesimen tersebut adalah *Sinularia leptoclados*, *Lobophytum pauciflorum*, dan 2 spesimen *Lobophytum* yang belum diketahui nama spesiesnya. Untuk membedakannya dalam pembahasan ini disebut dengan *Lobophytum A* dan *Lobophytum B*.

### Toksisitas terhadap *Artemia salina*

Mortalitas larva *A. salina* setelah pemberian ekstrak metanol selama 24 jam disajikan pada Gambar 1. Karang lunak jenis *Lobophytum B* mampu mematikan 50% larva uji pada konsentrasi 50 ppm, sedangkan ketiga jenis lainnya hanya mematikan sekitar 30% hewan uji pada konsentrasi 50 ppm. Larva



Gambar 1. Mortalitas larva *Artemia salina* setelah terpapar ekstrak metanol dari empat jenis karang lunak selama 24 jam.

Figure 1. Mortality of *Artemia salina* larvae after being exposed to the methanol extract of four soft coral species for 24 hours.

*A. salina* yang mati pada kontrol (0 ppm) berjumlah 2 ekor dari 30 larva yang diujikan (6,7%). Jumlah larva yang mati pada kontrol digunakan sebagai faktor koreksi dalam menghitung persentase kematian larva akibat pengaruh ekstrak. Data mortalitas larva selanjutnya digunakan untuk mencari harga  $LC_{50}$  melalui analisis probit.

Hasil uji BSLT terhadap empat jenis karang lunak Alcyoniidae menunjukkan bahwa *Lobophytum A* dan *Lobophytum B* memiliki  $LC_{50} < 100$  ppm (Tabel 1). Hal ini mengindikasikan adanya bahan metabolit aktif (toksik) yang dikandung oleh kedua jenis karang lunak tersebut. Pemisahan dan uji bioaktivitas untuk mengetahui jenis senyawa aktif yang terdapat pada

keempat spesies karang lunak tersebut saat ini sedang dikerjakan di Laboratorium Bioteknologi, Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan.

Senyawa metabolit sekunder pada umumnya banyak terdapat pada organisme bertubuh lunak dan bersifat sesil (menetap) seperti sponges (Porifera), Cnidarian dan Tunikata. Sebaliknya, pada organisme yang bersifat mobil (mampu bergerak) dan tubuhnya dilindungi oleh cangkang misalnya Crustacea dan Echinodermata umumnya miskin dengan senyawa metabolit sekunder (Pawlik, 1993). Jadi pada organisme yang tidak memiliki perlindungan fisik seperti cangkang atau struktur kulit luar lainnya,

Tabel 1. Nilai  $LC_{50}$  hasil *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Table 1. The  $LC_{50}$  level obtained from *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

No	Jenis/Species	$LC_{50}$ (ppm)
1	<i>Sinularia leptoclados</i>	135.2
2	<i>Lobophytum pauciflorum</i>	115.3
3	<i>Lobophytum A</i>	97.72
4	<i>Lobophytum B</i>	52.23

senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tubuhnya digunakan sebagai pertahanan kimia (*chemical defense*).

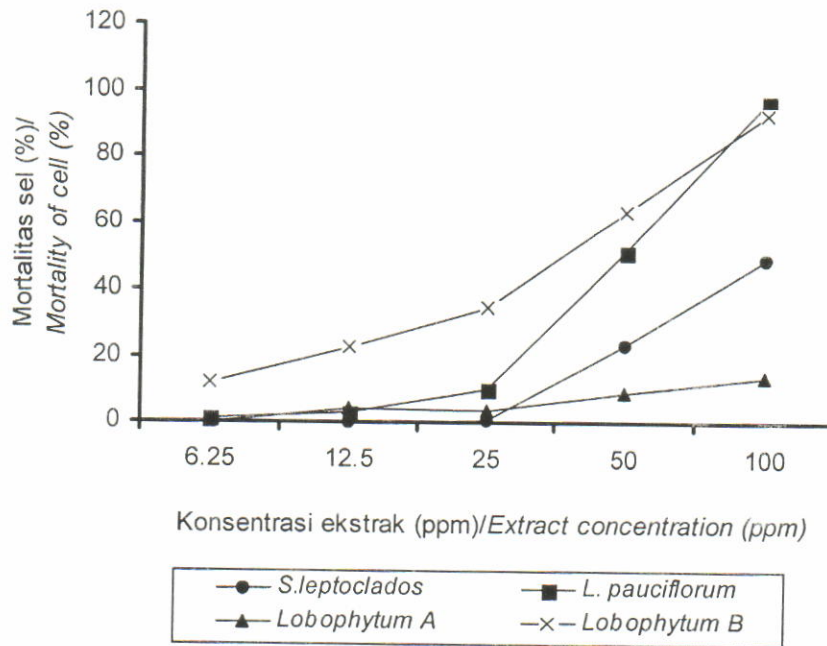
Secara morfologis organisme bertubuh lunak dan sesil umumnya mempunyai warna maupun bentuk yang menarik sehingga mengundang predator untuk memangsanya. Predator yang dominan dalam ekosistem terumbu karang adalah ikan (Hixon, 1983 dalam Swearingen & Pawlik, 1998). Karang lunak dalam ekosistem terumbu karang, umumnya hidup dalam ruang terbuka sehingga meningkatkan resiko pemangsaan. Untuk mencegah agar predator tidak memangsanya, maka organisme ini mengeluarkan zat tertentu yang biasanya toksik atau berbau tidak sedap. Contoh senyawa metabolit sekunder yang berbau tidak sedap adalah *furanosesterpene tetronic acids* yang terkandung dalam sponges *Ircinia*.

Senyawa ini dapat melindungi sponges dari ikan-ikan predator (Pawlik et al., 2002).

**Sitotoksitas terhadap Sel HeLa**

Uji sitotoksitas terhadap sel HeLa dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak karang lunak terhadap pertumbuhan dan proliferasi sel. Daya hambat ekstrak metanol dari empat jenis karang lunak terhadap sel HeLa yang diberikan pada dosis 6,25; 12,5; 25; 50; dan 100 ppm disajikan pada Gambar 2. *Lobophytum B* dan *Lobophytum pauciflorum* pada konsentrasi 50 ppm mampu mematikan lebih dari 50% sel HeLa.

Nilai  $LC_{50}$  ekstrak metanol keempat jenis karang lunak terhadap sel kanker HeLa disajikan pada Tabel 2. Karang lunak *Lobophytum B* memiliki aktivitas



Gambar 2. Mortalitas sel HeLa pada perlakuan ekstrak metanol dari empat jenis karang lunak.  
 Figure 2. The mortality of HeLa cell treated with methanol extracts of four soft coral species.

Tabel 2. Nilai  $LC_{50}$  ekstrak metanol dari 4 jenis karang lunak terhadap sel kanker HeLa  
 Table 2.  $LC_{50}$  value of methanol extracts of four soft coral species against HeLa cancer cell-line

No	Jenis/Species	$LC_{50}$ (ppm)
1	<i>Sinularia leptocladus</i>	93.11
2	<i>Lobophytum pauciflorum</i>	39.88
3	<i>Lobophytum A</i>	173.78
4	<i>Lobophytum B</i>	27.86

sitotoksik yang paling kuat dengan  $LC_{50}$  27,86 ppm diikuti dengan *Lobophytum pauciflorum* ( $LC_{50}$  39,88 ppm), *Sinularia leptocladus* ( $LC_{50}$  93,11 ppm) dan *Lobophytum A* ( $LC_{50}$  173,78 ppm). Ekstrak dianggap memiliki prospek yang baik sebagai antikanker apabila memiliki  $LC_{50}$  kurang dari 30  $\mu\text{g/ml}$  (Anderson, 1991 dalam Sismindari *et al.*, 2002).

*Lobophytum B* sangat potensial untuk dieksplorasi lebih lanjut. Kemungkinan besar jika ekstrak kasar metanol dimurnikan lebih lanjut menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil kemudian diuji kembali aktivitas sitotoksiknya, akan menghasilkan nilai  $LC_{50}$  di bawah nilai ekstrak kasar. Proses pemisahan ekstrak metanol menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil serta pengujian aktivitas sitotoksik tiap fraksi perlu dilakukan agar diperoleh isolat tunggal yang memiliki efek sitotoksik yang kuat.

Sesuai dengan fungsinya untuk melindungi diri dari predator, senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan terutama berkhasiat sebagai anti kanker (sitotoksik) dan antibiotik. Kemampuan tumbuh yang cepat dari karang lunak erat kaitannya dengan persaingan untuk mendapatkan ruang, makanan, dan cahaya. Setiap koloni bersaing untuk mendapatkan sumber daya ini. Untuk menghambat pertumbuhan koloni lain, maka secara fisiologi biota ini menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan koloni lain. Menurut Widjhati *et al.* (2004) senyawa metabolit yang dihasilkan dirancang sebagai senjata untuk melawan pertumbuhan sel koloni lain. Pertumbuhan sel koloni ini biasanya berlangsung cepat seperti ciri-ciri pertumbuhan sel kanker.

Karang lunak biasanya segera mengeluarkan lendir beracun apabila koloninya diserang. Misalnya pada *Cespitularia sp.*, bila disentuh meskipun secara hati-hati, menghasilkan banyak lendir yang bersifat mematikan bagi sejumlah krustasea laut yang kecil. Lendir tersebut mengandung terpena toksik palustrol dalam jumlah yang cukup besar. Banyak Cnidaria yang dapat dilindungi secara efektif oleh terpenoid tersebut pada kadar di bawah 0,001% (Tursch *et al.*, 1995).

Salah satu turunan diterpenoid, cembrena, dalam lingkungan laut terdapat pada gorgonian dan karang lunak. Cembrena memiliki aktivitas biologis yang tinggi yang ditemukan dalam turunan lekton cembrena. Senyawa ini merupakan hasil metabolit sekunder yang umum dijumpai karang lunak (Fenical, 1995). Cembrenoid diterpen yang diisolasi dari karang lunak *Lobophytum* menunjukkan hasil yang baik ( $EC_{50}$  3-5  $\mu\text{g/ml}$ ) dalam menghambat *Human Immunited Virus* (Rashid *et al.*, 2000). Senyawa turunan acylspermidine yang diisolasi dari karang lunak

*Sinularia sp.* yang hidup di perairan pulau Chatan, Okinawa, Jepang, mampu mencegah penyakit yang disebabkan oleh parasit misalnya malaria dengan cara menghambat pembentukan enzim  $H^+$ -Pyrophosphatase (Hirono *et al.*, 2003).

### Aktivitas Antibakteri

Hasil uji antibakteri ekstrak metanol dari 4 jenis karang lunak menunjukkan bahwa tidak satupun dari ekstrak yang diuji memiliki aktivitas antibakteri. Kloramfenikol yang digunakan sebagai kontrol mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat rata-rata sebesar 25 mm. Wickens & Pennacchio (2002) yang melakukan skrining terhadap genus *Acacia* dengan metode BSLT juga tidak menemukan ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri padahal beberapa dari ekstrak tersebut memiliki toksisitas yang tinggi. Aktivitas antibakteri dari keempat karang lunak ini kemungkinan ada jika diekstrak dengan pelarut non-polar (heksan) atau semi-polar (etil asetat).

Skrining yang dilakukan oleh Wikanta *et al.* (2004) terhadap 6 jenis ekstrak rumput laut dari fraksi metanol, etil asetat dan n-heksana menunjukkan bahwa ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri semuanya tidak ada yang berasal dari fraksi metanol. Ekstrak yang memiliki aktivitas antibakteri terdapat pada fraksi etil asetat dan n-heksana.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan disimpulkan bahwa karang lunak dari jenis *Lobophytum A* dan *Lobophytum B* memiliki toksisitas yang tinggi ( $LC_{50}$  <100 ppm). Tidak satupun ekstrak yang diuji menunjukkan aktivitas antibakteri. Hasil uji sitotoksik terhadap sel kanker HeLa memperlihatkan bahwa karang lunak *Lobophytum B* memiliki daya sitotoksik ( $LC_{50}$  27,86 ppm) yang paling kuat dibanding tiga jenis karang lunak lain yang diuji.

### DAFTAR PUSTAKA

- Alderslade, P. 2003. A new genus and new species of soft coral (Octocorallia : Alyconacea : Alyconiidae) from the South Western Region of Australia. *Zootaxa*. 175: 1-10
- Benayahu, Y., Ming-Shiou, J., Perkol-Finkel, S. and Feng-Chang, D. 2004. Soft coral (Octocorallia : Alyconacea) from Southern Taiwan. II. Species diversity and distributional patterns. *Zoological Studies*. 43(3): 548-560.
- Carballo, J.L., Hernandez-Inda, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravalos, M.D. 2002. A comparison between two brine shrimp assay to detect *in vitro* cytotoxicity in marine

- natural product (Methodology Article). *BMC Biotechnology*. 2: 1-5
- Colin, P.L. and Arneson, C. 1995. *Tropical Pacific Invertebrates. A field guide to the marine invertebrates occurring on tropical pacific coral reefs, seagrass beds and mangrove*. Coral Reef Press, California. 296 pp.
- Fenical, W. 1995. Diterpenoid. In Scheurer, P.J. (ed.). *Produk Alami Lautan dari Segi Kimia dan Biologi*. Jilid II. *Penerjemah* : Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press, Semarang. 387 pp.
- Guerrero, R.O and Guzman, A.L. 2004. Bioactivities of latexes from selected tropical plants. *Rev. Cubana Plant Med.* 9(1): 13-21.
- Hirono, M., Ojika, M., Mimura, H., Nakanishi, Y. and Maeshima, M. 2003. Acylspermidine derivatives isolated from soft coral, *Sinularia* sp., Inhibit plant vakuolar H<sup>+</sup>-Pyrophosphatase. *J. Biochem.* 133: 811-816.
- Harmita dan Radji, M. 2004. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, Jakarta. 185 pp.
- Hughes, D. and Mehmet, H. 2003. *Cell Proliferation and Apoptosis. Advanced Method*. BIOS Scientific Publisher Ltd, Oxford. 373 pp.
- Jha, R.K. and Zi-rong, X. 2004. Biomedical compounds from marine organisme. *Marine Drugs*. 2: 123-146.
- McLaughlin, J.L. and Rogers, L.L. 1998. The use of biological assay to evaluate botanicals. *Drug Information J.* 32: 513-524.
- Munro, M.H.G., Blunt, J.W., Dumdei, E.J., Hickford, S.J.H., Lill, R.E., Li, S., Battershill, C.N. and Duckworth, A.R. 1999. The discovery and development of marine compound with pharmaceutical potential. *J. Biotech.* 70: 14-25.
- Pawlik, J.R. 1993. Marine invertebrate chemical defenses. *Chem. Rev.* 93: 1911-1922.
- Pawlik, J.R., McFall, G. and Zea, S. 2002. Does the odor from sponges of the genus *ircinia* protect them from fish predator ? *J. Chem. Ecology*. 28(6): 1103-1115.
- Pisut, D.P. and Pawlik, J.R. 2002. Antipredatory chemical defenses of ascidians : Secondary metabolits or inorganic acid ? *J. Experimental Marine Biology and Ecology*. 270 : 203-214.
- Rashid, M.A., Gustafson, K.R. and Boyd, M.R. 2000. HIV-inhibitory membrane derivatives from a Philippines collection of the soft coral *Lobophytum* sp. *J. Nat. Prod.* 63: 531-533.
- Swearingen, D.C. and Pawlik, J.R. 1998. Variability in the chemical defense of the sponge *Chondrilla nucula* against predatory reef fishes. *Marine Biology*. 131: 619-627
- Sismindari, A.S., Handayani, Yulia, S., and Candra, E. 2002. Potent effect of protein extract containing Ribosome-Inactivating Proteins (RIPs) isolated from *Erythrina fusca* Lour on cancer cells. *Indonesian J. Biotechnology*. December 2002. p. 559-564
- Tursch, B., Braekman, J.C., Daloz, D., and Kaisin, M. 1995. Terpenoid dari Coelenterata. In Scheurer, P.J. (ed.). *Produk Alami Lautan dari Segi Kimia dan Biologi*. Jilid II. *Penerjemah*: Koensoemardiyah. IKIP Semarang Press, Semarang. 387 pp.
- Vanisree, M., Subbaraju, G.V. and Bheemasankara, R.C. 2000. Alcyonacean metabolites VII-chemical constituents of *Lobophytum denticulatum* and *Lobophytum strictum* of the Indian Ocean. *J. Asian. Nat. Prod. Res.* 2(2): 87-95.
- Widjhati, R., Supriyono, A., dan Subintoro. 2004. Pengembangan Senyawa Bioaktif dari Biota Laut. *Makalah pada Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan. Tanggal 25 Maret 2004. 13 pp.
- Wikanta, W., Suryaningrum, Th.D., Sugiono, Nursid, M., Munifah, I., Kardono, B., dan Hardjito, L. 2004. Riset Ekstraksi Senyawa Bioaktif dari Biota Perairan. *Laporan Teknis Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Jakarta*. 80 pp.
- Wickens, K. and Pennacchio, M. 2002. A search for novel biologically active compounds in the phylloides of *Acacia* species. *Conservation Science W. Aust.* 4(3): 139-144

