

Penelitian Dasar



LAPORAN KEGIATAN

ISOLASI SENYAWA ANTIKANKER LEUKEMIA DARI SPONGE *Agelas nakamurai* DAN *Haliclona sp*

Oleh :

Agus Trianto, ST., MSc.
Dr. Ir. Ambariyanto, MSc.

Biaya Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional

Sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Pekerjaan Penelitian

Nomor : 031/SPPP/PP/DP3M/IV/2005

Tanggal 11 April-11 Nopember 2005

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
Nopember, 2005

UPT-PUSTAK-UNDIP

No. Daft: 436/KI/PPK/C/

Tgl. : 22-6-06

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DOSEN MUDA TAHUN 2005**

1. a. Judul Penelitian : Isolasi senyawa antikanker leukemia dari sponge *Agelas nakamurai* dan *Haliclona* sp
- b. Kategori Penelitian : I
2. Ketua Proyek Penelitian :
- a. Nama lengkap dan Gelar : Agus Trianto, ST., MSc.
- b. Jenis Kelamin : Laki-laki
- c. Golongan, Pangkat dan NIP : Penata Muda/IIIb, 132 132 747
- d. Jabatan fungsional : Staf Pengajar Mk Biokimia, Kimia Organik
- e. Fakultas/Jurusan : Perikanan dan Ilmu Kelautan/Ilmu Kelautan
- f. Univ/Inst/Akademi/Sekolah Tinggi : Universitas Diponegoro
- g. Bidang Ilmu : Pertanian
- 3 Jumlah Tim Peneliti : 2 orang
4. Lokasi Penelitian : Lab. Kelautan-Undip, Tl. Awur, Jepara, PAU-Bioteknologi, UGM
5. Bila penelitian ini merupakan peningkatan kerja sama kelembagaan sebutkan :
- a. Nama Instansi : -
- b. Alamat : -
6. Jangka Waktu Penelitian : 8 bulan
7. Biaya yang diperlukan : Rp. 15.000.000,00
(Lima belas Juta Rupiah)

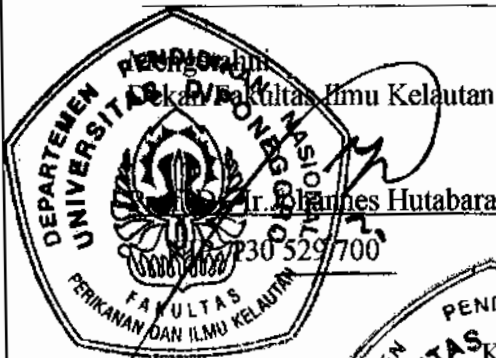
Semarang, 11 Nopember 2005

Ketua Peneliti,

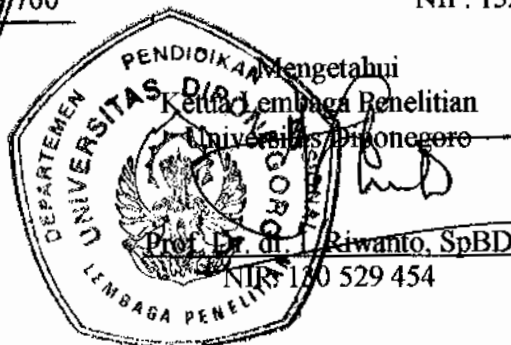


Agus Trianto, ST., MSc.

NIP. 132 132 747



Dr. Charles Hutabarat, MSc.



Mengetahui
Ketua Lembaga Penelitian
Universitas Diponegoro

Prof. Dr. dr. I. Riwanto, SpBD

NIP. 132 132 454

RINGKASAN

Sponge dikenal sebagai organisme laut yang sangat prospektif sumber senyawa bioaktif antikanker. Sampai saat ini belum ditemukan obat kanker yang dapat mengatasi penyakit tersebut dengan tuntas dan aman. Hal ini mendorong eksplorasi terhadap kandungan senyawa-senyawa bioaktif anti kanker gencar dilakukan, terutama di negara-negara maju.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif anti kanker leukemia dari sponge *Agelas nakamurai* dan *Haliclona* sp.

Sponge *Agelas nakamurai* dikoleksi di perairan Labuhan Bajo, Flores, NTT dan *Haliclona* sp di perairan Pulau Panjang, Jepara, Jawa Tengah dengan menggunakan *scuba diving*. Kemudian sampel diekstrak dengan metanol. Selanjutnya senyawa bioaktif dalam ekstrak dimurnikan secara berturut-turut dengan dengan Separatory funnel, Kromatografi kolom terbuka dengan Si-60 dan LH-20, kemudian dengan HPLC pada kolom RP-18.

Uji anti kanker dilakukan dengan menentukan nilai IC50 ekstrak sponge dan direncanakan isolat murninya terhadap lini sel L-1210. Selanjutnya BST digunakan sebagai pemandu dalam proses isolasi dan purifikasi senyawa bioaktif.

Hasil uji anti kanker menunjukkan ekstrak sponge *Haliclona* sp mempunyai IC-50 sebesar 8,16 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak sponge *Agelas nakamurai* sebesar 4,50 $\mu\text{g/mL}$. Hasil pemurnian ekstrak sponge *Haliclona* sp memperoleh empat senyawa bioaktif. Sedangkan pada dari sponge *Agelas nakamurai* belum diperoleh senyawa murni. Namun berdasarkan kromatogram HPLC dan uji dengan TLC diduga dalam fraksi bioaktif terdapat delapan senyawa bioaktif dari golongan steroid yang strukturnya memiliki kemiripan satu sama lain, hal ini juga dibuktikan dengan sulitnya dilakukan pemisahan terhadap senyawa-senyawa tersebut.

SUMMARY

Sponge is well known as a prospective source of anticancer compounds. Until today, there is no effective drug that cured cancer patient safely. This situation urge to conduct exploration of anticancer substances from nature intensively, especially in developed country.

Aims of this research is to get the anticancer compounds from sponge *Agelas nakamurai* and *Haliclona* sp.

Sponge *Agelas nakamurai* were collected from Labuhan Bajo, Flores, NTT, whether sponge *Haliclona* sp were collected from Jepara water by *scuba diving* method. Then the sponge were extracted with methanol. After that, the bioactive compounds were purified with separatory funnel, OCC with Si-60 and LH-20 absorbent, HPLC on RP-18 column, respectively.

Anticancer test conducted to know the IC-50 the crude extracts and also the pure compounds will be afforded against L-1210 cell line. BST is performed as a guide for isolation and purification of the bioactive compounds.

Anticancer test exhibited that extract of the sponge *Haliclona* sp has IC-50 at 8,16 $\mu\text{g/mL}$, while extract of sponge *Agelas nakamurai* has IC-50 at 4,50 $\mu\text{g/mL}$. Isolation of sponge *Haliclona* sp extract afforded four pure compounds. While isolation of sponge *Agelas nakamurai* still has not get pure bioactive compound. However, judge from the HPLC chromatogram and TLC test can be predicted that the bioactive fraction contain about eight similar steroids compounds.

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan pada Allah Yang Maha Kuasa yang telah menciptakan alam semesta ini dengan segala keteraturannya dan bermanfaatnya

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif anti kanker leukimia dari sponge *Agelas nakamurai* dan *Haliclona* sp yang masing-masing dikoleksi dari perairan Flores dan perairan Jepara. Pada tahap selanjutnya hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai standard dalam isolasi bahan bioaktif tersebut, sehingga uji bioassay sebagai guidance dapat dieleminir. Hal ini akan sangat berguna dalam menghemat waktu dan biaya untuk proses isolasi.

Penulis berharap semoga penelitian ini dapat bermanfaat dalam pengembangan obat anti kanker dimasa mendatang.

Jepara, Nopember 2005

Penulis.

DAFTAR ISI

IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN SUMARY	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	2
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	4
IV. METODA PENELITIAN	5
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	7
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	17
DAFTAR PUSTAKA.....	18

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
Tabel 1. Fraksi-fraksi hasil pemisahan ekstrak sponge <i>Haliclona</i> sp dengan separatory funnel.....	7
Tabel 2. Hasil pemisahan fraksi HD-1 dengan kromatografi kolom terbuka (OCC) dengan absorbent Si-60.....	7
Tabel 3. Hasil pemisahan fraksi HD-1-4 dengan kromatografi kolom terbuka (OCC) dengan absorbent LH-20.....	8
Tabel 4. Pemurnian senyawa bioaktif pada fraksi HD-1-4-4 dengan HPLC pada kolom RP-18 dengan eluan MeoH : Air = 4 : 1.....	8
Tabel 5. Pemurnian senyawa bioaktif pada fraksi HD-1-4-4-6 dengan HPLC pada kolom RP-18 dengan eluan MeoH : Air = 3 : 2.....	9
Tabel 6. Pemurnian senyawa bioaktif pada fraksi HD-1-4-4-12 dengan HPLC pada kolom RP-18 dengan eluan MeoH.....	9
Tabel 7. Fraksi-fraksi hasil pemisahan ekstrak sponge <i>Agelas nakamurai</i> dengan separatory funnel.....	10
Tabel 8. Hasil pemisahan fraksi AF-1-1 dengan kromatografi kolom terbuka (OCC) dengan absorbent Si-60.....	11
Tabel 9. Hasil pemisahan fraksi AF-2-7 dengan kromatografi kolom terbuka (OCC) dengan absorbent LH-20.....	11
Tabel 10. Pemurnian senyawa bioaktif pada fraksi AF-2-7-1 dengan HPLC pada kolom RP-18 dengan eluan MeoH : Air = 2 : 1.....	11
Tabel 11. Hasil uji toksisitas ekstrak sponge <i>Haliclona</i> sp dan <i>Agelas nakamurai</i> terhadap L-1210 cell line.....	12
Tabel 12. Hasil toksisitas pelarut terhadap larva <i>Artemia salina</i>	13
Tabel 13. Hasil uji toksisitas fraksi heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air terhadap larva <i>Artemia salina</i>	13
Tabel 14. Hasil uji toksisitas fraksi AF-1 s.d. AF-10 terhadap larva <i>Artemia salina</i>	13
Tabel 15. Hasil uji toksisitas fraksi AF-2-7-1 s.d. AF-2-7-9 terhadap larva <i>Artemia salina</i>	14

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
Gambar 1. Kromatogram hasil pemurnian senyawa bioaktif fraksi HD-1-4-4 dengan HPLC pada kolom RP-18.	8
Gambar 3. Kromatogram hasil pemurnian senyawa bioaktif fraksi HD-1-4-4-12 dengan HPLC pada kolom RP-18.	9
Tabel 9. Hasil pemisahan fraksi AF-2-7 dengan kromatografi kolom terbuka (OCC) dengan absorbent LH-20.	10
Gambar 4. Kromatogram hasil pemurnian senyawa bioaktif fraksi AF-2-7-1 dengan HPLC pada kolom RP-18.	12

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
Lampiran 1. Foto-foto kegiatan penelitian	20
Lampiran 2. Daftar peralatan yang digunakan dalam penelitian.	21
Lampiran 3. Personalia peneliti	22

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

.

I. PENDAHULUAN

Sponge adalah adalah satu jenis biota yang sangat melimpah dilaut. Di perairan Indonesia diperkirakan terdapat lebih dari 1000 spesies sponge (Collin and Ameson, 1995). Sponge merupakan organisme laut yang masuk dalam filum Porifera yakni hewan multiseluler primitif dan tidak mempunyai jaringan yang terorganisasi. Sponge bersifat *filter feeders* dan mengambil air serta makanan melalui pori-porinya (Hooper, 2000).

Dilaporkan bahwa sponge merupakan sumber senyawa bioaktif dari laut yang sangat prospektif. Hampir 5000 senyawa telah berhasil diisolasi dari hewan ini dengan berbagai bioaktivitas seperti anti mikrobial, anti jamur, dan anti virus (Marinlit, 1999). Dewasa ini sponge juga dikenal sebagai organisme laut yang sangat prospektif sumber senyawa bioaktif antikanker.

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit ganas yang sangat ditakuti oleh masyarakat. Beberapa jenis terapi pengobatan modern seperti operasi, kemoterapi, atau radiasi selama ini telah banyak digunakan. Namun kendala yang masih ada adalah adanya tingkat kesuksesan yang sangat bervariasi tergantung pada stadium dan jenis tumor/kanker, timbulnya efek samping, serta mahalnya biaya dari terapi modern tersebut. Oleh karena itu eksplorasi terhadap kandungan senyawa-senyawa aktif dengan aktifitas anti kanker gencar dilakukan diberbagai belahan dunia utamanya di negara-negara maju. Penelitian tersebut telah merambah pula pada bahan alami atau plasma nutfah laut dan memberikan berbagai alternatif obat baru untuk melawan kanker.