

**POTENSI ANTIMITOTIK EKSTRAK METHANOL
TUNIKATA (*Pyura sp.*) TERHADAP PEMBELAHAN SEL
ZIGOT BULU BABI (*Tripneustes gratilla* Linn.)**

Oleh :
APRILIYA MAIPA
H411 14 022



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**



Optimization Software:
www.balesio.com

**POTENSI ANTIMITOTIK EKSTRAK METHANOL
TUNIKATA (*Pyura sp.*) TERHADAP PEMBELAHAN SEL
ZIGOT BULU BABI (*Tripneustes gratilla* Linn.)**

S K R I P S I

*Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin*

**APRILIYA MAIPA
H411 14 022**



**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2018**

LEMBAR PENGESAHAN

Potensi Antimitotik Ekstrak Methanol Tunikata (*Pyura sp.*)
Terhadap Pembelahan Sel Zigot Bulu Babi (*Tripneustes gratilla* Linn.)

OLEH:

APRILIYA MAIPA
H411 14 022

Disetujui Oleh:

Pembimbing Utama


Dr. Magdalena Litaav, M.Sc
NIP. 196409291989032002

Pembimbing Pertama


Dr. Rosana Agus, M.Si
NIP. 196509051991032003

Pembimbing Kedua


Drs. Fredryk Mandey, M.Sc
NIP: 196501181190021001



ABSTRAK

Apriliya Maipa (H411 14 022). Potensi Antimitotik Ekstrak Methanol Tunikata (*Pyura sp.*) Terhadap Pembelahan Sel Zigot Bulu Babi (*Tripneustes gratilla* Linn.) dibawah bimbingan Magdalena Litaay, Rosana Agus dan Fredryk Mandey.

Penelitian potensi antimitotik ekstrak methanol tunikata *Pyura sp.* terhadap pembelahan sel zigot bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn. telah dilakukan pada bulan Oktober 2017 sampai bulan April 2018. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak methanol tunikata *Pyura sp.* sebagai antimitotik terhadap sel zigot bulu babi *T. gratilla* Linn. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan methanol p.a pada variasi konsentrasi yaitu 1 ppm, 10 ppm dan 100 ppm dengan kontrol positif berupa senyawa vinkristin dengan konsentrasi 0,01 ppm, 0,1 ppm dan 1 ppm. Hasil penelitian dengan menggunakan analisis data non parametrik uji Wilcoxon menyatakan berpotensi untuk menghambat dengan asymp. Sig > 0,05. Potensi penghambatan diperoleh dari konsentrasi ekstrak 100 ppm yaitu 68,37 % dan senyawa vinkristin diperoleh 59,78%. Hal ini dapat disimpulkan ekstrak tunikata *Pyura sp.* berpotensi sebagai bahan alternatif penemuan senyawa antimitotik.

Kata Kunci : Antimitotik, Spermonde, Ascidian, *Pyura sp.*, *Tripneustes gratilla* Linn.



ABSTRACT

Apriliya Maipa (H411 14 022) The Methanol Extract of Antimitotik Potential Tunicates (*Pyura sp.*) Against The Cell Division of The Zygote Sea Urchins (*Tripneustes gratilla* Linn.) under the guidance of Magdalena Litaay, Rosana Agus dan Fredryk Mandey.

The research about potential antimitotic of methanol extract of Tunicate *Pyura sp.* toward zygote cell's fission of sea urchin *Tripneustes gratilla* Linn. was held on October 2017 to April 2018. This research aims to know the potential of methanol extract of Tunicate *Pyura sp.* in antimitotic of zygote cell's sea urchin *Tripneustes gratilla* Linn. This research used methanol p.a at a concentration 1 ppm, 10 ppm and 100 ppm with a positive control vincristine at concentration of 0,01 ppm, 0,1 ppm and 1 ppm. Research results with using Nonparametric analysis of Wilcoxon state potentially to inhibit of asymp. Sig > 0,05. That state inhibition occurred at a concentration of 100 ug/ml is 68,37% and vincristine has 59,78%. The results suggested the extract of Tunicate *Pyura sp.* has be potential to find the antimitotic compounds.

Key words : Antimitotic, Spermondae, *Ascidian*, *Pyura sp.*, *Tripneustes gratilla* Linn.



KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji syukur tak henti-hentinya tercurahkan pada Rabb penguasa Alam, pemilik alam kejayaan, pencipta kehidupan dan segala apa yang ada di langit juga bumi. Atas limpahan rahmat dan karunia-Nya pula, sehingga skripsi ini dapat terwujud melalui proses yang luar biasa yang telah Ia tetapkan di alam sebelum kehidupan.

Skripsi dengan judul “Potensi Antimitotik Ekstrak Methanol Tunikata *Pyura sp.* Terhadap Pembelahan Sel Zigot Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.” yang disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar sarjana pada departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terimakasih penulis haturkan untuk kedua orang tua tercinta Abbas Nurung (alm.) dan Sukmawati atas ridha, cinta dan pengorbanan yang beliau berikan selama ini, sehingga segala asa dan cita penulis untuk menyelesaikan pendidikan di tingkat strata satu dapat terwujud. Juga keluarga besar Bunda Dr. Nina, Ibunda Murniati Awal, Bunda Hj. Marwiah dan Bunda Yana yang selama ini senantiasa memberikan suport dan bantuan untuk penulis dalam menjalani pendidikan.

Ucapan terimakasih tak lupa penulis haturkan untuk saudara Muhammad Abdul, Agus Rahman, Kanda Ayub wirabuana yang turut memberikan bantuan dalam menyelesaikan penelitian ini. Juga rekan sejawat Bioaltruistik, Mipa 14, adinda bioclematis, biodiversity dan biovergen saudara-saudara tak sedarah yang turut memberikan warna dalam menjalani suka cita di kehidupan kampus.

Rasa hormat dan terima kasih penulis juga sampaikan kepada:

1. Ibu Rektor Universitas Hasanuddin Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, MA beserta staf.
2. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Dr. Eng. Amiruddin, M.Si beserta seluruh staf yang senantiasa

yani dalam pengurusan belbagai keperluan admisnistrasi.

Ketua Departemen Biologi Dr. Nurhaedar M.Si beserta seluruh staf yang memberi suport, bantuan dan motivasi untuk penyelesaian studi.



4. Ibu Dr. Magdalena Litaay, M.Sc. selaku pembimbing utama, Ibu Dr. Rosana Agus, M.Si. selaku pembimbing pertama dan bapak Drs. Fredryk Mandey, M.Sc. selaku pembimbing kedua. Suatu kesyukuran terbesar bagi penulis telah dibimbing oleh beliau, yang dengan penuh kesabaran dan pengertian untuk memberikan arahan, nasihat dan berbagai masukan selama proses penyusunan skripsi ini.
5. Tim Dosen Penguji Bapak Dr. Eddy Soekandarsi, M.Sc, Dr. Eva Johannes M.Si, Dr. Zaraswati Dwyana M.Si, Dr. Irma Andriani, M.Si dan Drs, Willem Moka M.Sc.
6. Bapak Drs. Asadi Abdullah, M.Si selaku Pembimbing Akademik.
7. Bapak dan Ibu Dosen Departemen Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
8. Staf pegawai Departemen Biologi dan Fakultas MIPA yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan segala jenis administrasi selama menempuh studi, terkhusus kepada Ibu Nini.
9. Kanda Laboran Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan Kakak Nenis Sardiani Andis S.Si yang selalu sabar dan mengerti menghadapi selama menjalani penelitian.
10. Kelompok Tunikata 2014 Nur Andriana Rusyam S.Si, Ayu wulandari S.Si dan Eka Susanti S.Si yang selalu bersama menjalani suka dan duka dalam penelitian.
11. Teman-teman Biologi Angkatan 2014 terkhusus Bioaltruistikku tercinta.
12. Keluarga besar dan rekan-rekan Pengurus BEM KM FMIPA Unhas 2014.
13. Keluarga besar dan rekan-rekan Pengurus HIMBIO FMIPA Unhas terkhusus kepada Muhammad Abdul saudara tak sedarah yang selalu setia menemani dalam proses pengambilan sampel bulu babi di Pulau setiap akan memasuki bulan purnama.
14. Teman-teman KKN Gelombang 96 Universitas Hasanuddin, Kecamatan Cenrana, terkhusus untuk Kanda Supriady yang senang tiasa memberi semangat dan semangat kepada penulis selama menjalani penelitian.

an-teman angkatan 2014, adik-adik dan kakak-kakak di Fakultas MIPA
as.



16. Serta seluruh pihak yang telah membantu, baik berupa materi, tenaga, motivasi dan dalam bentuk apapun. Penulis mengucapkan terima kasih.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini belum sempurna, baik dari segi materi maupun penyajiannya. Untuk itu kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan dalam penyempurnaan tugas akhir ini.

Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi penulis dan pembaca untuk pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, Agustus 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	2
I.3 Manfaat Penelitian	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Tunikata <i>Pyura sp.</i>	4
II.1.1 Klasifikasi Tunikata <i>Pyura sp.</i>	5
II.1.2 Morfologi Tunikata <i>Pyura sp.</i>	5
II.1.3 Kandungan Kimiawi Tunikata <i>Pyura sp.</i>	6
II.1.4 Penyebaran Tunikata <i>Pyura sp.</i>	8
II.2 Metode Ekstraksi Pelarut	9
II.3 Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	9
II.3.1 Klasifikasi Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	11
II.3.2 Morfologi Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	11
II.3.3 Penyebaran Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	12
II.3.4 Aspek Reproduksi Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn..	13
II.4 Antimitotik	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
1 Alat Penelitian	17
2 Bahan Penelitian	17
3 Prosedur Penelitian	17
III.3.1 Kriteria Sampel	17



III.3.2 Sampling Bahan Uji	17
III.3.3 Sterilisasi Alat	18
III.3.4 Persiapan Sampel	18
III.3.4.1 Persiapan Tunikata <i>Pyura sp.</i>	18
III.3.4.2 Persiapan Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	18
III.3.5 Ekstraksi	19
III.4 Uji Antimitotik	19
III.4.1 Persiapan Uji Sampel Ekstrak Tunikata <i>Pyura sp.</i>	19
III.4.2 Persiapan Sel Telur dan Sperma Bulu Babi <i>T. gratilla</i> Linn. ...	19
III.4.3 Pelaksanaan Uji Antimitotik	20
III.4.3 Pengamatan Aktivitas Antimitotik	20
III.5 Analisis Data	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Hasil Penelitian	22
IV.1.1 Hasil Persentase Penghambatan Pembelahan Sel dan Senyawa	22
IV.1.2 Data Hasil Analisis Uji Wilcoxon	24
IV.2 Pembahasan	25
BAB V PENUTUP	29
V.1 Kesimpulan	29
V.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1.	Hasil Pengujian Antimitotik	22
2.	Hasil Uji Wilcoxon Sel zigot tidak membelah	24
3.	Hasil Uji Wilcoxon Penghambatan Senyawa	25



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1.	Tunikata <i>Pyura sp.</i>	5
2.	Bulu Babi <i>Tripneustes gratilla</i> Linn.	11
3.	Sel Antimitotik Ekstrak Methanol Tunikata <i>Pyura sp.</i>	24



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1.	Skema kerja pembuatan ekstrak methanol tunikata <i>Pyura sp.</i>	36
2.	Skema Kerja Uji Antimitotik Ekstrak Methanol Tunikata <i>Pyura sp.</i>	37
3.	Analisis Data Uji Normalitas	38
4.	Analisis Data Uji Kruskal	39
5.	Analisis Data Uji Wilcoxon Persentase Sel Zigot Tidak Membelah	40
6.	Analisis Data Uji Wilcoxon Persentase Penghambatan Senyawa	42
7.	Gambar Proses Persiapan Tunikata <i>Pyura sp.</i> Pengeringan	44
8.	Gambar Proses Ekstraksi Sampel Tunikata <i>Pyura sp.</i>	45
9.	Gambar Proses Evaporasi Sampel Tunikata <i>Pyura sp.</i>	46
10.	Gambar Proses Aklimatisasi dan Pemijahan Bulu Babi	47



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Lingkungan laut Indonesia saat ini menjadi sorotan dunia karena menjadi salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia. Selain itu lingkungan laut Indonesia juga menyimpan potensi keanekaragaman kimiawi yang sangat besar, baik dari segi jumlah, keunikan struktur, maupun keragaman aktifitasnya, seperti : antikanker, antimikroba, antiinflamasi, antivirus, antifouling dan menghambat aktivitas enzim (Fattorusso *et al.* 2012).

Diantara sekian banyak invertebrata laut, Ascidian, secara umum dikenal sebagai tunikata, adalah salah satu jenis hewan laut yang paling menarik perhatian. Tunikata, hewan laut yang pola hidupnya tidak bergerak (sessile), memiliki persebaran yang luas; mampu bersimbiosis dengan bakteri; dan menghasilkan molekul kimia dengan beragam aktifitas farmakologi (Suwigno, 2005 dan Sardiani, 2015)

Tunikata yang bersimbiosis dengan mikroba fotosintetik memiliki potensi menghasilkan molekular yang besar. Menurut Kandungan metabolit sekunder dari bakteri simbion tersebut biasanya merupakan senyawa aktif yang digunakan untuk pertahanan diri organisme induknya, dalam hal ini tunikata. Senyawa aktif tersebut juga bermanfaat bagi kehidupan manusia, karena dapat digunakan untuk berbagai keperluan seperti sebagai antitumor, antikanker, antibakteri dan anti-jamur (Watermann, 1999).

Salah satu jenis dari tunikata banyak dijumpai dikawasan perairan Spermode namun belum dieksplorasi potensi keanekaragaman molekul aktifnya

Pyura sp. Berdasarkan penelusuran kepustakaan diketahui bahwa dari *Pyura sacciformis* berhasil diisolasi beberapa senyawa aktif yang sebagai anti bakteri yaitu 1-bromo-quinazolindion dan 6-bromoindole-3-



karbaldehida yang merupakan turunan dari quinozolin (Niwa and Yoshida, 1988; Hayun, 2014).

Proses isolasi senyawa aktif yang terkandung dalam tunikata dapat dilakukan dengan berbagai metode diantaranya maserasi, yang merupakan salah satu jenis ekstraksi tanpa pemanasan (ekstraksi dingin). Metode memiliki beberapa keuntungan, diantaranya : sederhana, mudah dan baik karena dilakukan tanpa melalui proses pemanasan sehingga kandungan senyawa aktif yang ada tidak mengalami kerusakan. Meskipun ada berbagai pilihan pelarut, namun dalam penelitian ini digunakan Methanol p.a sebagai pelarut mengingat kemampuannya yang sangat baik untuk melakukan penetrasi dan merusak dinding sel organisme sehingga seluruh kandungan senyawa aktif, baik yang bersifat polar maupun non-polar, yang ada dalam organisme akan tertarik keluar.

Selanjutnya untuk menguji kemampuan ekstrak menghambat proses pembelahan sel telur, maka digunakan bulu babi sebagai objek pengamatan terhadap kemampuan penghambatan pembelahan sel telur oleh ekstrak yang mengandung senyawa aktif yang diberikan pada bulu babi yang dapat menghambat proses pembelahan sel normal. Menurut Mc.laughlin (1991) keunggulan yang dimiliki metode ini adalah pengerjaannya yang relatif cepat, tidak memerlukan kultur sel serta peralatan dengan metode khusus seperti sel kanker, embrio bulu babi juga memiliki sensitifitas selektif terhadap obat sehingga pengujian dengan cara ini menjadi metode yang layak bagi penentuan bahan yang akan dievaluasi lebih lanjut.

Berdasar pada hasil kajian di atas maka dilaksanakanlah penelitian ini untuk mengobservasi potensi ekstrak methanol tunikata *Pyura sp.* untuk bertindak sebagai anti-mitotik dalam menghambat proses pembelahan sel zigot bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak methanol *Pyura sp.* sebagai antimitotik terhadap sel zigot bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn.



1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini ialah memberikan informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak Tunikata *Pyura sp.* untuk menghambat pembelahan sel (antimitotik) zigot bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn.

1.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli 2017 - April 2018. Pengambilan sampel dilaksanakan di perairan pulau Barrang Caddi dan pulau Bone Batang, Makassar. Ekstraksi senyawa dan pengujian bahan bioaktif terhadap pembelahan sel zigot bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn. dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Lingkungan dan Kelautan, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tunikata *Pyura sp.*

Tunikata adalah kelompok invertebrata laut yang digolongkan dalam filum Chordata karena adanya larva Notokorda pada tahap perkembangan awalnya. Tunikata, yang merupakan 3% (\approx 3000 spesies) dari sekitar 45000 spesies Chordata, umumnya terbagi menjadi beberapa kelas yaitu, Ascidiacea (Aplousobranchia, Phlebobranchia, Stolidobranchia); Thaliacea (Pyrosomida, Doliolida, Salpida); Appendicularia (Larvacea); dan Sorberacea. Sebagian besar memiliki bentuk kantung seperti saringan pengumpan (*filter-feeding*) (Ascidiacea dan Sorberacea), yang dengan mekanisme tertentu berperan untuk menyaring makanan planktonik berbentuk partikel halus pada permukaan dasar laut tempat dimana mereka hidup (Menna dan Aiello 2012).

Tunikata *Pyura* (Molina, 1782); filum chordata; sub-filum urochordata; kelas ascidiacea, nama lokal umum " *piure* " atau penyiraman laut, pengumpan filter (plankton dan partikel tersuspensi) spesies sesil bentuk silindris yang berhubungan dengan penyiraman laut dari yang lain garis lintang. Sejumlah ascidian membentuk spikula mineral pada tahap pasca-larva. Bergantung pada spesies, spikula terletak di satu atau beberapa bagian tubuh seperti dinding tubuh, kantung cabang, gonad, atau jaringan lainnya (Lowenstam, 1989).

Semua genus tunikata hanya memiliki satu spikula, kecuali genus *Pyura* yang memiliki lebih dari satu spikula yang bentuknya juga berbeda antara setiap spesiesnya. Selanjutnya, spesies yang memiliki bentuk spikula berbeda dapat saja hadir di berbagai lokasi jaringan namun dalam beberapa kasus juga hadir di jaringan yang sama (Lowenstam, 1989).

Pada spikula-spikula piramida yang diperiksa ditemukan enam jenis mineral yang berbeda masing-masing yaitu: vaterite, kalsit, amorf kalsium kalsium fosfat amorf, hidroksiapatit karbonat kristal (dahllite) dan apatit, selanjutnya genus *Pyura* memiliki jenis mineral yang berbeda setiap spesiesnya (Lowenstam, 1989).



Pada *Pyura Bradleyi* terdapat tiga jenis mineral dalam satu jenis spikula. Anggota genus Pyuridae, misalnya spesies *Aplousobranch*, *Didemnidae* dan *Cystodytes*, diketahui hanya membentuk mineral kalsium dan tidak membentuk aragonit, satu - satunya produk biomineralization dalam spikula deseminid dan *Cystodytes*. Spikula stellata yang ditemukan pada spesies *Pyura* dan *Didemnidae* morfologinya serupa namun struktur mineraloginya berbeda (Lowenstam, 1989).

II.1.1 Klasifikasi dari Tunikata *Pyura sp.* yaitu:

Klasifikasi tunikata *Pyura sp.* (World Register of Marine Species, 2017) yaitu :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Subphylum : Urochordata
Classis : Asidiaceae
Ordo : Stolidobranchia
Familia : Pyuridae
Genus : *Pyura*
Species : *Pyura sp.*

II.1.2 Morfologi Tunikata *Pyura sp.*

Tunikata, dikelompokkan dalam subfilum Urochordata, memiliki lapisan pelindung disebut dengan tunik sebagai ciri khasnya. Tunik ini terbentuk dari protein dan gula. Hewan tunikata umumnya mendapatkan makanan melalui proses *filter feeder* yaitu penyaringan zat-zat makanan dari air laut .



Gambar 1. Tunikata *Pyura sp.*
Sumber : Tanjung, 2015



Pyura sp. adalah salah satu spesies ascidian yang hidup soliter dan tumbuh pada substrat keras seperti pecahan karang sampai di puncak karang (Gambar 1). *Pyura sp.* dewasa berbentuk bulat telur, ditutupi oleh tunik kasar tebal berwarna coklat karena adanya epibionts. Setelah dibersihkan tunikata akan berwarna merah muda. Permukaan bagian dalam dari *siphon Pyura sp.* berwarna coklat gelap dengan garis-garis kuning pucat yang terdiri dari 4 (empat) lobus. Adapun untuk ukuran rata-rata dari tunikata *Pyura sp.* berkisar 1,5 x 0,7 cm (Kott, 2005).

II.1.3 Kandungan Kimiawi *Pyura sp.*

Kelompok yang termasuk invertebrata laut antara lain, spon laut (Filum Porifera), hewan lumut (Filum Bryozoa), *soft coral* (Filum Cnidaria) dan hewan bermantel (Filum Tunikata). Tunikata termasuk salah satu dari kelompok invertebrata laut dengan kandungan senyawa kimia terbanyak. (Edrada, 2000 dalam Handayani, 2010).

Sebagai kelompok hewan *filter feeder* tunikata memiliki kemampuan fisiologi untuk menyaring bahan pencemar; seperti logam berat, unsur Vanadium; mikroorganisme; dan fitoplankton, yang membedakannya dari sebagian besar hewan laut lainnya (Michibata *et al* 1986 dalam Litaay, 2015).

Tunikata dapat melakukan simbiosis dengan beberapa jenis jamur laut (*marine fungi*) untuk menghasilkan senyawa-senyawa organik dengan aktifitas farmakologis tertentu. Beberapa senyawa penting yang dihasilkan dari simbiosis jamur laut dengan tunikata, antara lain: Phitolides A-D (jamur *Phytomyces sp.* dengan *Oxycorynia fascicularis*), Oxepinamides A-C (jamur *Acremonium sp.* dengan *Ecteinascidia turbinata*) dan Yanuthone AE (jamur *Aspergillus niger* dengan *Aplidium sp.*) yang diketahui potensial sebagai anti inflamasi dan antimikroba (Bugni and Ireland, 2004; Saleem *et al.*, 2007, dalam Nurfadillah, 2015).

Selain dari hasil penelitian diatas Agrawal, (2017) menemukan jika dapat melakukan simbiosis dengan beberapa jenis jamur laut (*marine fungi*) untuk menghasilkan senyawa-senyawa organik dengan aktifitas farmakologis tertentu. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Agrawal, (2017) menemukan hasil dari analisis SEM dari ekstrak jamur laut



Simplicillium lamellicola yang menunjukkan adanya metabolit sekunder berupa enzim tirosinase yang paling efektif dengan hasil penghambatan yang sebanding dengan kontrol positif dalam menyebabkan kerusakan membran sel bakteri sehingga dapat dijadikan sebagai bahan antibakteri dari jamur laut (Agrawal, 2017).

Tunikata yang bersimbiosis dengan bakteri berpotensi menghasilkan metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid dan steroid. Selain itu, ditemukan juga senyawa - senyawa berupa 4-methoxypyrole, methanol, etanol, butanol dan heksana (Karthikeyan *et al.*, 2009). Senyawa yang terkandung pada tunikata menjadi acuan untuk dilakukan eksplorasi bakteri simbiosis sebagai salah satu bahan senyawa bioaktif pembuatan antibiotik (Sardiani, 2015).

Watermann (1999) menyebutkan terdapat asosiasi mikroorganisme dengan organisme laut yang diduga dapat mensintesa metabolit sekunder. Selanjutnya dikatakan bahwa mikroba yang diisolasi dari tumbuhan yang menghasilkan bahan bioaktif telah diketahui memiliki aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas tumbuhan inangnya. Salah satu potensi bakteri tersebut adalah sebagai sumber antibakteri patogen (Litaay dkk, 2015 dan Sardiani dkk, 2015).

Salah satu jenis dari tunikata yang dapat dieksplorasi kemampuannya sebagai alternatif dalam penemuan senyawa bioaktif adalah tunikata *Pyura sp.* yang dapat ditemukan melimpah dikawasan perairan spermonde. Sebelumnya telah diperoleh penemuan dari hasil penelitian (Niwa and Yoshida, 1988) bahwa tunikata *Pyura sacciformis* yang dikumpulkan dari Ago Bay, Me Prefecture Jepang memiliki kandungan metabolit sekunder baru yang disebut brominated quinazolinedione yang diperoleh pertama kali pada bahan alam.

Kandungan metabolit sekunder baru yang disebut quinzolinedione brominasi 1 bersama dengan 6-bromoindole-3-karbaldehida yang sebelumnya hanya diisolasi dari pseudomonad laut. Namun kini telah ditemukan quinazolinedione pertama kali pada bahan alam yaitu tunikata *Pyura sacciformis*. Turunan dari senyawa quinazoline telah di manfaatkan dalam bidang

logis salah satunya yaitu kuinazoline-4-on (6 – nitrokuinazoline – 4 – on
l) metil piridinium Bromometilkuinazolin-4-on sebagai antibakteri
dkk, 2014).



Hasil penelitian Kobayashi, (2016) terdapat bahan bioaktif dari tunikata *Eudistoma lih. rigida* yaitu Iejimalide A, sebuah macrolide antitumor unik karena aktivitas penghambatan V-ATPase selain itu juga menjadi senyawa memicu kematian sel apoptosis osteoklas. Adapun Eudistomin C, sebuah alkaloid β -karbol yang diisolasi dari tunikata Karibia *Eudistoma olivaseum*, menunjukkan aktivitas antivirus yang sangat kuat terhadap DNA dan RNA. Hal ini menunjukkan bahwa tunikata merupakan bahan laut yang potensial untuk dikembangkan dalam ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang farmakologi.

II.1.4 Penyebaran Tunikata *Pyura sp.*

Perairan Spermonde terdiri dari ratusan pulau besar dan kecil, memiliki potensi biota laut yang bervariasi. Salah satu kelompok biota penyusun terumbu karang di daerah ini adalah tunikata yang dikenal dengan nama lain ascidian (Suwingyo dkk, 2005).

Tunikata merupakan hewan avertebrata yang secara umum hidup sesil dengan tingkat penyebaran yang luas. Penyebaran tunikata terdapat di seluruh laut dunia, namun pada umumnya dapat ditemukan pada laut litoral pada zona intertidal hingga subtidal. Biasanya tunikata terdapat menempel pada karang, cangkang moluska, pada lambung kapal atau pada dasar pasir dan lumpur (Suwingyo dkk, 2005).

Menurut Abrar dan Manuputty (2008) kehadiran *ascidian* pada suatu daerah perairan dapat dibatasi oleh beberapa aspek. Salahsatu aspek yang dapat mempengaruhi yaitu kadar salinitas perairan yang berubah-ubah (fluktuasi) atau berkurang dari kadar normal air laut (30-32 ‰), namun pada kondisi tertentu beberapa jenis tunikata dapat bertahan dan ditemukan dalam jumlah melimpah meski kondisi kadar salinitas pada suatu lingkungan perairan sedang tidak normal.

Penyebaran dari tunikata *Pyura* pada umumnya terdapat pada substrat baik intertidal dan daerah subtidal. Spesies ini bisa mencapai ukuran besar dan membentuk koloni yang subur di tepi pantai yang terbuka, namun spesies ini sangat jarang terjadi di lingkungan yang terlindung (Rius dan Peter, 2011).



II.2 Metode Ekstraksi Pelarut

Metode ekstraksi paling sederhana yang umum digunakan dalam proses isolasi senyawa organik adalah maserasi. Metode ini merupakan jenis ekstraksi pelarut secara dingin, karena tidak memerlukan pemanasan. Metode ini memiliki beberapa keunggulan yaitu: mudah, sederhana, aman dan dapat mempertahankan struktur senyawa yang ada dalam maserat (Salamah, 2015).

Pelarut methanol merupakan pelarut yang banyak digunakan untuk ekstraksi senyawa-senyawa organik, karena methanol dapat mengikat hampir semua senyawa yang bersifat polar, non polar dan semi polar yang terdapat dalam ekstrak (Thompson, 1985 dan Pane, 2013).

II.3 Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.

Bulu babi *Tripneustes gratilla* Linn. merupakan salah satu jenis bulu babi yang biasa digunakan dalam bidang penelitian. Selain itu, bulu babi ini memiliki potensi yang cukup besar dan nilai ekonomi yang tinggi. Gonad bulu babi jenis *T. gratilla* yang dapat dikonsumsi tak jarang pada suatu daerah mengenalnya sebagai salah satu makanan yang cukup populer dan layak di ekspor pada Negara lain yang merupakan konsumen bulu babi terbesar di dunia seperti Jepang, Korea, Cina dan beberapa Negara lainnya (Aslan, 2005).

Berbagai metode yang digunakan dalam proses pengujian suatu bahan aktif, senyawa atau zat telah dilakukan pada organisme hidup. Salah satunya penelitian untuk proses pengujian pengaruh zat atau senyawa tertentu terhadap aktivitas sel organisme baik dari ekstrak tumbuhan dan hewan yang dimanfaatkan sebagai bahan baku obat-obatan, pengelolaan bahan makanan dan bahan kimia. Termasuk pula dalam hal ini, penelitian tentang pengaruh senyawa-senyawa dalam menghambat proses pembelahan sel tubuh organisme (uji antimetabolik). Penelitian yang berkembang biasanya menggunakan sel zigot bulu babi sebagai bahan uji dalam penelitian (Sjafaraenan dan Johannes, 2016).

bagaimana yang dikemukakan oleh Gisella (1994) bahwa pada umumnya anti kanker berdasarkan atas gangguan pada salah satu proses sel yang



esensial. Pada sel kanker maupun sel normal tidak mengalami perbedaan yang kualitatif, maka bahan anti kanker bersifat sitotoksik dan bukan kankerosid atau kankerotoksik yang selektif (Sjafaraenan dan Johannes, 2016).

Sel zigot bulu babi mempunyai sensitivitas selektif terhadap obat dan mengalami tahapan pembelahan seperti halnya sel kanker, sehingga banyak digunakan dalam penelitian zat anti kanker. Misalnya yaitu untuk melihat pengaruh suatu senyawa yang hendak diujikan potensinya dalam menghambat laju pembelahan dan pertumbuhan sel atau yang sering disebut sebagai sifat antimitotik. Mekanisme ini juga merupakan indikator yang dapat digunakan dalam menemukan senyawa-senyawa yang dapat dijadikan bahan dalam pembuatan obat anti kanker (Sjafaraenan dan Johannes, 2016).

Keunggulan pemanfaatan bulu babi dalam penelitian adalah bulu babi memiliki gamet yang dapat diperoleh dengan mudah, tidak perlu dilakukan sterilisasi sebelum penggunaannya. Selain itu bulu babi juga memiliki telur embrio yang awal umumnya kelihatan jelas dan dapat diamati dengan mudah. Selain itu, perkembangan awal dari embrio bulu babi juga sinkron atau serempak, yaitu ketika sejumlah telur di buahi maka semua sel telur akan menghasilkan embrio khas yang berkembang pada waktu yang sama. Hal ini dapat dijadikan sebagai tolak ukur dilakukannya penelitian lebih terhadap kemampuan bulu babi tersebut, serta dapat di jadikan sebagai bahan utama untuk sejumlah penemuan-penemuan besar dalam hal penelitian (Toha, 2006).

Kemampuan sel zigot bulu babi yang mempunyai tingkat sensitivitas selektif terhadap obat dan dapat berpengaruh terhadap tahapan pembelahan selnya. Tahapan-tahapan pembelahan sel dari bulu babi yang serupa dengan tahapan pembelahan dari sel kanker yang cepat pada waktu yang bersamaan, sehingga sel zigot bulu babi banyak digunakan dalam penelitian zat anti kanker.

yang sering digunakan berupa pengujian terhadap pengaruh suatu dalam menghambat laju pembelahan dan pertumbuhan sel atau yang disebut sebagai sifat antimitotik (Abubakar *et al*, 2012).



II.3.1 Klasifikasi Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.

Klasifikasi dari bulu babi *Tripneustes gratilla* Brotowijoyo, (2000) yaitu:

Kingdom : Animalia
Phylum : Echinodermata
Classis : Echinodea
Ordo : Tripnoida
Familia : Tripnoideai
Genus : *Tripneustes*
Species : *Tripneustes gratilla* Linn.

II.3.2 Morfologi Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.

Bulu babi memiliki morfologi dengan bentuk tubuh setengah bulat dan terlindung oleh struktur yang berupa cangkang. Pada tubuh bulu babi terdapat duri yang bervariasi (Gambar 2) nampak bulu babi dengan warna duri orange dan cangkang ungu. Secara umum variasi tersebut merupakan respond dari tiap individu terhadap fluktuasi lingkungan lokal, ketersediaan makanan dan berbagai faktor lingkungan lainnya yang dapat mempengaruhi. Didalam cangkang bulu babi terdapat beberapa organ salah satunya adalah organ reproduksi yaitu gonad yang dapat dikonsumsi (Toha, 2006).



Gambar 2. Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.

Sumber : Dokumentasi Pribadi



Bulu babi mengalami pertumbuhan sangat cepat pada awal hidupnya, namun memiliki jumlah yang terbatas. Hal ini berkaitan

dengan banyaknya predator yang dapat memangsa hewan berukuran kecil termasuk bulu babi. Setelah mencapai umur tertentu, cangkang bulu babi sudah cukup kuat sehingga jumlah predator yang dapat memangsa bulu babi juga telah berkurang (Ratna, 2002).

II.3.3 Penyebaran dari Bulu Babi *Tripneustes gratilla* Linn.

Bulu babi mempunyai habitat dan sebaran menurut pola sebaran terumbu karang dan lamun dan di daerah terumbu karang, famili Diadematidae bisa menempati rataan pasir dan daerah tubir terumbu karang. Menurut Aziz dan Darsono (1979) dalam Laning dkk, 2014; bulu babi dapat hidup berkelompok dalam jumlah besar di daerah rataan pasir. Hal ini sesuai dengan hasil pengamatan pada saat penelitian. Berbeda dengan jenis *Tripneustes gratilla* yang hidupnya bergantung pada keberadaan lamun. *Tripneustes gratilla* selalu ditemukan pada daerah yang ditumbuhi lamun yang diduga menjadi habitat yang paling baik untuk perkembangan dan perlindungan.

Bulu yang babi sebagian besar hidup pada substrat yang keras, yakni batu-batuan atau terumbu karang dan hanya sebagian kecil yang hidup pada substrat pasir dan lumpur. Hal ini karena pada kondisi demikian kaki tabung bulu babi sulit untuk mendapatkan tempat melekat. Golongan bulu babi ini, hidup pada daerah teluk yang tenang atau perairan lebih dalam sehingga pengaruh ombak juga lebih kecil (Hasan, 2002).

Bulu babi *T. gratilla* Linn. umumnya digunakan dalam uji karena memiliki tingkat kepekaan terhadap paparan senyawa yang cukup tinggi sehingga bulu babi baik digunakan dalam mengukur toksisitas dari suatu senyawa. Zigot dari bulu babi *T. gratilla* Linn. sering digunakan sebagai media tes dalam berbagai penelitian uji senyawa dari bahan organik. Selain kelimpahannya yang cukup tinggi, proses aplikasi kerja yang tergolong cukup mudah dan harga untuk melakukan pengujian yang relatif murah dalam prosedur pembuatan media tes (Afriansyah dkk, 2017).



Spek Reproduksi dari *Tripneustes gratilla* Linn.

Secara umum semua jenis bulu babi yang terdapat di perairan memiliki dalam hal seks yang dimilikinya (unisexual). Struktur kelamin jantan

dan kelamin betina dari bulu babi hampir memiliki kesamaan yang cukup besar, sehingga untuk dapat membedakan bulu babi jantan dan bulu babi betina yang ditinjau secara morfologisnya dapat dikatakan tidak mudah hal ini terjadi akibat sifat *dimorfisme* yang dimiliki oleh bulu babi (Yamaguchi, 1991).

Jika ada, perbedaan tersebut lebih atau kurang mencolok dan menyangkut ukuran, morfologi atau sistem genital. Tahara dkk, 1958 menggunakan "tipe *Tripneustes*" pertama kali untuk menggambarkan pola dimorfism dalam papilla genital digunakan sebagai organisme model dalam menentukan jenis kelamin berdasarkan kehadiran, panjang dan bentuk papilla genital. Bulu babi jantan ditandai oleh papilla genital panjang dan berbentuk tabung, sedangkan betina papilla genitalnya pendek dan kerucut. Meski membantu pola ini tidak praktis karena penentuan papilla genital harus membelah dan mematikan bulu babi serta tidak dapat dilakukan secara langsung (Radjab, 2001 dalam Basir, 2014).

Perbedaan diameter cangkang kemungkinan terkait dengan umur *T. gratilla*. *T. gratilla* muda umumnya memiliki ukuran cangkang kecil dan *T. gratilla* tua memiliki cangkang relatif lebih besar. *T. gratilla* dewasa dapat mencapai ukuran tertinggi bervariasi masing-masing 108 mm, 145 mm dan 155 mm. Diameter cangkang yang berbeda juga dapat disebabkan oleh jenis kelamin. Menurut Abessa dkk. (2001) dalam Toha, (2012) hewan dengan ukuran yang sama betina tampaknya memiliki gonopora sedikit lebih besar dari jantan. Informasi ini meskipun tidak empiris dan ilmiah, mulai digunakan dalam upaya menentukan jenis kelamin bulu babi. Namun berdasarkan hasil penelitian oleh Toha dkk belum dapat digunakan dalam variabel morfologi sebagai penentu jenis kelamin.

Bulu babi memiliki kemampuan reproduksi secara eksternal, dimana sel sperma dan sel telur yang akan mengalami fertilisasi diluar tubuh dari induknya.

Adapun reproduksi bulu babi setelah pembuahan, yaitu sel telur akan mengalami

perkembangan embrio yang diawali oleh pembelahan sel dari 2 hingga 64

terlanjut hingga mencapai tahap blastula dan gastrula (Aslan, 2005).

Tahap pembelahan sel setelah terjadi fertilisasi terdiri atas beberapa yaitu

tahap pertama sel terjadi antara 2 - 3 jam setelah terjadinya fertilisasi.



Selanjutnya pembelahan tambahan terjadi interval sekitar 20 menit untuk membentuk 4 sel, 8 sel, 16 sel dan seterusnya. Setelah 6 jam, terbentuk blastula. Perkembangan selanjutnya menampakkan terbentuknya gastrula pada 1 atau 2 hari kemudian (Sumich, 1992).

Setelah menetas, larva berkembang berbentuk prisma. Tangkai memanjang dan membentuk empat lengan pada larva awal pluteus dengan sepasang lengan antero lateral dan sepasang lengan postero oral. Pada tahap pluteus dengan enam lengan, terbentuk lengan postero dorsal dan pada tahap pluteus dengan delapan lengan, bagian cangkang, kaki tabung primitif dan duri terbentuk. Metamorfosis dimulai dengan munculnya primordium bulu babi dan berakhir dengan perkembangan anus dan mulut dengan perubahan dari bentuk pelagik menjadi bentik setelah metamorfosis (Yamaguchi, 1991).

Siklus bulan atau fotoperiode dapat memberikan perbedaan tentang indeks gonad dan karakteristik gonad. Intensitas cahaya bulan pada tiga puluh malam bulan di langit sangat pendek, jika dibandingkan dengan bulan purnama hal ini berpengaruh pada jangkauan pasang surut.

Bulu babi bersifat nokturnal dan omnivora lebih cenderung aktivitas cari makan di malam hari yang panjang gelap lebih lama daripada terang. Indeks gonad di bulan purnama lebih kecil, karena bulu babi tidak menyukai cahaya terang yang relatif panjang. Kondisi inilah yang menyebabkan antara bulan purnama dan bulan gelap terjadi perbedaan indeks gonad di masing-masing lokasi. Sehubungan dengan itu efek dari temperatur air laut pada pola reproduksi bulu babi dengan indeks gonad dan siklus bulanan dengan suhu air laut rata-rata bulan (Muthiga, 2005 dalam Tasruddin 2016). Menurut Lasut *et al.* (2002), dipilihnya bulu babi sebagai hewan uji lingkungan disebabkan karena ketersediaannya di alam yang melimpah, mudah untuk diambil dan pembentukan membran fertilisasinya terlihat dengan jelas.



Antimitotik

Antimitotik juga di sebut sebagai antimikrotubulus. Hal ini karena antimitotik memiliki kemampuan untuk mengikat tubulin dan menghambat polimerasi tubulin menjadi mikrotubulus. Proses ini mengakibatkan

terjadinya proses penghancuran mikrotubulus dan menyebabkan fase mitosis pada sel kanker akan terhenti dan proses ini akan diikuti dengan terjadinya kematian sel atau apoptosis (Johannes, 2008).

Pada proses pembelahan sel, mikrotubulus berbentuk gelendong yang mulai terbentuk ketika sel mulai mengalami fase pembelahan mitosis. Menurut Gascoigne dan Taylor (2009), agen antimitotik bekerja tanpa memengaruhi sel sehat, hal ini karena cara kerja dari antimitotik yang hanya mempengaruhi motor protein yaitu kinesin dan dyenin yang diperlukan untuk pemisahan poros kutub selama pembelahan sel mitosis. Oleh karena itu, senyawa antimitotik diketahui memiliki cara kerja yang lebih aman dalam proses pengobatan penyakit kanker (Johannes, 2008).

Berdasarkan data WHO 2011 kanker merupakan penyakit kronis yang terus mengalami peningkatan jumlah penderita di dunia. Kanker sampai hari ini telah menjadi perhatian selama beberapa dekade seiring dengan peningkatan angka kematian yang berkembang. Berdasarkan hasil penelitian Ewesuedo dan Ratain, 2003 Senyawa alkaloid memiliki peranan dalam penghambatan pertumbuhan sel kanker, misalnya senyawa vinkristin dan vinblastin yang terdapat pada daun tapak dara. Senyawa ini berperan sebagai *antimitotic agent* dengan mengikat dimer tubulin yang dapat mengganggu munculnya mikrotubul pada saat metafase, sehingga proliferasi sel kanker (Mardyaningsih, 2014).

Penelitian sebelumnya oleh Liambo dkk, 2012., Vinkristin digunakan sebagai kontrol positif pada pengujian antimitotik ekstrak sirsak terhadap sel zigot bulu babi *T. gratilla* dengan konsentrasi 0,01 µg/ml; 0,1 µg/ml; dan 1 µg/ml. Hasilnya menunjukkan bahwa Vinkristin sebagai kontrol positif pada konsentrasi 0,01 ppm menghasilkan penghambatan sebesar 24,33%; pada konsentrasi 0,1 ppm diperoleh penghambatan sebesar 43%; dan pada konsentrasi 1 ppm diperoleh

batan sebesar 59,78%. Hal tersebut maka diketahui jika senyawa mampu menghambat proses pembelahan sel *T.gratilla* lebih baik dari sirsak karena dengan konsentrasi yang jauh lebih kecil mampu



menghambat proses pembelahan sel atau antimitotik. Hal ini karena senyawa vinkristin adalah senyawa murni yang telah diuji kemampuannya dalam menghambat pembelahan sel kanker.

