

KELAYAKAN METODE METABOLOMIK PADA PENGKAJIAN LINGKUNGAN TERUMBU KARANG

Hedi Indra Januar^{*)}, Boedi Hendrarto^{**)}, dan Ekowati Chasanah^{*)}

ABSTRAK

Studi ini bertujuan untuk memaparkan kelayakan metode metabolomik sidik jari dan penanda kimia pada pengkajian kondisi lingkungan terumbu karang. Berdasarkan telaah pustaka, kedua jenis metabolomik dapat diterapkan pada pengkajian kondisi terumbu karang, dengan keunggulan dan kelemahannya masing-masing. Metabolomik sidik jari merupakan pendekatan yang sangat komprehensif dalam menilai kondisi bioindikator terumbu karang yang mengalami stressor lingkungan, namun memerlukan instrumen kimia yang canggih dan analisis data hasil secara statistik yang cukup rumit. Sebaliknya, keunggulan metabolomik penanda kimia lebih sederhana dalam pengujian dan pengolahan data hasil, namun kelemahannya adalah tidak secara komprehensif menelaah perubahan metabolit bioindikator. Jika diterapkan pada *high throughput screening* kondisi terumbu karang, maka secara subjektif analisis metabolomik penanda kimia memiliki potensi lebih baik. Salah satu penanda kimia yang potensial dipergunakan adalah *cembranoid*, yaitu senyawa bioaktif dari karang lunak.

ABSTRACT: *Feasibility of metabolomic analysis in assessing coral reefs environments.*
By: Hedi Indra Januar, Boedi Hendrarto and Ekowati Chasanah

This study aimed to explain the feasibility of fingerprint and chemical marker metabolomic analysis in assessment of coral reefs environments. Based on literature review, both analysis might be implemented on coral reef environment assessment, with their specific strength and weakness. Fingerprint metabolomic is a comprehensive approach in assessing the condition of coral reefs bioindicator that is having environmental stresses. It require high technology chemical instrumentation and complicated statistical approach in post data analysis. On the other hand, chemical marker metabolomic is more simplified in data analysis and instrumentation, but not comprehensively assess the metabolite changes of bioindicator that is having environmental stresses. To apply as high throughput screening in coral reefs assessment, subjectively the chemical marker method would be more feasible. One of the potential chemical marker that used is cembranoids, a bioactive compound from soft corals.

KEYWORDS: *environmental metabolomics, coral reefs assessments, soft corals, cembranoid*

PENDAHULUAN

Komunitas terumbu karang Indonesia merupakan wilayah dengan biodiversitas tinggi sehingga menjadi salah satu sumber terbaik untuk mendapatkan senyawa kimia baru yang memiliki aktivitas biologis. Namun peningkatan stressor antropogenik dan pemanasan global pada habitat terumbu karang berpotensi sebagai ancaman tinggi terhadap biodiversitas terumbu karang (Rajendran *et al.*, 2001). Sebagai efeknya, metabolisme dalam hewan laut akan beradaptasi terhadap kondisi lingkungannya. Fluktuasi kadar metabolit yang beradaptasi terhadap lingkungannya tersebut menjadi dasar *high throughput screening* dalam mengetahui kondisi lingkungan, dan dikenal dengan analisis metabolomik lingkungan (Lin *et al.*, 2006). Melalui cara metabolomik, kondisi lingkungan terumbu karang dapat diketahui dengan

cepat. Selain itu, kadar metabolisme sekunder terumbu karang yang seringkali merupakan senyawa bioaktif akan memperlihatkan kekayaan diversitas *plasma nutfah* suatu wilayah terumbu karang. Hal ini menjadi sangat penting bagi konservasi lingkungan laut di Indonesia yang telah dicanangkan seluas 10 juta hektar pada tahun 2010 ini (Poernomo, 2009). Efektifitas peningkatan kualitas kawasan terumbu karang akibat keberadaan konservasi yang dicanangkan harus dilakukan secara berkala. Kondisi terumbu karang Indonesia saat ini secara umum buruk, hanya sebesar 6% saja yang berada dalam kondisi baik (Cappenberg & Salatalohy, 2008). Namun, untuk melakukan penelaahan terhadap kondisi terumbu karang, terlebih jika dilakukan secara berkala, dibutuhkan sumberdaya yang besar (Estradivari *et al.*, 2007). Penyederhanaan melalui metode metabolomik dapat menjadi *high throughput*

^{*)} Peneliti pada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan; Email: idjanuar@gmail.com

^{**)} Pengajar pada Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro

screening dalam pengkajian efektivitas daerah perlindungan laut, untuk mengetahui dengan cepat kondisi lingkungan, dan efektivitas penjagaan kandungan *plasma nutfah* dari biota-biota yang ada di dalamnya.

Hal inilah yang akan dijelaskan di dalam makalah ini. Berdasarkan telaah pustaka, makalah ini bertujuan untuk memaparkan fisibilitas metabolomik lingkungan menggunakan penanda kimia senyawa bioaktif dari karang lunak dalam menelaah kondisi terumbu karang dan lingkungannya. Pada tahapan awal akan dijelaskan metode dalam analisis metabolomik lingkungan, selanjutnya secara subjektif akan dipilih metode yang paling fisibel dalam aplikasi pengkajian kondisi perairan terumbu karang. Pada penelaahan selanjutnya, akan dipaparkan fisibilitas senyawa bioaktif dari karang lunak sebagai penanda kimia.

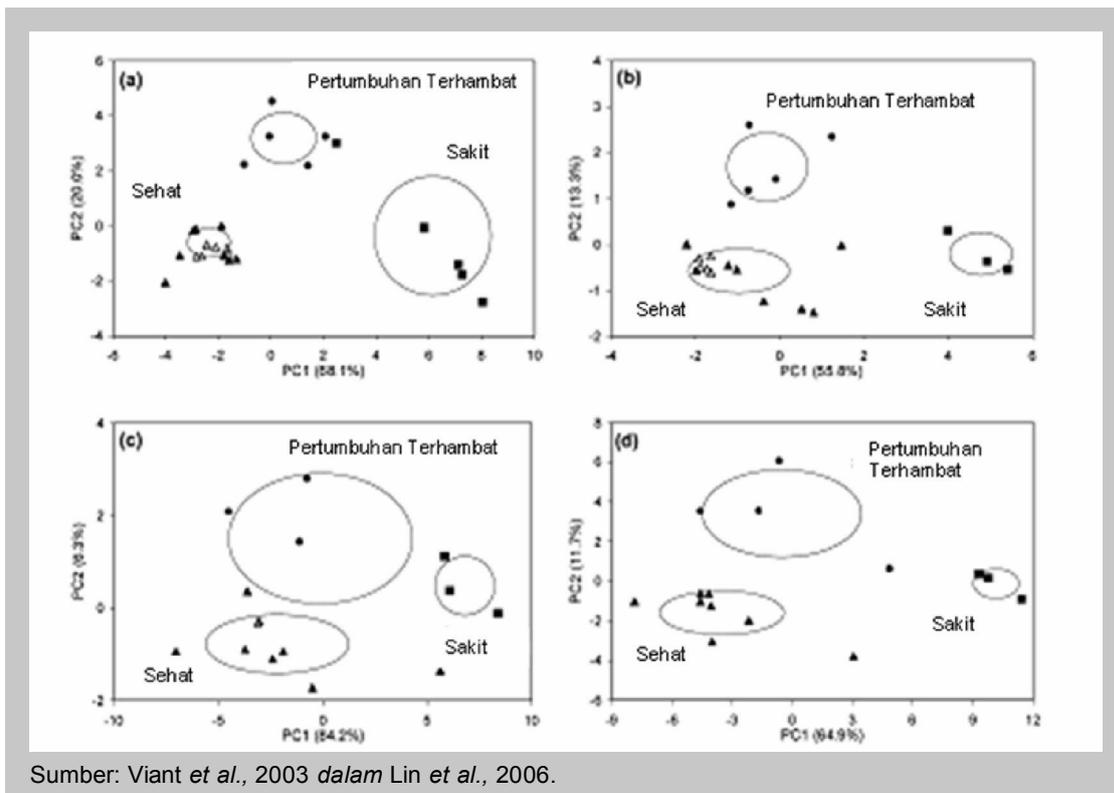
ANALISIS METABOLOMIK LINGKUNGAN

Secara garis besar, terdapat dua macam metode analisis metabolomik yaitu metabolomik sidik jari dan penanda kimia. Perbedaan mendasar di antara keduanya adalah metabolomik sidik jari akan menelaah metabolisme dari bioindikator secara

keseluruhan, sedangkan metode penanda kimia hanya akan melakukan kuantifikasi terhadap senyawa target tertentu yang kadarnya berkorelasi terhadap perubahan lingkungan. Kedua metode ini akan dijelaskan sebagai berikut:

Metabolomik Sidik Jari Bioindikator

Pengukuran sidik jari metabolisme dilakukan dengan mengekstrak bioindikator menggunakan pelarut tertentu, misalnya metanol, kemudian langsung dianalisis menggunakan teknik spektroskopi ultraviolet, infra merah, massa, proton-NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*), dan lain-lain. Teknik spektroskopi massa dan proton-NMR merupakan teknik yang paling sering digunakan karena mampu mendeteksi metabolit dalam wilayah yang lebar dan memiliki reproduksibilitas yang baik (Lin *et al.*, 2006). Spektre massa atau proton dari keseluruhan hasil metabolit tersebut diproses menggunakan analisis statistik faktorial dan diplot pada grafik *Principal Component Scores* (PCS). Contoh dari penggunaan metode sidik jari terhadap stres biologis dari biota *flatfish* disajikan pada Gambar 1 (Viant *et al.*, 2003 dalam Lin *et al.*, 2006). *Score plot* pada Gambar 1 memperlihatkan bahwa penggunaan metabolomik sidik jari akan mengelompokkan ikan yang sehat,



Sumber: Viant *et al.*, 2003 dalam Lin *et al.*, 2006.

Gambar 1. Plot *Principal Component Scores* pada ekstrak otot (a), kelenjar pencernaan (b), darah (c), dan kumulatif ketiganya (d) dari *flatfish* sehat, pertumbuhan terhambat, dan sakit.

pertumbuhannya terhambat, maupun yang sakit. Aplikasi metode ini di bidang lingkungan akan baik dilakukan pada dampak perubahan metabolisme yang disebabkan oleh racun kimiawi lingkungan seperti pestisida (Schizas *et al.*, 2001), logam berat (Santos *et al.*, 2010), dan lain-lain.

Metabolomik Penanda Kimia Bioindikator

Berbeda dengan pengukuran sidik jari yang melibatkan analisis metabolit bioindikator secara keseluruhan, metabolomik penanda kimia hanya akan menganalisis satu atau beberapa senyawa target dari bioindikator. Terdapat banyak senyawa yang dapat diaplikasikan sebagai penanda kimia. Oleh karena itu, pengetahuan mengenai fungsi dari penanda kimia terhadap bioindikator penghasil menjadi hal yang sangat penting dan harus dibuktikan terlebih dahulu. Misalnya pada lingkungan perairan dengan kadar oksigen rendah, biota laut akan meningkatkan kadar senyawa *betaines* untuk menyeimbangkan kehilangan asam amino yang teroksidasi dari media intraselular (Viant *et al.*, 2003). Proses awal analisis penanda kimia serupa dengan teknik sidik jari, yaitu mengekstrak bioindikator menggunakan pelarut tertentu. Selanjutnya, penanda kimia dipisahkan dari metabolit lain menggunakan teknik kromatografi, seperti *High Performace Liquid Chromatography* (HPLC) atau *Gas Chromatography* (GC). Kadar dari penanda kimia ditentukan berdasarkan luas area puncak kromatogram hasil analisis kromatografi tersebut. Senyawa lain yang berpotensi untuk diaplikasikan sebagai penanda kimia dalam analisis metabolomik lingkungan terumbu karang di Indonesia adalah senyawa bioaktif dari invetabrata laut, terutama golongan *octocoral* atau karang lunak.

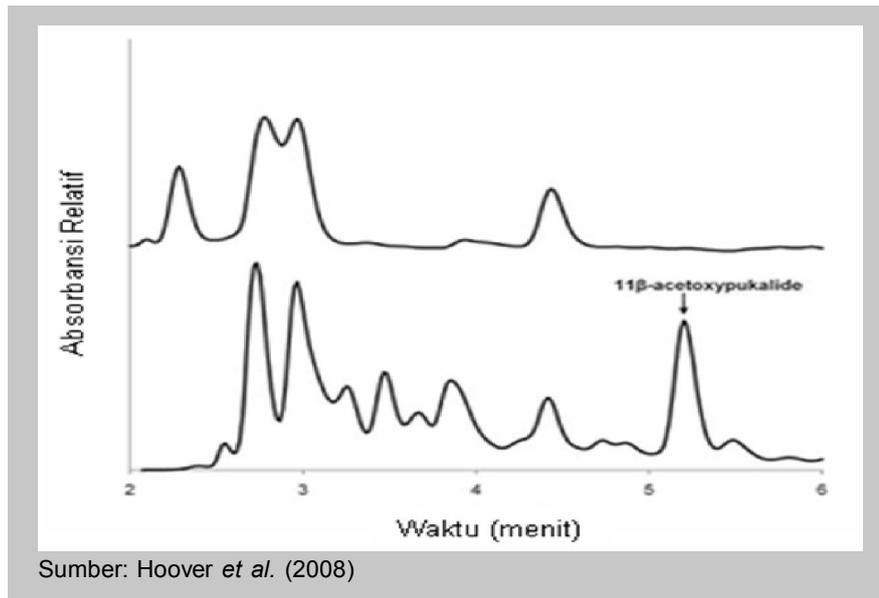
SENYAWA BIOAKTIF KARANG LUNAK SEBAGAI PENANDA KIMIA PENGKAJIAN KONDISI TERUMBU KARANG

Golongan biota *octocoral* atau karang lunak mendominasi wilayah perairan Pasifik (Sammarco & Coll, 1992) karena memiliki ketahanan terhadap predator ikan karang (Fabricius, 1995). Kelompok senyawa umum yang berperan dalam hal ini merupakan senyawa *cembran diterpenoid/cembranoid* yang diketahui toksik dan diduga memiliki fungsi ekologis sebagai antipredator ikan karang, *antifouling* terhadap alga (Coll, 1992), dan juga sitotoksik untuk memenangkan persaingan ruang hidup di wilayah bentik perairan (Kopp *et al.*, 2001). Senyawa *cembranoid* telah dilaporkan terisolasi dari berbagai karang lunak, misalnya *Sinularia*, *Sarcophyton*, atau *Nephthea* sp. (Qin *et al.*, 2008; Bonnard *et al.*, 2010; Januar *et al.*, 2010).

Fungsi dari *cembranoid* inilah yang mendasari metabolomik penanda kimia menggunakan senyawa tersebut pada pengkajian lingkungan terumbu karang. Secara ekologis, berdasarkan adanya korelasi yang positif antara lingkungan terumbu karang yang baik dengan jumlah spesies ikan karang yang terdapat di dalamnya (Bell & Galzin, 1984), maka jika kuantitas ikan karang tinggi akibat lingkungan terumbu karang yang baik, kadar senyawa antipredator juga akan berbanding lurus. Koop *et al.* (2001) menerangkan bahwa peningkatan kadar senyawa *cembranoid* pada karang lunak dapat menjadi indikator terjadinya kenaikan kebutuhan untuk pertahanan dari predator (kuantitas ikan karang yang banyak), peningkatan persaingan ruang hidup (diversitas hewan bentik yang tinggi), atau terjadinya stres secara fisiologis dari karang lunak tersebut.

Korelasi berbanding lurus ini dibuktikan secara *in situ* pada percobaan Hoover *et al.* (2008) yang dapat dilihat pada Gambar 2. Dari Gambar 2 dapat dilihat bahwa, respon peningkatan kadar 11b-asetoksipukolide karang lunak *Sinularia polydactyla* terlihat pada predasi artifisial di wilayah terumbu karang. Peningkatan kadar 11b-asetoksipukolide dalam jumlah yang besar saat terdapat predator menunjukkan bahwa penggunaan senyawa tersebut sebagai penanda kimia sangat baik dalam analisis metabolomik.

Namun tidak semua senyawa pada golongan senyawa aktif pada karang lunak berpotensi sebagai penanda kimia untuk mengetahui dampak terhadap stressor lingkungan di wilayah terumbu karang. Contohnya kadar senyawa *cembranoid sarcophytoxide* dari *Sarcophyton ehrenbergi* tidak berasosiasi dengan *nutrient enrichment* di wilayah terumbu karang (Koop *et al.*, 2001). Peningkatan jumlah nutrien di kawasan terumbu karang merupakan parameter stressor lingkungan yang penting karena dapat menyebabkan pelemahan terumbu karang dan menghambat *recruitment* coral baru (Szmart, 2002). Hal ini juga diperkuat oleh penelitian yang dilakukan oleh Chasanah *et al.* (2007) yang berhasil mengisolasi senyawa *sarcophytoxide* dari beberapa *Sarcophyton* sp. di perairan Kepulauan Seribu yang tidak berasosiasi terhadap kondisi lingkungannya. Namun pada jenis lain, contohnya adalah *Nephthea* sp. yang diketahui memiliki beberapa jenis senyawa *cembranoid* dengan bioaktivitas sitotoksik (Chasanah *et al.*, 2007), dapat ditemukan senyawa yang berpotensi sebagai penanda kimia. Senyawa 3,4 epoksi nephthenol asetat yang diisolasi dari *Nephthea* sp. dari Kepulauan Seribu ditemukan memiliki korelasi terhadap kuantitas terumbu karang (Januar, 2010).



Gambar 2. Kromatogram HPLC dari ekstrak *Sinularia polydactyla* yang diberi predasi artifisial (bawah) dan ekstrak kontrol (atas).

POTENSI APLIKASI METABOLOMIK LINGKUNGAN PADA PENGAJIAN KONDISI TERUMBU KARANG

Pada pengkajian kondisi terumbu karang, kedua jenis analisis metabolomik dapat diterapkan, dengan keunggulan dan kelemahannya masing-masing. Metabolomik sidik jari melibatkan analisis terhadap keseluruhan metabolit, sehingga menjadi pendekatan yang sangat komprehensif dalam menilai kondisi suatu bioindikator terumbu karang yang mengalami stressor lingkungan. Namun, kelemahan dari metode ini adalah persyaratan yang harus dipenuhi dalam pengolahan data hasil. Secara statistik, metode *principal component* merupakan bagian dari analisis faktorial yang harus memenuhi persyaratan data variabel yang layak/*measure sampling adequacy* (MSA) > 0,5; korelasi KMO > 0,5; dan *Bartlett test* yang signifikan pada batas 95% (SPSS, 2006). Jika terdapat variabel yang tidak memenuhi persyaratan di atas, maka *scores plot* yang dihasilkan tidak memiliki reliabilitas yang baik. Selain itu, peralatan instrumentasi spektrometer massa *direct inject* dan NMR yang dipergunakan relatif jauh lebih mahal dibandingkan dengan HPLC yang digunakan pada metabolomik penanda kimia. Sebaliknya, walaupun metabolomik penanda kimia akan memiliki simplifikasi dalam pengujian, namun kelemahannya adalah tidak secara komprehensif menelaah perubahan metabolit bioindikator. Hal ini terlihat pada Gambar 2, bahwa selain peningkatan 11 β -asetoksipukolide, perubahan kadar juga terlihat pada metabolit yang terelusi antara menit ke 2,5–5.

Namun secara subjektif metabolomik penanda kimia, terutama jika menggunakan senyawa *cembranoid* dari karang lunak, akan baik digunakan dalam *high throughput screening* untuk mengkaji kondisi terumbu karang, karena simplifikasinya. Laporan dari beberapa penelitian mengenai kadar senyawa dalam golongan tersebut terlihat memiliki korelasi yang positif terhadap kondisi lingkungan terumbu karang maupun jumlah ikan karang sebagai predatornya. Hal ini menunjukkan bahwa aplikasi ini sangat potensial. Selain itu, penggunaan senyawa bioaktif seperti antipredator, sitotoksik, dan lainnya, sebagai penanda kimia juga akan menggambarkan kekayaan level biodiversitas *plasma nutfah* yang ada di dalam bioindikator terumbu karang. Akan tetapi, jika dibutuhkan dampak yang komprehensif dalam perubahan metabolisme suatu bioindikator yang terpapar stressor lingkungan tertentu, maka analisis sidik jari akan lebih baik.

PENUTUP

Analisis metabolomik sidik jari dan penanda kimia merupakan uji yang memiliki fiabilitas baik untuk dipergunakan dalam pengkajian kondisi lingkungan terumbu karang. Pengujian menggunakan metabolomik sidik jari akan memberikan gambaran yang komprehensif dari respon metabolit bioindikator terhadap kondisi lingkungan terumbu karangnya, sedangkan metabolomik penanda kimia akan memperlihatkan respon produksi senyawa kimia tertentu dalam bioindikator akibat kondisi

lingkungannya. Secara subjektif berdasarkan telaah pustaka, metabolomik penanda kimia menggunakan senyawa bioaktif dari invertebrata laut akan lebih potensial dalam *high throughput screening* untuk mengkaji kondisi terumbu karang, karena simplifikasi pengujiannya dan kemampuannya menggambarkan kekayaan level biodiversitas *plasma nutfah* di wilayah terumbu karang. Selanjutnya, jika dibutuhkan dampak yang komprehensif dalam perubahan metabolisme suatu bioindikator yang terpapar stressor lingkungan tertentu, maka analisis sidik jari akan lebih baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bell, D. and Galzin, R. 1984. Influence of live coral cover on coral reef fish communities. *Marine Ecology*. 15: 265–274.
- Bonnard, I., Jhaumeer-Lauloo, S.B., Bontemps, N., Banaigs, B., and Aknin, M. 2010. New lobane and cembrane diterpenes from two comorian soft corals. *Marine Drugs*. 8 (2): 359–372.
- Cappenberg, H.A.W. dan Salatalohy, A. 2008. *Study Baseline Ekosistem Terumbu Karang di Lokasi DPL Kabupaten Raja Ampat Tahun 2008*. Laporan Program Kerja CRITC (Coral Reef Research and Training Centre)-COREMAP (The Coral Reef Rehabilitation and Management Program)-LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia).
- Chasanah, E., Januar, H.I., Liptrot, C., Doyle, J., Nielson, C., Tapiolas, D., Motti, C., Wright, A.D., and Battershill, C. 2007. *Exploration of Indonesian Marine Biodiversity for Biotechnological Commercialization*, PSLP (AusAID Public Sector Linkage Program)-Indonesia Project ROU 37118, Collaborative Biodiscovery Research between Indonesian Marine and Fisheries Research Center for Products Processing and Biotechnology–Australian Institute of Marine Science, Townsville QLD, Australian.
- Coll, J.C. 1992. The chemistry and chemical ecology of octocorals (Coelenterata, Anthozoa, Octocorallia). *Chemical Review*. 92: 613–631.
- Estradivari, Syahrir, M., Susilo, N., Yusri, S., dan Timotius, S. 2007. *Terumbu Karang Jakarta–Laporan Pengamatan Jangka Panjang Terumbu Karang Kepulauan Seribu (2004-2005)*. Yayasan Terumbu Karang Indonesia–The David and Lucile Packard Foundation.
- Fabricius, K.E. 1995. Slow population turnover in the soft coral genera *Sinularia* and *Sarcophyton* on mid-and outer-shelf reefs of the Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress Series*. 126: 145–152.
- Hoover, C.A., Slaterry, M., Targett, N.M., and Marsh, A.G. 2008. Transcriptome and metabolite responses to predation in a south pacific soft coral. *Biology Bulletin*. 214: 319–328.
- Januar, H.I., Chasanah, E., Motti, C.A., Tapiolas, D.M., Liptrot, C.H., and Wright, A.D. 2010. Cytotoxic cembranes from Indonesia specimens of the soft coral *Nephthea* sp. *Marine Drugs* 8: 2142–2152.
- Januar, H.I. 2010. *Efektivitas Sistem Zonasi Bagi Perlindungan Terumbu Karang dari Stressor Antropogenik di Taman Nasional Laut Kepulauan Seribu*. Tesis. Magister Ilmu Lingkungan Universitas Diponegoro, Semarang.
- Koop, K., Booth, D., Broadbent, A., Brodie, J., Bucher, D., Capone, D., Coll, J., Dennison, W., Erdman, M., Harrison, P., Hoegh-Guldberg, O., Hutching, P., Jones, G.B., Larkum, A.W.D., O'Neil, J., Steven, A., Tentori, E., Ward, S., Williamson, J., and Yellowless, D. 2001. ENCORE: The effect of nutrient enrichment on coral reefs synthesis of results and conclusions. *Marine Pollution Bulletin*. 42 (2): 91–120.
- Lin, C.Y., Viant, M.R., and Tjeerdema, R.S. 2006. Metabolomics: methodologies and application in the environmental sciences. *Journal of Pesticides Science*. 31 (3): 245–251.
- Poernomo, S.H. 2009. *Gubernur NTT Usulkan Laut Sawu sebagai Kawasan Konservasi*. Siaran Pers Kementerian Kelautan dan Perikanan. No. B.40/PDS/ HM.310/IV/2009.
- Rajendran, N., Ravichandran, S., Raghunathan, S., Vijayalakshmi, L., Swaminathan, V., Senthikumar, B., Subramanian, A., and Nagarajan, R. 2001. *Coral Reefs of India*. Environmental Information System Centre. Centre of Advanced Study in Marine Biology. India.
- SPSS. 2006. *Help Topics on SPSS Ver 15*. SPSS Inc 1989–2006. US.
- Sammarco, P.W. and Coll, J.C. 1992. Chemical adaptations in the Octocorallia: evolutionary considerations. *Marine Ecology Progress Series*. 88: 93–104.
- Santos, E.M., Ball, J.S., Williams, T.D., Wu, H., Ortega, F., Van Aerle, R., Katsiadaki, I., Falciani, F., Viant, M.R., Chipman, J.K., and Tyler, C.R. 2010. Identifying health impacts of exposure to copper using transcriptomics and metabolomics in a fish model. *Environmental Science Technology*. 44: 820–826.
- Schizas, N.V., Chandler, G.T., Coull, B.T., Klosterhaus, S.L., and Quattro, J.M. 2001. Differential survival of three mitochondrial lineages of a marine benthic copepod exposed to a pesticide mixture. *Environmental Science Technology*. 35: 535–538.
- Szmar, A.M. 2002. Nutrient enrichment on coral reefs: is it a major cause of coral reef decline? *Estuarites*. 25 (4B): 743–766.
- Qin, S., Huang, H., and Guo, Y.W. 2008. A New Cembranoid from the hainan soft coral *Sinularia* sp. *Journal of Asian Natural Products Research*. 10 (11): 1075–1079.
- Viant, M.R., Rosenblum, E.S., and Tjeerdema, R.S. 2003. NMR-Based Metabolomics: a powerful approach for characterizing the effects of environmental stressors on organism health. *Environmental Science Technologies*. 37: 4982–4989.