PENAPISAN INHIBITOR PROTEASE YANG DIHASILKAN OLEH SPONGE ASAL KEPULAUAN SERIBU

Tati Nurhayati*, Pipih Suptijah*, Maggy T. Suhartono** dan Irman Febrian***

Abstract

Several medicines showing protease inhibitor mechanism are widely available in the markets. Among marine organisms, sponge is the big producer of bioactive compound, include protease inhibitor. The purpose of this research was to screen of protease inhibitor produced by sponge. Screening was be conducted using agar diffusion methods on ten of sponge which be extracted with methanol and distilled water. As test bacteria were used three species of pathogenic bacteria that is *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus*. The result of research showing that sponge which be extracted using methanol have low protease inhibitory activity ($\leq$ 30%), while that which be extracted using distilled water have high protease inhibitory, that is extract of *Jaspis stellifera* and extract of *Plakortis nigra* ($\geq$ 50%). The extract of *Jaspis stellifera* was inhibited of protease from *Escherichia.coli* and *Staphylococcus aureus* by minimum inhibitory concentration (*MIC*) 0.08%, while that extract of *Plakortis nigra* was inhibited protease from *S. aureus* by *MIC* 0.12%. Ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) was inhibited *S. aureus* and *E. coli* by *MIC* 0.16%. Based on the data, can be concluded that both the extract of sponge were potential as protease inhibitor.

Keywords: Bacteria, protease inhibitor, screening, sponge

PENDAHULUAN

Dalam dasawarsa terakhir ini perhatian terhadap protease sebagai target senyawa obat bagi penyakit asal bakteri (seperti pneumonia, kolera, *typhus*, *gonorrhoe)*, virus (seperti influenza dan HIV), dan malaria serta kanker, bahkan penyakit degeneratif seperti *Alzheimer* meningkat pesat, karena semakin jelasnya keterlibatan enzim ini dalam mekanisme molekular penyakit-penyakit tersebut.

Obat-obatan yang beberapa diantaranya mempunyai mekanisme inhibitor protease telah tersedia luas di pasaran, seperti Elafin (inhibitor elastase dari kulit manusia), antileuko protease, inhibitor serum ayam, inhibitor protease alkaline dari *Streptomyces*, dan lain-lain.

Sponge yang hidup di laut mempunyai metabolit sekunder yang aktif secara biologis. Di antara organisme yang hidup di laut, sponge mengandung komponen bioaktif terbesar, termasuk inhibitor protease (Mayer dan Lehmann, 2000).

Metabolit sekunder seperti terpenoid, alkaloid, peptida, bioaktif asam lemak dan steroid merupakan komponen yang umum terdapat di dalam sponge (Faulkner,

* Staf Pengajar Departemen Teknologi Hasil Perikanan, FPIK- IPB
** Staf Pengajar Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
*** Alumnus Departemen Teknologi Hasil Perikanan, FPIK-IPB

2003), termasuk pula inhibitor protease, seperti tethya protease inhibitor (TPI) yang bersifat toksik terhadap sel tumor (O'Keefe *et al.*, 1997), adociavirin yang merupakan inhibitor HIV (O'Keefe *et al.*, 1998), juga inhibitor kitinase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri yang berasosiasi dengan sponge juga menghasilkan komponen bioaktif. Ini berarti bahwa mikroorganisme yang bersimbiose disini mempunyai peranan dalam mempertahankan sponge sebagai inangnya (Webster *et al.*, 2003).

Dengan demikian dalam rangka memanfaatkan potensi yang ada di perairan Indonesia, khususnya di Laut Kepulauan Seribu, serta dalam rangka menyediakan produk biomedis alami (inhibitor enzim) yang terkarakterisasi dengan baik dan berpotensi komersial tinggi, maka penelitian untuk menemukan inhibitor protease merupakan suatu langkah awal yang baik.

METODOLOGI

Penelitian meliputi koleksi dan ekstraksi inhibitor protease dari sponge, penapisan bakteri patogen sebagai penghasil protease, penapisan sponge sebagai penghasil inhibitor protease, serta penentuan *MIC* (modifikasi Parish dan Davidson, 1993).

Koleksi sampel sponge dan Ekstraksi Inhibitor Protease dari Sponge

Sampel sponge sebanyak 10 jenis dikoleksi dari perairan Kepulauan Seribu dengan kedalaman berbeda (4-12m). Pengambilan sponge dilakukan dengan memotong bagian tubuh sponge menggunakan pisau *cutter*, potongan sponge dimasukkan ke dalam keranjang plastik yang kemudian dibawa ke permukaan air secara perlahan. Sponge hasil pengelompokan dimasukkan ke dalam air laut steril, lalu ditransportasikan dalam keadaan dingin menggunakan *cool box*. Sponge diidentifikasi berdasarkan bentuk dan warna (Allen dan Steene, 1994).

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan akuades dan methanol 80%. Ekstraksi dengan pelarut akuades sebanyak 2 kali dilakukan untuk tiap-tiap sampel sponge yang ditransportasikan dalam pelarut air laut steril. Sebanyak 20-50 g sampel ditimbang sesuai dengan jumlah sponge yang didapatkan dari alam, kemudian dihaluskan dengan blender. Sampel dimasukkan ke dalam wadah, lalu diberi akuades (b/v = 1:1) dan dimaserasi dalam *shaker bath* selama ± 24 jam (200 rpm, 24 °C). Sampel disaring dengan kertas saring kemudian filtrat ditampung. Ampas dari hasil ekstraksi pertama ditambahkan akuades (b/v = 1:1) kembali, lalu dimaserasi dalam *shaker bath* selama ± 24 jam (200 rpm, 24 °C). Sampel yang telah dimaserasi disaring dengan kertas saring. Filtrat hasil ekstraksi pertama dicampurkan dengan filtrat hasil ekstraksi kedua, kemudian filtrat di keringkan dengan *freeze dryer* untuk mendapatkan serbuk ekstrak.

Ekstraksi dengan pelarut metanol 80% dilakukan dengan prosedur yang sama seperti ekstraksi dengan pelarut akuades. Pada tahap pengeringan untuk mendapatkan rendemen, filtrat hasil ekstraksi pertama dan kedua dikeringkan dengan cara aerasi menggunakan aerator. Untuk mengetahui filtrat sudah bebas metanol atau belum dilakukan pembekuan sample dalam freezer. Apabila filtrat sulit beku berarti masih mengandung pelarut metanol. Perhitungan rendemen ekstrak yang dihasilkan dari proses ekstraksi dihitung dengan membandingkan berat ekstrak kering dan berat sponge awal.

Penapisan bakteri patogen sebagai penghasil protease

Penapisan bertujuan untuk mendapatkan bakteri patogen yang potensial memproduksi enzim protease. Penapisan dilakukan dengan menggunakan media Luria Bertani agar (LA) skim 2%. Media LA skim 2% sebanyak 10 ml dalam cawan petri, sebelumnya cawan petri dipilah-pilahkan dengan membuat garis diagonal sehingga terdapat enam buah bagian segitiga. Tiap-tiap bagian diinokulasikan satu ose koloni satu jenis bakteri uji. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang dibentuk oleh masing-masing jenis bakteri uji sebagai akibat dari aktivitas protease bakteri uji yang mendegradasi skim dalam media LA. Diameter koloni juga diukur menggunakan jangka sorong dan dihitung indeks proteolitik yang merupakan rasio perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni.

Penapisan sponge sebagai penghasil inhibitor protease

Penapisan bertujuan untuk mendapatkan jenis sponge yang berpotensi sebagai inhibitor protease. Media yang digunakan adalah media LA skim 2%. Ekstrak masing-

masing jenis sponge yang didapat dari proses ekstraksi dilarutkan dengan akuades steril) sehingga konsentrasinya 10% (b/v). Sebanyak 200 µl larutan tersebut ke dalam cawan petri steril, setelah itu media LA skim 2% dituang sebanyak 10 ml ke dalam cawan steril tersebut, kemudian cawan digoyang/diputar-putar sampai ekstrak homogen dengan media dan dibiarkan hingga membeku, sedangkan untuk kontrol digunakan campuran 200 µl akuades steril dengan media LA skim 2%. Bakteri uji yang potensial memproduksi enzim protease, yaitu *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus,* diambil satu ose kemudian ditusukkan ke dalam media yang telah beku. Selanjutnya diinkubasi selama 12 jam suhu 37 °C.

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{IPE}{IP} \times 100\%$$

Keterangan : IPE = indeks proteolitik dalam media yang mengandung ekstrak sponge

IP = indeks proteolitik dalam media yang tidak mengandung ekstrak sponge

Penentuan *MIC* (modifikasi Parish dan Davidson, 1993)

Ekstrak sponge hasil penapisan yang mempunyai aktivitas penghambatan protease (inhibitor protease) yang cukup tinggi dilakukan uji lanjutan, yaitu penentuan *MIC* dengan metode yang digunakan adalah metode difusi agar. Masing-masing ekstrak sponge yang berpotensi dibuat larutan dengan cara mengencerkan dalam pelarutnya (b/v), sebagai kontrol negatif digunakan pelarutnya sedangkan sebagai kontrol positif digunakan EDTA yang dilarutkan dalam buffer Tris-HCl 0,2 M pH 8. Pengenceran ekstrak sponge dengan media LA skim 2% disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengenceran ekstrak sponge dengan media LA skim 2%

Ekstrak sponge (%)	Konsentrasi ekstrak sponge dalam media agar (%)	EDTA (%)	Konsentrasi EDTA dalam media agar (%)
10	0,2	10	0,2
8	0,16	8	0,16
6	0,12	6	0,12
4	0,08	4	0,08
2	0,04	2	0,04
Kontrol (pelarut)	0	Kontrol (Tris-HCl 0,2 M,pH 8)	0

Suatu seri tabung diisi dengan 10 ml media LA skim 2 % dengan suhu ± 40 °C, kemudian dipipet sebanyak 200 µl larutan ekstrak sponge dan larutan EDTA dari tiap-tiap konsentrasinya ke dalam tabung. Media dituang ke dalam cawan petri, campuran digoyang-goyang hingga homogen dan dibiarkan membeku. Setelah membeku, pada setiap cawan petri dibuat sumur berdiameter 6 mm sebanyak 6 buah. Suspensi bakteri patogen hasil prekultur dengan konsentrasi 10^6 koloni/ml dipipet sebanyak 2 µl ke dalam 2 sumur untuk setiap jenis bakteri uji. Setelah inkubasi selama 12 jam dengan suhu 37 °C, dilakukan pengukuran diameter zona bening dan diameter koloni yang dibentuk oleh masing-masing bakteri uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Koleksi sampel sponge dan ekstraksi komponen inhibitor protease sponge

Hasil koleksi mendapatkan 10 jenis sponge yang hidup pada kedalaman antara ± 4-12 m. Sponge tersebut, yaitu (1) *Jaspis stellifera* (4m), (2) *Xetospongia exigua* (4m), (3) *Gelliodes* sp. (4m), (4) *Callyspongia muricana* (7m), (5) *Callyspongia* sp. (7m), (6). *Xetospongia testudinaria* (12m), (7). *Aplysina* sp. (12m), (8) *Reniochalina stalagmites* (10m), (9) *Plakortis nigra* (12m) dan (10) *Jaspis* sp.(5m).

Sponge yang telah dikoleksi diekstrak dengan menggunakan metanol dan akuades. Rendemen hasil ekstraksi dengan dua pelarut dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan data tersebut dapat dinyatakan bahwa rendemen ekstrak sponge dengan pelarut akuades berkisar 1,07-4,52%; sedangkan yang diekstrak dengan pelarut methanol berkisar 0,36-3,70%.

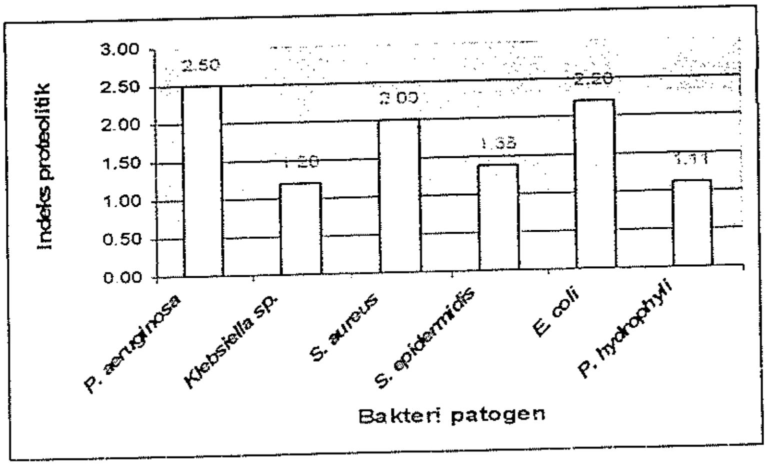
Penapisan bakteri patogen penghasil protease

Penapisan bakteri patogen penghasil protease bertujuan untuk mendapatkan bakteri patogen yang potensial memproduksi enzim protease secara ekstraseluler atau yang biasa disebut bakteri proteolitik. Indeks proteolitik yang dihasilkan oleh enam jenis bakteri dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.

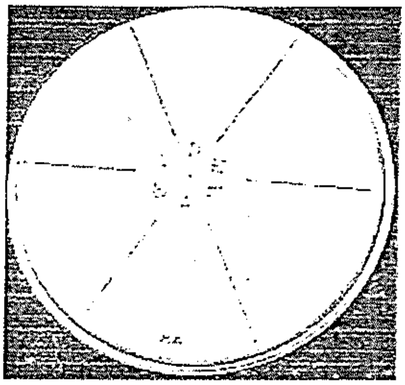
Tabel 2. Hasil ekstraksi sponge dengan pelarut akuades dan metanol

NO.	Spesies Sponge	Pelarut Akuades				Pelarut Metanol			
		Berat Awal (gr)	Volume Pelarut (ml)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)	Berat Awal (gr)	Volume Pelarut (ml)	Berat Ekstrak (gr)	Rendemen (%)
1	*Jaspis stellifera*	50	50	0,9100	1,8200	50	50	0,8381	1,6762
2	*Xetospongia exigua*	50	50	0,5366	1,0732	50	50	1,3735	2,7470
3	*Gelliodes* sp.	40	40	0,4584	1,1460	35	35	0,1300	0,3714
4	*Callyspongia muricana*	50	50	0,8339	1,6678	30	30	0,6704	2,2347
5	*Callyspongia* sp.	50	50	1,1747	2,3494	50	50	0,7038	1,4076
6	*Xetospongia testudinaria*	50	50	1,4408	2,8816	50	50	1,1077	2,2154
7	*Aplysina* sp.	20	20	0,9024	4,5120	20	20	0,2714	1,3570
8	*Reniochalina stalagmitis*	20	20	0,7340	3,6700	50	50	0,1806	0,3612
9	*Plakortis nigra*	50	50	1,9025	3,8050	50	50	1,8489	3,6978
10	*Jaspis* sp.	50	50	1,5607	3,1214	50	50	1,3999	2,7998

Berdasarkan hasil penapisan dari enam jenis bakteri didapatkan tiga jenis bakteri patogen yang memproduksi enzim protease ekstraseluler yang cukup tinggi, yaitu *P. aeruginosa, S. aureus* dan *E. coli* dengan indeks proteolitik dari masing-masing tersebut berturut-turut 2,5; 2,0; 2,2. Berdasarkan data tersebut *P. aeruginosa* mempunyai daya proteolitik yang paling besar. Semua bakteri mempunyai enzim protease (proteinase) di dalam sel, tetapi tidak semua mempunyai enzim protease ekstraseluler.



Gambar 1. Indeks proteolitik bakteri patogen



Ket : A: Koloni *P. aeruginosa*
B: Koloni *Klebsiella* sp.
C: Koloni *S. aureus*
D: Koloni *S. epidermidis*
E: Koloni *E. coli*
F: Koloni *A. hydrophyli*

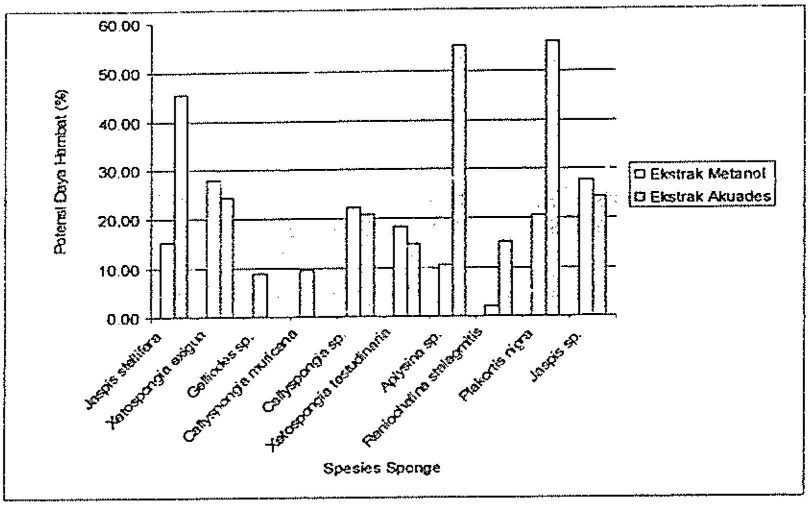
Gambar 2. Zona bening yang dibentuk akibat aktivitas protease bakteri patogen

Penapisan potensi sponge sebagai inhibitor protease

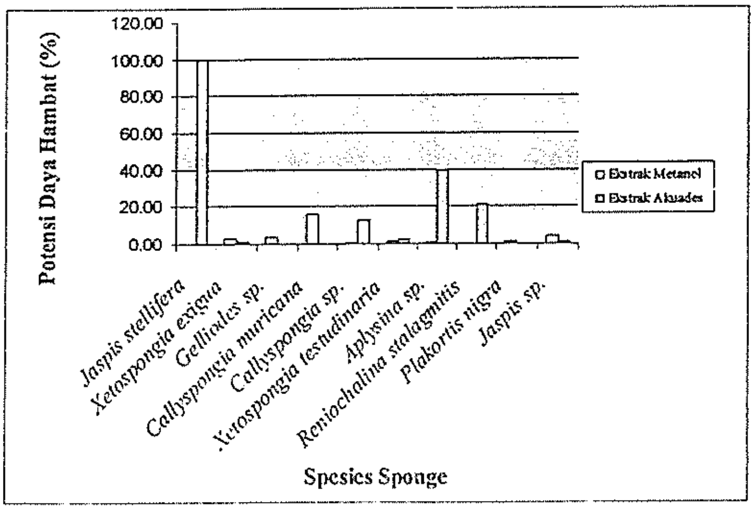
Bakteri uji yang digunakan dalam penapisan potensi sponge sebagai inhibitor protease adalah bakteri yang potensial memproduksi protease. Penapisan dilakukan dengan tujuan untuk menentukan sponge yang potensial sebagai penghasil inhibitor protease. Keberadaan inhibitor protease dalam media uji ditandai dengan mengecilnya areal bening di sekeliling koloni.

Hasil percobaan penapisan ekstrak dari 10 jenis sponge terhadap bakteri *P. aeruginosa* didapatkan daya hambat ekstrak sponge berkisar antara 2,03% - 27,74% untuk sponge yang diekstrak dengan pelarut metanol, sedangkan ekstrak sponge hasil ekstraksi dengan pelarut akuades berkisar antara 0,00% - 56,17%. Potensi daya hambat terbesar dimiliki oleh ekstrak dengan pelarut akuades dari sponge *Plakortis nigra,* yaitu sebesar 56,17% diikuti oleh ekstrak sponge *Aplysina* sp. sebesar 55,28%, sedangkan daya hambat *Jaspis stellifera* sebesar 45,50%. Ekstrak sponge dengan pelarut metanol memiliki daya hambat terbesar, yaitu pada sponge *Xetospongia exigua* sebesar 27,90% diikuti oleh ekstrak sponge *Jaspis* sp., *Callyspongia* sp., *Plakortis nigra* sebesar 27,74%, 22,38% dan 20,60% (Gambar 3).

Berdasarkan hasil penapisan ekstrak dari 10 jenis sponge terhadap bakteri *E .coli* didapatkan daya hambat berkisar antara 0,00% - 15,37% untuk ekstrak dengan pelarut metanol, sedangkan untuk ekstrak dengan pelarut akuades potensi daya hambat berkisar antara 0,00% -100,00%. Potensi daya hambat yang relatif besar, yaitu pada ekstrak sponge hasil ekstraksi dengan pelarut akuades. Ekstrak dengan pelarut akuades dari sponge *Jaspis stellifera* mempunyai potensi daya hambat yang sempurna (100%) terhadap protease bakteri *E. coli*, yaitu sebesar 100%. Ekstrak sponge *Aplysina* sp. dan *Reniochalina stalagmitis* memiliki daya hambat berturut-turut yaitu 39,69%, 20,90%, sedangkan daya hambat terbesar dari ekstrak dengan pelarut metanol, yaitu ekstrak sponge *Callyspongia muricana* yaitu sebesar 15,37% (Gambar 4).



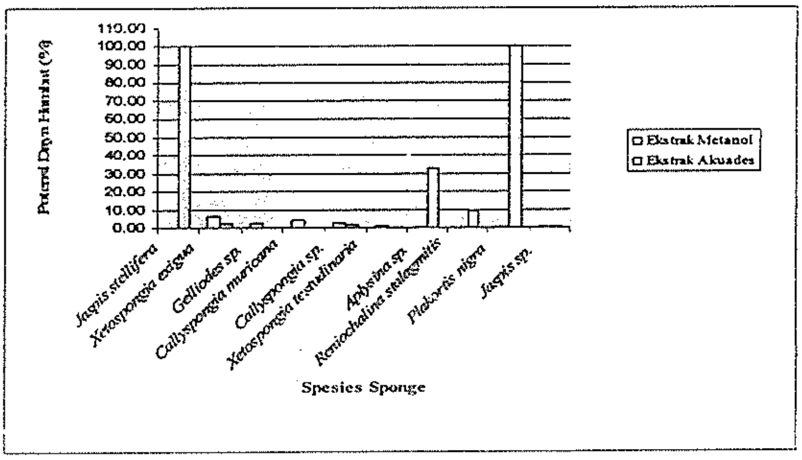
Gambar 3. Potensi daya hambat ekstrak sponge terhadap protease *P. aeruginosa*



Gambar 4. Potensi daya hambat ekstrak sponge terhadap protease *E. coli*

Hasil penapisan ekstrak dari 10 jenis sponge terhadap bakteri *S. aureus* didapatkan daya hambat ekstrak sponge berkisar antara 0,00% - 6,41% untuk ekstrak dengan pelarut metanol, sedangkan untuk ekstrak sponge dengan pelarut akuades potensi daya hambat berkisar antara 0,00% - 100,00%. Ekstrak dengan pelarut akuades dari sponge *Jaspis stellifera* dan *Plakortis nigra* mempunyai potensi daya hambat yang sempurna terhadap protease bakteri *S. aureus* yaitu sebesar 100% dan pada ekstrak sponge *Aplysina* sp. dengan pelarut akuades mempunyai daya hambat sebesar 33,06%, sedangkan daya hambat ekstrak dengan pelarut metanol yang terbesar yaitu pada sponge *Xetospongia exigua* yaitu sebesar 6,41% (Gambar 5).

Daya hambat ekstrak akuades lebih berpotensi dibandingkan dengan ekstrak methanol. Hal ini menandakan bahwa komponen inhibitor protease yang dapat menghambat protease cenderung larut pada pelarut akuades dan bisa dikatakan pelarut akuades potensial digunakan sebagai pelarut dalam mengekstraksi komponen inhibitor protease dari sponge. Hal ini disebabkan karena ekstrak sponge *Japis stellifera* dan *Plakortis nigra* dengan pelarut akuades dapat menghambat sempurna (100%) protease *E. coli* dan *S. aureus*.



Gambar 5. Potensi daya hambat ekstrak sponge terhadap protease *S. aureus*

Penentuan *MIC*

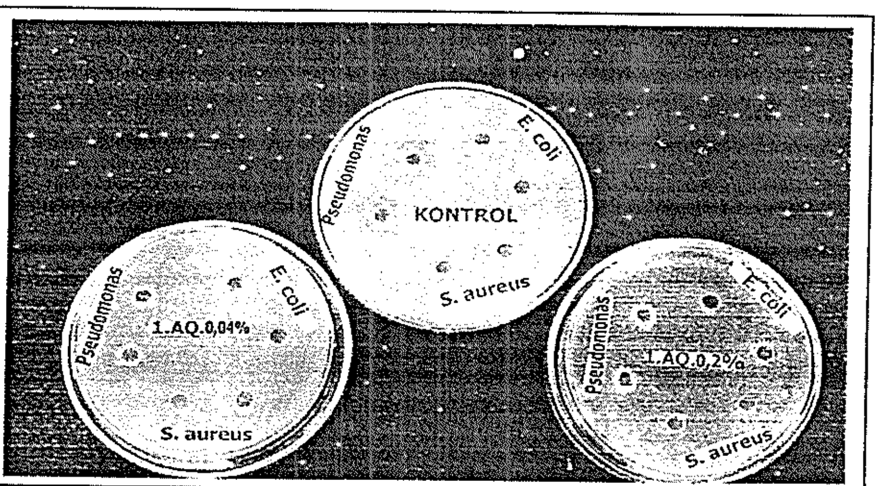
Hasil *MIC* menunjukkan bahwa ekstrak sponge *Aplysina* sp., *Plakortis nigra* dan EDTA sebagai inhibitor komersial menghambat protease bakteri *P. aeruginosa* namun tidak dapat ditentukan konsentrasi hambatan minimumnya karena daya hambat kedua ekstrak tersebut dan EDTA pada beberapa konsentrasi belum mencapai 50%. meskipun pada tahapan penapisan kedua ekstrak sponge tersebut menghambat protease *P. aeruginosa* lebih dari pada 50%. Hal ini diduga karena metode yang digunakan pada tahapan penapisan potensi ekstrak sponge sebagai inhibitor protease dan tahapan *MIC* berbeda, yaitu pada tahapan penapisan digunakan metode yang mudah sehingga pekerjaan efisien, bakteri patogen langsung diinokulasi ke dalam media yang sudah mengandung ekstrak sponge tanpa dilakukan prekultur terhadap bakteri patogen seperti halnya pada tahapan *MIC* sehingga bakteri patogen dalam hal ini *P. aeruginosa* yang telah dilakukan prekultur akan lebih dominan didalam pertumbuhan maupun produksi enzim protease. *Minimum inhibitory concentration* (*MIC*) dari ekstrak sponge dapat dilihat pada Tabel 3.

Konsentrasi minimal ekstrak sponge *Jaspis stellifera* untuk dapat menghambat protease *E. coli* adalah 0,08% (Gambar 6), sedangkan EDTA untuk dapat menghambat protease *E. coli* dibutuhkan konsentrasi minimal yaitu 0,16% (Gambar 9). Ekstrak sponge mempunyai dosis yang lebih kecil dibandingkan EDTA. Hal ini menunjukkan ekstrak sponge *Jaspis stellifera* potensial sebagai inhibitor alami terhadap protease *E. coli* dan lebih efektif dibanding dengan EDTA. Sponge jenis ini dapat dilihat pada Gambar 7.

Konsentrasi minimal untuk dapat menghambat protease *S. aureus* dengan ekstrak sponge *Jaspis stellifera* adalah 0,08% dan sponge *Plakortis nigra* adalah 0,12% (Gambar 8). EDTA untuk dapat menghambat protease *S. aureus* dibutuhkan konsentrasi minimal, yaitu 0,16% (Gambar 9). Kedua ekstrak sponge tersebut mempunyai dosis yang lebih kecil dibandingkan EDTA dalam menghambat protease *S. aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa kedua ekstrak tersebut potensial sebagai inhibitor terhadap protease *S. aureus* dan lebih efektif dibanding EDTA. Sponge jenis ini dapat dilihat pada Gambar 10.

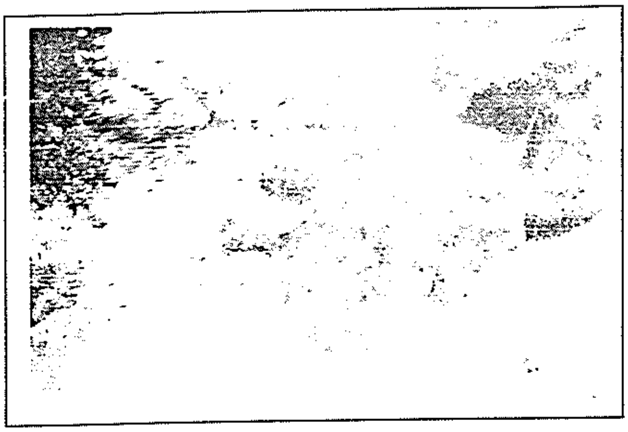
Tabel 3. *Minimum inhibitory concentration (MIC)*

Spesies Sponge	Konsentrasi (%)	Potensi Daya Hambat (%)			Keterangan
		P. aeruginosa	*E. coli*	*S. aureus*	
Jaspis stellifera (ekstrak akuades)	0,2	-	100,00	100,00	*MIC* terhadap *E.coli* 0,08 %
	0,16	-	100,00	100,00	
	0,12	-	100,00	100,00	
	0,08	-	100,00	100,00	*MIC* terhadap *S. aureus* 0,08 %
	0,04	-	0,11	0,18	
	0	-	0,00	0,00	
Aplysina sp. (ekstrak akuades)	0,2	33,84	-	-	-
	0,16	30,41	-	-	
	0,12	11,51	-	-	
	0,08	5,29	-	-	
	0,04	0,12	-	-	
	0	0,00	-	-	
Plakortis nigra (ekstrak akuades)	0,2	32,66	-	100,00	-
	0,16	13,22	-	100,00	
	0,12	4,72	-	100,00	
	0,08	1,93	-	3,17	*MIC* terhadap *S. aureus* 0,12 %
	0,04	0,61	-	0,06	
	0	0,00	-	0,00	
EDTA	0,2	36,81	100,00	100,00	-
	0,16	36,63	100,00	100,00	
	0,12	6,75	16,78	9,41	*MIC* terhadap *E.coli* 0,16 %
	0,08	1,36	16,58	4,08	
	0,04	0,36	0,15	0,35	*MIC* terhadap *S. aureus* 0,16 %
	0	0,00	0,00	0,00	

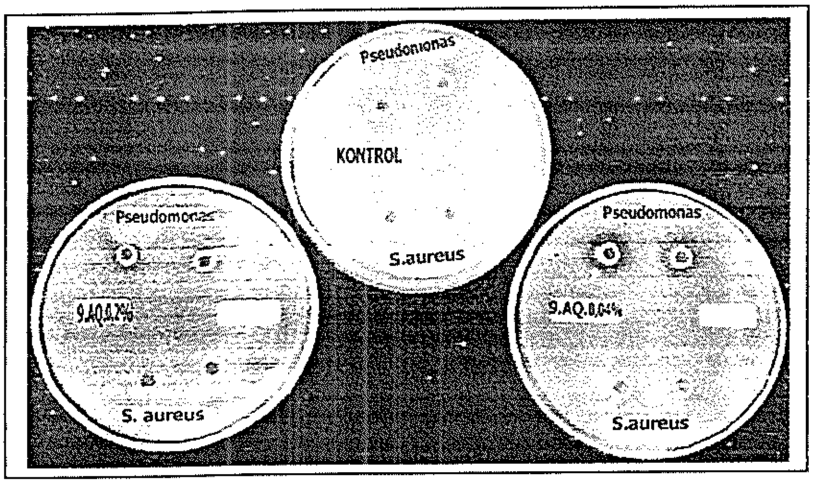


Ket : 1.AQ.004% : Ekstrak sponge *Jaspis stellifera* konsentrasi 0,04%
1.AQ.0,2% : Ektrak sponge *Jaspis stellifera* konsentrasi 0,2%

Gambar 6. Zona hambat ekstrak sponge *Jaspis stellifera*

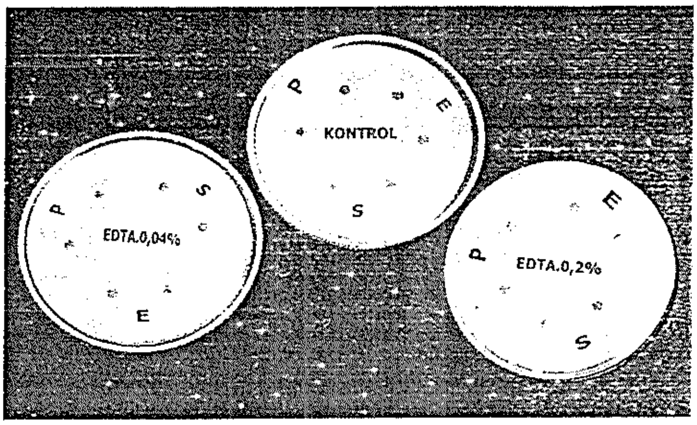


Gambar 7. Sponge *Jaspis stellifera* yang memiliki potensi daya hambat terhadap protease *S. aureus* dan *E.coli*



Ket : 9.AQ.004% Ekstrak sponge *Plakortis nigra* konsentrasi 0,04%
9.AQ.0,2% Ekstrak sponge *Plakortis nigra* konsentrasi 0,2%

Gambar 8. Zona hambat ekstrak sponge *Plakortis nigra*



Ket : EDTA.004% : Media dengan penambahan EDTA konsentrasi 0,04%
EDTA.2% : Media dengan penambahan EDTA konsentrasi 0.2%
P : Koloni *P. aeruginosa* , E : Koloni *E. coli*, S : Koloni *S. aureus*

Gambar 9. Zona hambat senyawa EDTA terhadap protease *P.aeruginosa*, *E. coli*, dan *S. aureus*

Gambar 10. Sponge *Plakortis nigra* yang memiliki potensi daya hambat terhadap protease *S. aureus*

KESIMPULAN

Sponge yang berasal dari Kepulauan Seribu telah berhasil dikoleksi dan diekstraksi komponen bioaktifnya, yaitu inhibitor protease, dengan menggunakan pelarut akuades dan metanol. Diantara kedua pelarut tersebut, pelarut akuades merupakan pelarut yang potensial untuk mengekstrak inhibitor protease dari sponge *Jaspis stellifera* dan *Plakortis nigra* dengan potensi daya hambat lebih dari 50%. Sponge yang pertama mempunyai *MIC* 0,08% terhadap protease *E. coli* dan *S. aureus*. sementara itu sponge yang kedua mempunyai *MIC* 0,12% terhadap protease *S.aureus*. Sementara itu, inhibitor protease komersial (EDTA) mempunyai *MIC* terhadap *E. coli* dan *S. aureus* sebesar 0,16%. Ini berarti bahwa ekstrak sponge tersebut potensial sebagai inhibitor protease.

SARAN

Perlu penelitian untuk mengetahui komponen-komponen yang berperan sebagai inhibitor protease. Selain itu, disinyalir bahwa komponen bioaktif yang ada di sponge dihasilkan pula oleh simbionnya. Oleh karena itu, diperlukan penelitian tentang komponen bioaktif, dalam hal ini inhibitor protease, yang berasal dari mikroorganisme yang berasosiasi dengan sponge.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktur Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Dikti yang telah mengusahakan dana untuk penelitian ini melalui HIBAH BERSAING XI.

DAFTAR PUSTAKA

Allen GR dan Steene R. 1994. Indo-Pasific coral reef field guide. Tropical Reef Research, Singapore, 378 pp.

Faulkner DJ Unson MD dan Bewley CA. 1994. The chemistry of some sponges and their symbionts. Pure and Appl. Chem. *66*:1983-1990.

Mayer AMS dan VKB Lehmann. 2000. Marine pharmacology. The Pharmacological. 42(2):62-69.

Parish ME dan PM Davidson. 1993. Methods for evaluation. *Dalam* Anti*MIC*robials in Foods. P.M. Davidson dan A.L. Branen (Eds.) 2nd edition. Marcel Dekker. New York.

O'Keefe BR, JA Beutler, JHII Cardellina, TR Prather, RH Shoemaker, RC II Sowder, LE Henderson, LK Pannell, dan MR Boyd. 1997. Isolation of a novel kunitz family protease inhibitor in association with tethya hemolysin from the sponge *Tethya ingalli*. J. Nat. Prod. 60:1094-1099.

O'Keefe BR, T Erim, JA Beutler, JH Cardellina II, RJ Gulakowski, BL Krepps, JB. McMahon, RC. Sowder II, DG Johnson, RW Buckheit Jr, S Halliday, MR Boyd. 1998. Isolation and characterization of adociavirin, a novel HIV-inhibitory protein from the sponge *Adocia* sp. FEBS Lett. 431:85-90.

Webster, NS, KJ. Wilson, LL. Blackall, RT. Hill. 2001. Phyiogenetic diversity of bacteria associated with the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. Appl. and Environ. *MICrob*. 67(1):434-444.