

**ISOLASI SPONS *Xestospongia* sp. ASAL KAIMANA PAPUA
BARAT DAN UJI ANTIMALARIA TERHADAP *P. falciparum***
(*Isolation of Spons Xestospongia sp From Kaimana West Papua and
Antimalarial Activity Test Against P. falciparum*)

Murthihapsari¹, Tati Herlina¹, & Eti Apriyanti¹

¹Departemen Kimia, Fakultas MIPA Universitas Padjadjaran, Bandung
Email/telp: murthihapsari@gmail.com/ 08112220253

ABSTRAK

Plasmodium falciparum dikenal sebagai agen penyakit malaria yang mematikan. Saat ini, beberapa obat antimalaria telah dinyatakan resisten terhadap malaria. Fakta-fakta empiris tersebut menjadi landasan utama peneliti untuk mengeksplorasi potensi antimalaria yang terdapat di laut. Umumnya diketahui bahwa spons laut *Xestospongia* sp. Adalah salah satu target penelitian, spons lunak kini memiliki sebaran yang sangat luas di perairan tropis. Pada penelitian ini, dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif antimalaria pada spons Papua *Xestospongia* sp. secara *in vitro*, hasil penelitian menunjukkan adanya potensi signifikan antimalaria dengan nilai IC₅₀ yang sangat kecil yaitu sebesar $6,49 \times 10^{-7}$ µg/mL.

Kata kunci: *Xestospongia*, spons, antimalaria, *Plasmodium falciparum*

ABSTRACT

Plasmodium falciparum is the tropical world's agent of malignant malarial disease. Nowadays, most antimalarial drugs are reportedly resistance, these empirical facts have been motivating researchers to explore alternatively new hope of antimalarial from marine part. It's generally admitted that the marine sponge *Xestospongia* sp. is the most targetable example, a marine living resource which have widely distribution in the marine tropical waters. In the present study, we analysed the potential antimalarial components of Papuan marine sponge *Xestospongia* sp. We documented a significant potency and the presence of antimalaria (IC₅₀: $6,49 \times 10^{-7}$ µg/ mL).

Key words: *Xestospongia*, sponge, antimalarial, *Plasmodium falciparum*

1. PENDAHULUAN

Malaria dikenal sebagai penyakit sistemik mematikan yang menginfeksi sekitar 2,4 milyar manusia di 107 Negara. Badan Kesehatan Dunia (WHO) melaporkan bahwa kasus global mencapai 262 juta pada tahun 2010 dengan jumlah korban meninggal sekitar 839.000 jiwa. Seiring dengan meningkatnya aksi

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

global melawan prevalensi malaria hingga akhir 2015, jumlah kasus infeksi menurun 18%, dan kasus kematian menurun pula hingga 48%. Akhir tahun 2015, kasus kematian akibat malaria umumnya menyerang penduduk di benua Afrika (88%), Asia selatan dan tenggara (10%), dan daerah tropis lainnya (2%).

Penyakit malaria jenis *Plasmodium falciparum* dilaporkan telah resisten terhadap obat sintesis malaria seperti 4-amino kuinolin, klorokuin dan primakuin, kuinin dan pirimetamin, untuk itu perlu dilakukannya eksplorasi bahan alam yang dapat menghasilkan senyawa aktif yang memiliki sifat antimalaria melalui eksplorasi dari produk bahan alam.

Salah satu sumber daya hayati yang belum banyak diteliti adalah sumber hayati laut. Indonesia dikenal sebagai negara dengan 75% dari luasannya berupa lautan. Salah satu jenis biota laut yang berpotensi cukup besar dan berpeluang untuk pengembangan senyawa aktif seperti spons.

Kaitannya dengan jenis *Xestospongia* dari bagian utara Papua, Murtihapsari (2013), melaporkan bahwa jenis spons asal kepulauan Yapenini dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* dengan nilai IC₅₀ kurang dari 50 µg/ml, sedangkan nilai IC₅₀ hasil fraksinasi kurang dari 25 µg/mL. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas senyawa antimalaria terhadap parasit *P. falciparum* secara *in vitro* dari *Xestospongia* sp. Asal kepulauan Kaimana, Papua Barat.

2. BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas, pelat KLT, kromatografi kolom, *rotary evaporator*, membran *milipore* ukuran 0,22 dan 0,45 µm, tabung sentrifuse ukuran 10 dan 50 mL, lampu UV, ruang *Laminar Air Flow*, mikroskop pembesaran 10 x 100 (merk Nikon (Labophot-2) seri 441528 Jepang).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel spons *Xestospongia* sp. yang diperoleh dari kepulauan Kaimana, Papua Barat, etanol

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

75%, metanol, *n*-heksana, etil asetat, *n*-butanol redens, silika gel G60 (7-230 mesh), plat KLT silika gel GF₂₅₄, plat KLT pada ODS, pereaksi nampak noda asam sulfat 10%, asam pikrat, amonium hidroksida, dikolorometana, protozoa *P. falciparum* galur 3D7 (klorokuin sensitif) yang diperoleh dari University Tokyo, Jepang dan dikultur oleh Lembaga Eijkman-Jakarta, *Rosewell Parla Memorial Institute* (RPMI) 1640 yang mengandung L-glutamin, asam N-2-hidroksi etil piperazin-N-2-etana sulfonat (HEPES), NaHCO₃ 5%, antibiotik gentamisin sulfat injeksi, serum, sel darah merah (RBC) golongan darah O, zat antikoagulan sitrat fosfat dektrosa (CPD), pewarna Giemsa, larutan bufer fosfat pH 7,2.

Ekstraksi Spons

Sampel spons *Xestospongia* sp. dimaserasi sebanyak 500 g dalam 1 liter etanol 70%. Kemudian disaring tiap hari dihasilkan filtrat dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya dipartisi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan *n*-butanol. Masing-masing fraksi dipekatkan dan diuji antimalaria secara *in vitro*.

Pemurnian Senyawa dengan Kromatografi Kolom

Isolasi dilakukan dengan metode kromatografi kolom. Kromatografi kolom digunakan sistem isokratik dan gradien menggunakan fase diam silika gel SiO₂, 70-230 mesh. Silika ini bersifat polar dan fase gerak heksana : etil asetat dengan perbandingan tertentu. Fraksi ditampung dalam vial yang telah diberi nomor kemudian diuji dengan kromatografi lapis tipis. Hasil fraksinasi kromatografi disimpan di dalam lemari pendingin. Fraksi yang memiliki R_f dan pola penampakan noda yang sama pada kromatografi lapis tipis digabung sebagai satu fraksi kemudian diuapkan dan di uji antimalaria.

Uji Antimalaria Secara *In Vitro*

Sebelum melakukan uji pertumbuhan *P. falciparum*, pembibitan kultur dilakukan dengan metode Trager dan Jensen melalui tahapan pembuatan media (RP), pembuatan NaHCO₃ 5%, pembuatan media transport untuk sinkronisasi,

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

pembuatan media pertumbuhan untuk uji, menyediakan serum darah, eritrosit tanpa parasit dan eritrosit terinfeksi *P. falciparum*, pembuatan slide preparatif, dan proses sinkronisasi.

Tahap Uji *in vitro*

Pengujian antimalaria dilakukan dengan menggunakan kultur parasit biakan. Kultur parasit diambil dengan cara disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm, supernatan dibuang dengan pipet Pasteur steril dan sisa endapan dihitung. Jika endapan terdapat 0,2 gradien maka ditambah dengan media pertumbuhan sampai 10 mL. Pada *conical tube* lain disiapkan RBC 50% (eritrosit tak berparasit) sebanyak 0,4 mL dan ditambahkan media pertumbuhan sampai 10 mL. Slide apusan darah tipis sebelumnya memberikan informasi kadar parasitemia galur 3D7 2%, maka dari *conical tube* yang telah berisi parasit diambil satu bagian volume dan satu bagian volume dari *conical tube* tak berparasit, selanjutnya dicampur sampai homogen dan siap dilakukan uji aktivitas antimalaria.

Perencanaan Konsentrasi

Lempeng sumur mikro disiapkan masing-masing diisi pada baris A-E, kolom 1 diisi kontrol negatif sedangkan baris A-E kolom 2-3 sebagai medium, selanjutnya kolom 4-12 masing-masing diisi dengan konsentrasi 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , dan 10^{-9} $\mu\text{g/mL}$.

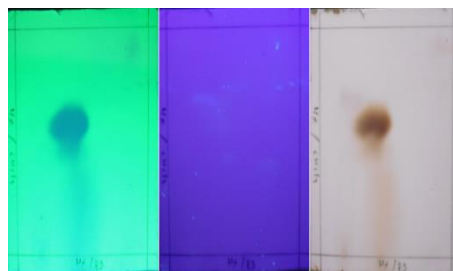
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Antimalaria Isolat Murni Dari Spons *Xestospongia* sp.

Senyawa aktif yang terdapat pada spons *Xestospongia* sp. sangat dipengaruhi oleh struktur habitat, kemampuan adaptasi, ketersediaan nutrisi serta interaksi intra sel spons itu sendiri. Spons *Xestospongia* sp. diperoleh dari kepulauan Kaimana, Papua Barat sebanyak 38000 gram dimaserasi, diperoleh ekstrak kental 300 gram. Kemudian dipartisi masing-masing dengan *n*-heksana (10 gram), etil asetat (11 gram), dan *n*-butanol (19 gram).

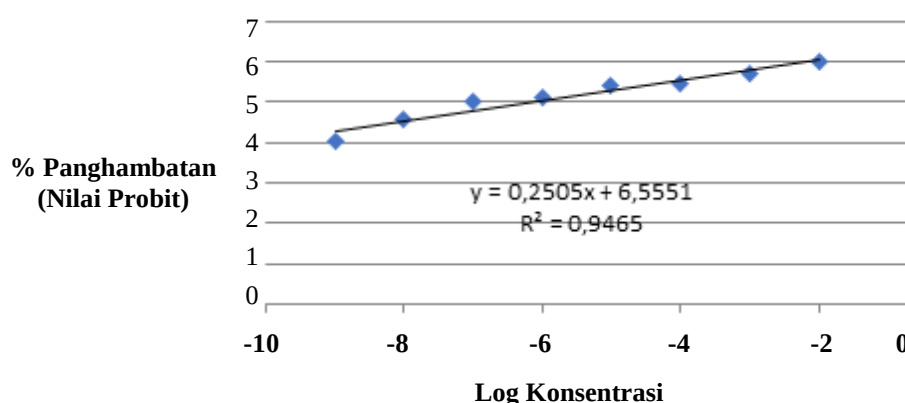
Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

Penelitian ini menggunakan fraksi etil asetat (11 gram) dan dilakukan kromatografi kolom sebanyak tiga kali. Kolom kromatografi pertama digunakan teknik gradien dengan pelarut n-heksana : etil asetat menghasilkan 14 (empat belas) fraksi. Selanjutnya dilakukan kolom kedua digunakan fraksi 4 (empat) teknik gradien dengan pelarut n-heksana : kloroform menghasilkan 20 (dua puluh) fraksi. Kolom kromatografi yang ketiga digunakan teknik isokratik menghasilkan 65 (enam puluh lima) fraksi. Isolat murni yang dihasilkan terdapat pada fraksi 43 (empat puluh tiga) dapat dilihat hasil kromatografi lapis tipis (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan pelarut *n*-heksana/etil asetat (9:1) dan *n*-heksana/kloroform (9:1)

Isolat murni diuji antimalaria secara *in vitro* pada tahap ini dengan variasi konsentrasi 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} $\mu\text{g/mL}$. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan uji yang digunakan akan menghasilkan efek penghambatan *P. falciparum* semakin tinggi pula hingga 100% (Gambar 2).



Gambar 2. Persen penghambatan *P. falciparum* galur 3D7 dari isolat murni spons *Xestospongia sp.*

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

Spesimen yang diuji pada isolat murni dengan galur 3D7 memiliki nilai IC_{50} $6,49 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/mL}$. Kaitannya dengan jenis *Xestospongia* dari bagian utara Papua, melaporkan bahwa jenis spons asal kepulauan Yapenini dapat menghambat pertumbuhan parasit malaria *P. falciparum* dengan nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} hasil fraksinasi kurang dari 25 $\mu\text{g/mL}$.

Suatu bahan dikatakan berpotensi sebagai antimalaria jika $IC_{50} < 50$ $\mu\text{g/mL}$ untuk ekstrak sedangkan untuk fraksi nilai $IC_{50} < 25$ $\mu\text{g/mL}$. Spons laut khususnya jenis *Xestospongia* memiliki potensi kandungan metabolit sekunder yang besar untuk pengembangan obat antimalaria. Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Opsenica *et al.* (2004), senyawa tetraoksan menghasilkan nilai IC_{50} dengan galur W2 (resisten) dan D6 (sensitif) masing-masing 2×10^{-3} dan $2,53 \times 10^{-1}$ $\mu\text{g/mL}$.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan bahwa spons *Xestospongia* sp. Memiliki nilai IC_{50} yang sangat kecil yaitu $6,49 \times 10^{-7}$ $\mu\text{g/mL}$, nilai ini sangat kuat dan berpotensi sebagai antimalaria.

DAFTAR PUSTAKA

- Bagavan A, Rahuman AA, Kaushik NK, & Sahal D. 2011. *In vitro* Antimalarial Activity of Medicinal Plant Extracts Against *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res, Springer*. 108 : 15-22.
- Bernan VE, Greenstein M, & Maiese WM. 1997. Marine Microorganisme as a Source of New Natural Products. Academic press. New York.
- Conservation International. 2004. Freshwater Biotas of New Guinea and Nearby island: Analysis of Endemism, Richness, and Threats. Survey Report No. 004. Washington, D.C. pp 1-46.
- Ebada SS, Edrada RA, Wenhan L, & Proksch P. 2008. Protocols: Methods for Isolation, Purification and Structural Elucidation of Bioactive Secondary Metabolites from Marine Invertebrataes. *Nature*. Vol. 3 No.12.

Email: jurnal.itekima@stack.ac.id

- Faulkner DJ, & Ghiselin MT. 1983. Chemical Defense and Evolutionary Ecology of Doridnudibranchs and Some Other Opisthobranch Gastropods. *Marine ecology progress series*. Oldendorf pres. Germany.
- Happi CT, Gbotosho GO, Folarin OA, Akinboye DO, Yusuf BO, Ebong OO, & Oduola AMJ. 2005. Polymorphisms in *Plasmodium falciparum* Genes and Age Related *In Vivo* Sulfadoxine–Pyrimethamine Resistance in Malaria-Infected Patients from Nigeria. *Actatropica*, 95(3), 183-193.
- Hay SI, Rogers DJ, Toomer JF, & Snow RW. 2010. Annual *Plasmodium falciparum* Entomological Inoculation Rates (EIR) Across Africa: Literature Survey, Internet Access and Review. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 94, 2, 113–127.
- Murtihapsari, Parubak AS, Mangallo B, Ekasari W, Asih PB, & Lestari AY. 2013. Isolation and Presence of Antimalarial Activities of Marine Sponge *Xestospongia* sp. *Indo. J. Chem*, 13 (3), 199 – 204.
- Opsenica I, Terzie N, Opsenica D, Milhous KW, & Solaja B. 2004. 7,8,15,16 Tetraoxqidispiro [5.2.5.2] Hexadecane-3carboxylic Acid Derivates and Their Antimalarial Activity. Preliminary Vommunication. *J. Serb. Chem.Soc* 69 (11) 919-922.
- Wellems TE, & Plowe CV. 2001. Chloroquine-Resistant Malaria. *Journal of Infectious Diseases*, 184(6), 770-776.
- WHO (World Health Organization). 2008. *In Vitro* Micro-test (Mark III) for The Assessment of The Response of *Plasmodium falciparum* to Chloroquin, Mefloquine, Quinine, Amodiaquine, Sulfadoxine/Pyrimethamine and Artemisinin. Division of Control of Tropical Diseases.
- WHO (World Health Organization). 2011. World Malaria report 2011.
- WHO (World Health Organization). 2015. World Malaria report 2015.
- Wongsrichanalai C, Pickard AL, Wernsdorfer WH, & Meshnick SR. 2002. Epidemiology of drug-resistant malaria. *The Lancet infectious diseases*, 2(4), 209-218.