

# ISOLATION, CHEMICAL CHARACTERIZATION, AND BIOACTIVITY OF SECONDARY METABOLITES WITH POLAR CONSTITUENTS OF *Petrosia alfiani* SPONGES

Hanapi Usman<sup>1\*</sup>, Rohani Bahar<sup>1</sup>, Eva Yohanes<sup>2</sup>, Rahmawaty<sup>1</sup>, and Ahyar Ahmad<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Natural Sciences, Hasanuddin University, Makassar, 90245, Indonesia

\*E-mail: [hanapiu@yahoo.com](mailto:hanapiu@yahoo.com)

## Abstract

Extraction and isolation of semi-polar and polar constituents from *Petrosia Alfiani* sponges in chloroform and ethyl acetate solvents has been performed. *Petrosia Alfiani* is an endemic species in the waters of Spermonde archipelago of South Sulawesi Indonesian. Five isolates (pure compounds) were resulted, two from the chloroform extract and three from the ethyl acetate extract. Both isolates from the chloroform extract were in the form of white crystals, namely I<sub>1</sub> and I<sub>2</sub>. Spectroscopic analysis showed that the compound I<sub>1</sub> is  $\beta$ -Sitosterol. Four other isolates, respectively, I<sub>2</sub> was identified as steroids, F<sub>3</sub> as terpenoids, F<sub>6</sub> and F<sub>7</sub> as flavonoids. Bioactivity test for the level of toxicity was conducted on shrimp larvae *Artemia salina* leach. Compound I<sub>1</sub> is very active with LC<sub>50</sub> value of 1.47  $\mu$ g/mL. Compounds F<sub>3</sub> shows the resistance activity to the *C. albicans* fungi.

**Keywords** : *Petrosia alfiani*, Spermonde, Bioactivity, Steroids, Terpenoids

## Abstrak

Telah dilakukan ekstraksi dan isolasi konstituen semi polar dan polar dalam pelarut kloroform dan etil asetat terhadap spons. *Petrosia alfiani* suatu spesies yang endemik di perairan kepulauan Spermonde Sulawesi Selatan Indonesia. Ditemukan lima isolat/senyawa murni, dua dari ekstrak kloroform dan tiga dari ekstrak etilasetat. Isolat dari ekstrak kloroform keduanya berupa kristal putih yaitu I<sub>1</sub> dan I<sub>2</sub>. Analisis spektroskopi menunjukkan bahwa senyawa I<sub>1</sub> adalah  $\beta$ -Sitosterol. Empat isolat yang lain, berturut-turut I<sub>2</sub> teridentifikasi sebagai steroid, F<sub>3</sub> sebagai terpenoid, F<sub>6</sub> dan F<sub>7</sub> teridentifikasi sebagai Flavonoid. Uji bioaktivitas terhadap derajat toksisitas dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina* leach. Senyawa I<sub>1</sub> sangat aktif dengan LC<sub>50</sub> sebesar 1,47  $\mu$ g/mL. Senyawa F<sub>3</sub> menunjukkan keaktifan terhadap jamur *C. Albicans*.

**Kata kunci** : *Petrosia alfiani*, Spermonde, Bioaktivitas, Steroids, Terpenoids

## 1. Pendahuluan

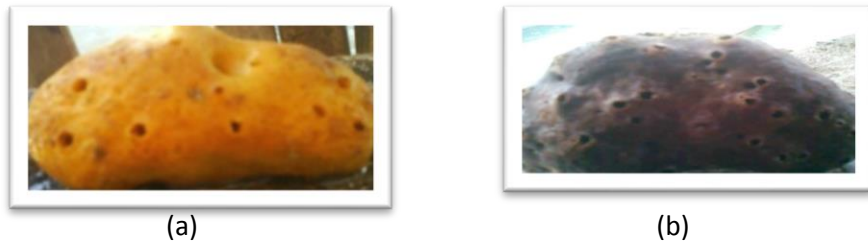
Indonesia sebagai negara maritim dengan kawasan laut yang sangat luas sekitar 5,8 juta km<sup>2</sup> dengan panjang garis pantai lebih kurang 81.000 km. Wilayah pesisir dan lautan Indonesia memiliki kekayaan keanekaragaman hayati melimpah berupa keanekaragaman genetik (varietas/ras), spesies (jenis) dan ekosistem (habitat) (Dahuri. 2003). Semestinya keanekaragaman hayati tersebut dapat menunjang perkembangan bioindustri, seperti industri pangan, sandang, papan, pendidikan, obat, kosmetika, energi, komunikasi/informasi, keamanan dan pariwisata. Karenanya Indonesia memiliki peluang yang sangat besar untuk menjadi lokomotif pengembangan sumberdaya alam laut

Dari sisi kimiawi, laut dapat dipandang sebagai gudang zat kimia yang amat besar, karena di dalamnya hidup jutaan biota laut yang sesungguhnya merupakan pabrik zat kimia yang paling canggih di atas bumi ini. Banyak sekali zat kimia berupa biomolekul yang diproduksi melalui "*biosintesis*" oleh organisme laut tidak dapat disintesis dilaboratorium secara "*in-vitro*". Semua biomolekul tersebut dihasilkan oleh organisme bukan secara kebetulan dan tidak tanpa tujuan, melainkan diciptakan secara teratur dan bermakna bagi kelangsungan hidup organisme dimuka bumi ini, termasuk manusia. (Usman H., 2010)

Spons adalah organisme laut yang diduga memiliki banyak molekul kimia aktif yang fungsional, hal ini dapat tercermin dari warna-warni dan karakteristik hidupnya. Binatang laut ini sanggup hidup di kedalaman dan kondisi lingkungan yang ekstrim, cahaya dan oksigen yang sangat terbatas. Spons diperkirakan telah ada sejak jaman Precambrian (600-7000 juta tahun yang lalu), dan mendominasi kehidupan bawah laut sekitar 400 tahun yang lalu. Kesanggupan adaptasi terhadap perubahan ekosistem yang amat panjang dan ketahanan hidup spons, diduga karena kemampuannya memproduksi dan menggunakan molekul-molekul kimia aktif untuk beradaptasi dengan lingkungannya. Berdasarkan temuan dan hasil penelitian menunjukkan bahwa spons menduduki tempat teratas sebagai sumber senyawa kimia bioaktif. Telah banyak dibuktikan bahwa senyawa-senyawa metabolit sekunder pada spons memiliki berbagai sifat keaktifan, antara lain sebagai antimikroba, antivirus, dan antikanker dan sangat prospektif sebagai bahan baku obat (Soediro, 1999). Fenomena tersebut cukup menarik perhatian para kimiawan untuk melakukan penelitian yang lebih mendalam tentang biomolekul spons yang

prospektif dikembangkan untuk berbagai keperluan terutama sebagai bahan obat baru.

Diperkirakan lebih dari 10.000 jenis spesies spons di dunia, sekitar 2000 spesies hidup pada ekosistem terumbu karang di Asia Tenggara (Allen dan Steene, 2000). Tanaka (2002) mengungkapkan bahwa jumlah spesies spons di Indonesia lebih dari 700 jenis, masih sedikit sekali yang telah diteliti kandungan kimianya. Diperairan laut Sulawesi-Selatan khususnya di kawasan kepulauan Spermonde cukup banyak ditemukan jenis spons, bahkan terdapat spesies langka. Spons *Petrosia alfiani* telah teridentifikasi sebagai jenis spons yang endemik di wilayah laut kepulauan Spermonde Sulawesi-Selatan, hingga saat ini tidak ditemukan di kawasan laut manapun di dunia ini. Spons tersebut berwarna kuning terang dan berubah jadi coklat pada udara terbuka. Gejala ini sesungguhnya merupakan ekspresi dan karakteristik molekul kimia yang dikandungnya. Diduga kuat jenis spons ini mengandung banyak biomolekul unik yang belum pernah ditemukan.



Gambar 1. Spons *Petrosia alfiani*, (a) dalam laut, (b) diudara terbuka

Klasifikasi spesies spons *Petrosia alfiani* yang menjadi objek penelitian ini adalah sebagai berikut : (Sumber : [zipcodezoo.com](http://zipcodezoo.com))

- Domain : Eukaryota (Whittaker & Margulis, 1978)
- Kingdom : Animalia (Linnaeus, 1758)
- Subkingdom : Radiata (Linnaeus, 1758; Cavalier-Smith, 1983)
- Infrakingdom : Spongiaria (De Blainville, 1816)
- Phylum : Porifera (Grant, in Todd, 1836)
- Subphylum : Cellularia (Reiswig & Mackie, 1983)
- Class : Demospongiae (Sollas, 1875)
- Subclass : Ceractinomorpha (Lovi, 1973)

Order : Haplosclerida (Topsent)  
Suborder : Petrosina (Boury-Esnault & Van Beveren)  
Family : Petrosidae (Van Soest, 1980)  
Genus : Petrosia  
Specific name : *alfiani* (de Voogd & van Soest, 2002)  
Scientific name : *Petrosia alfiani* (de Voogd & van Soest, 2002)

Telah dilakukan penelitian tahap awal terhadap kandungan kimia dan uji bioaktivitas molekul konstituen nonpolar dengan eluen *n*-heksana terhadap spons *Petrosia alfiani*, ditemukan adanya molekul metabolit sekunder bersifat nonpolar yang aktif terhadap bakteri, jamur dan ada diantaranya yang menunjukkan sifat antikanker yang signifikan. Penelitian ini merupakan tahap lanjut yang bertujuan untuk mengidentifikasi/mengkarakterisasi molekul yang terkandung dalam fraksi semi polar dan polar.

### **1.3. Metabolit Sekunder**

Proses sintesis substansi kimia dan degradasi organisme dengan sistem enzimatik disebut metabolisme. Jalur-jalur biosintetik “*biosintetic pathways*” digunakan oleh semua makhluk hidup dalam memproduksi metabolit yang esensial untuk kelangsungan hidup dan pertahanannya dirinya (Suteja 2005). Metabolit primer adalah biomolekul utama yang dihasilkan oleh organisme yang umumnya berfungsi sebagai pembentuk struktur sel makhluk hidup, seperti protein, karbohidrat, lemak, asam nukleat. Sedangkan metabolit sekunder adalah biomolekul yang diproduksi oleh organisme dengan fungsi penting dalam ekologi (Murniasi, 2005). Beberapa contoh metabolit sekunder yang telah dikenal luas yaitu terpen, steroid, alkaloid dan kelompok senyawa fenolik alam seperti poliketida, fenilpropanoid dan flavonoid.

### **1.4. Kandungan Kimia Genus *Petrosia***

**Kelompok Steroid**, Beberapa senyawa turunan steroid telah diisolasi dari spons *Petrosia nigricans* yaitu 24 $\xi$ -ethyl-cholesta-5-en-3 $\beta$ -ol, 24 $\xi$ -ethyl-cholesta-8(9)-en-3 $\beta$ -ol, 5 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -epidioxy-24 $\xi$ -ethyl-cholesta-6-en-3 $\beta$ -ol, (Kim, 2002). Lembehsterols

A dan B adalah senyawa turunan steroid yang diisolasi dari spons *Petrosia strongylata* (Aoki *et al.*, 2002).

**Kelompok Alkaloid**, Famili petrosiidae (seperti, *Xestospongia* sp. dan *Petrosia* sp.), spons *Petrosia(Petrosia) Hoeksemai* dilaporkan mengandung alkaloid manzamine. Dua metabolit sekunder telah diisolasi dari spons *Petrosia (Petrosia) Hoeksemai* yang dikoleksi dari Pulau Menjangan, Bali-Indonesia. Senyawa tersebut adalah manzamine A dan xestomanzamine A. Senyawa alkaloid manzamine diketahui memiliki aktivitas antimalaria dan anti-HIV (Murti, 2006). Senyawa baru alkaloid indol pertama kali dilaporkan oleh Ashour (2006) dari spesies *Petrosia(Petrosia) nigricans* yang berasal dari Pulau Barranglombo, Sulawesi-Indonesia yaitu Nigricinol [4-((1H-Indol-3-yl)methyl)-2-amino-5-(1H-indol-3-yl)-3H-pyrrol-3-one]. Braekman dan dalozé (1986) menemukan senyawa petrosin, petrosin A, dan petrosin B dari spons *Petrosia seriata*. Senyawa Petrosin dan Petrosin A juga dilaporkan telah diisolasi dari spons *Petrosia similis* oleh Goud *et al.* (2003). Selain itu El Sayed 2001, telah menemukan turunan isoquinoline baru dari *Petrosia* sp. (Order Haplosclerida, Family Petrosiidae) asal Filipina yaitu cribrostatin, dan dua senyawa lain yang telah diketahui yaitu renierone dan *O*-demethylrenierone.

**Kelompok Asam Fenilasetat**, Phenylacetic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid, phydroxyphenylacetic acid methylester, *p*-hydroxyphenylacetic acid ethylester, dan phydroxyphenylacetic acid butylester (baru) telah diisolasi oleh Ashour (2006) dari *Petrosia (Petrosia) nigricans* dengan struktur sebagai berikut:

**Kelompok Serebrosida**, Dua senyawa baru serebrosida yang diisolasi dari *Petrosia nigricans* adalah petrocerebroside 1, petrocerebroside 2 (Jha, 2004).

**Kelompok Asam Poliasetilen**, Poliasetilen petrosinol dan petrosinon, telah dilaporkan dari spons *Petrosia* sp.(Higa *et al.*, 1994), asam kortikatat dari *P. corticata* (Li *et al.*, 1994), asam petrosolik dari *Petrosia* sp. (Isaacs *et al.*, 1993).

## 2. Metode Penelitian

Pengumpulan sampel Spons *Petrosia alfiani* dilakukan dikawasan laut kepulauan Spermonde, dilakukan seleksi/uji taksonomi spons *Petrosia alfiana*, dibersihkan dan dikeringkan kemudian dihaluskan. Selanjutnya dimaserasi dengan metanol, kemudian dipartisi menggunakan eluen berturut-turut n-heksan, kloroform dan

etilasetat. Fraksinasi dan isolasi menggunakan KKG, KKV dan KLT dengan berbagai kombinasi eluen, selanjutnya dilakukan pemurnian isolat. Elusidasi struktur dengan metoda spektroskopi UV, IR dan NMR. Uji biokativitas masing-masing isolat terhadap bakteri, jamur dan larva udang

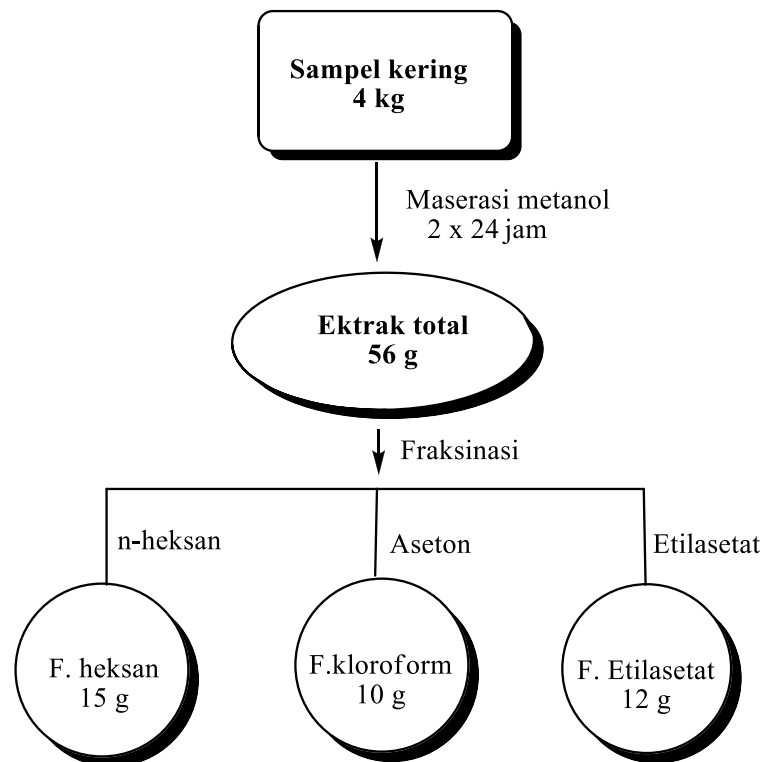
### 3. Hasil Penelitian .

#### 3.1. Prevarasi Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan disekitar perairan spermonde Sul-Sel, sebanyak 14 kg sampel basah. Dikeringkan lalu dihaluskan, didapatkan serbuk halus sampel sebanyak 4 kg.

#### 3.2. Maserasi/Ekstraksi Sampel

Maserasi sampel dengan pelarut mehanol selama 2 x 24 jam. 10 L maserat metanol di partisi dengan dengan eluen berturut-turut *n*-heksan, kloroform dan etilasetat. Setelah evaporasi didapatkan ekstrak kering masing-masing 15 g ekstrak *n*-heksana, 10 g ekstrak kloroform dan 12 g ekstrak etilasetat. Penelitian lebih lanjut dilakukan terhadap ekstrak kloroform dan etilasetat.



Gambar 2. Ekstraksi dan isolasi sampel

### 3.3. Isolasi Konstituen Fraksi Kloroform

#### 3.3.1 Isolasi dan Pemurnian

Tahap isolasi dimulai dengan penetapan sistem eluen yang dapat digunakan, untuk itu ditemukan system eluen *n*-heksan dan kloroform ( 8 : 2 ) yang palig cocok digunakan dalam proses isolasi. 10 g fraksi kloroform disolasi menggunakan KKT dengan eluen *n*-heksan dan kloroform ( 8 : 2 ) ditindak lanjuti dengan uji KLT didapatkan dua isolat yaitu isolat 1 ( $I_1$ ) berpendar pada sinar short wave dan isolat 2 ( $I_2$ ) tidak berpendar pada sinar short wave.

$I_1$  berupa kristal putih berbentuk jarum dalam eluen heksan-metanol, setelah direkristalisasi didapatkan kristal putih mengkilap sebanyak 13 mg.



Gambar 3 Kristal Isolat  $I_1$

#### 3.3.2. Analisis Spektroskopi

##### • Analisis Inframerah

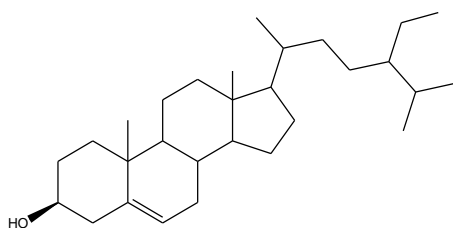
$I_1$  berupa kristal bening berbentuk jarum berat 1,37 g, memiliki titik leleh 135 – 136 °C. Setelah dikristalisasi berulang-ulang didapatkan kristal jarum 200 mg. Uji KLT dengan eluen *n*-heksana : etilasetat ( 8 : 2 ) menunjukkan satu noda dengan  $R_f = 0,6$ . Uji kualitatif dengan reagen Libermann-Burchard menunjukkan warna biru-hijau karakteristik untuk senyawa *steroid*.

Spektrum inframerah  $I_1$  menunjukkan adanya puncak pada daerah  $3421\text{ cm}^{-1}$  karakteristik untuk gugus hidroksil (-OH), bilangan gelombang  $2958\text{ cm}^{-1}$  dan  $2866\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya (CH alifatik), puncak  $1666\text{ cm}^{-1}$  adalah (C=C),  $1463\text{ cm}^{-1}$  adalah (CH<sub>2</sub>),  $1375\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan (C-O), dan  $1055\text{ cm}^{-1}$  (sikloalkana).

Analisis  $^1\text{H}$  NMR pada sampel memiliki puncak dengan pergeseran kimia yaitu 3,52 (C3, tdd); 5,15 (C6, t); 0,94 (C19, d); 0,91 (C24, t); 0,86 (C26, d); 0,84 (C27, d); 0,67 (C28, s); dan 1,002 (C29, s). Data  $^{13}\text{C}$  NMR menunjukkan adanya

29 puncak atom karbon yang menandakan ada 2 puncak yang sama yaitu pada puncak dengan pergeseran kimia 42,4 (C4,13) dan 32,0 (C7,8). Puncak lainnya yang ditemukan berada pada daerah 140,87 (C5) dan 121,86 (C6), karbon ini memiliki pergeseran kimia yang cukup besar karena membentuk ikatan rangkap. Pada daerah 71,95 (C3) yang terikat langsung pada atom O sehingga pergeseran kimianya cukup besar. Kemudian terdapat juga pada daerah 56,9 (C14); 56,28 (C17); 50,26 (C9); 12,00 (C29); 19,5 (C28); 28,1 (C19). Dari data-data spectrum di atas menunjukkan isolat-1 adalah  $\beta$ -Sitosterol.

Spektrum massa menunjukkan bahwa massa molekul relatif senyawa adalah 141, puncak-puncak fragmentasi pada  $m/z = 43, 91, 108, 119, 145, 183, 213, 255, 303, 329, 368, 381, 396$ , signifikan dengan puncak-puncak serapan yang ditunjukkan oleh  $\beta$ -Sitosterol yang telah dilaporkan oleh Pouchart (1978). 414, 396, 381, 329, 273, 255, 213, 43



Gambar 4. Struktur  $\beta$ -Sitosterol

Berdasarkan puncak-puncak serapan tersebut dapat di sarankan pola fragmentasi  $\beta$ -Sitosterol sebagai berikut,

### 3.3.3. Uji Bioaktivitas $I_1$

Uji bioaktivitas (toksisitas) dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina leach*. Pengujian ini diawali dengan cara mengairasi telur udang selama 2x24 jam. Setelah telur udang menetas dilakukan pengujian terhadap larva udangnya. Sampel dibuat dalam konsentrasi 2000 ppm dengan menggunakan pelarut DMSO, kemudian diencerkan dalam beberapa konsentrasi yaitu 500 ppm, 50 ppm, dan 5 ppm, serta kontrol negatif menggunakan pelarutnya, semuanya dibuat triplo.



Tabel 1 Hasil uji toksisitas dengan *Artemia salina* Leach

Konsentrasi (ppm)	Jumlah Kematian Sampel	Jumlah Kematian Kontrol
500	30	30
50	26	12
5	28	22

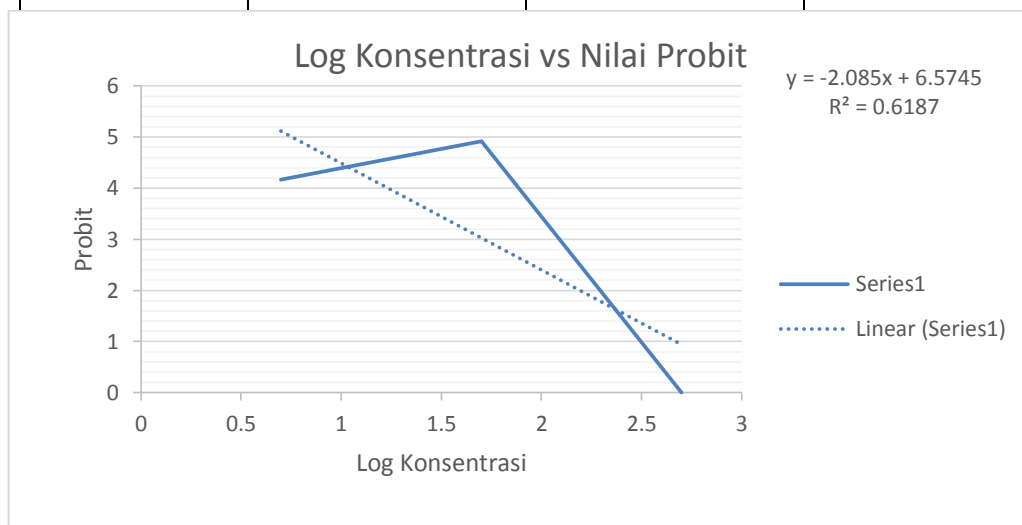
Tabel di atas menunjukkan rata-rata larva udang yang mati selama 1x24 jam, dari data di atas kemudian dihitung persentase kematiannya dengan menggunakan rumus:

$$\%kematian = \frac{\text{Jumlah larva udang mati pada uji} - \text{jumlah larva udang mati kontrol}}{\text{Jumlah larva udang mula} - \text{mula}} \times 100\%$$

Dengan menggunakan rumus di atas didapatkan persentase masing-masing konsentrasi berturut-turut sebesar 0%; 46,7%; 20%.

Tabel 2. Penentuan nilai LC<sub>50</sub>

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	% Kematian	Probit
500	2,7	0%	0
50	1,7	46,7%	4,92
5	0,7	20%	4,17



Gambar 6. Grafik Bioaktivitas I<sub>1</sub>

Hubungan antara log konsentrasi dengan nilai probit pada  $LC_{50}$

$$y = -2,085x + 6,574$$

$$5 = -2,085x + 6,574$$

$$5 - 6,574 = -2,085x$$

$$-1,574 = -2,085x$$

$$x = \frac{-1,574}{-2,085}$$

$$x = 0,7549$$

$$LC_{50} = \text{antilog } 0,7549$$

$$= 5,6872 \mu\text{g/mL (ppm)}$$

Berdasarkan pada pernyataan Meyer (1982) bahwa senyawa dikatakan toksik apabila mortalitas terhadap *Artemia salina* Leach yang ditimbulkan memiliki harga  $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$  dan sangat toksik apabila  $\leq 30 \mu\text{g/mL}$ . Dan dari perhitungan di atas diketahui nilai  $LC_{50}$  sebesar  $1,4719 \mu\text{g/mL}$  (ppm) dan dapat dikategorikan sangat toksik.

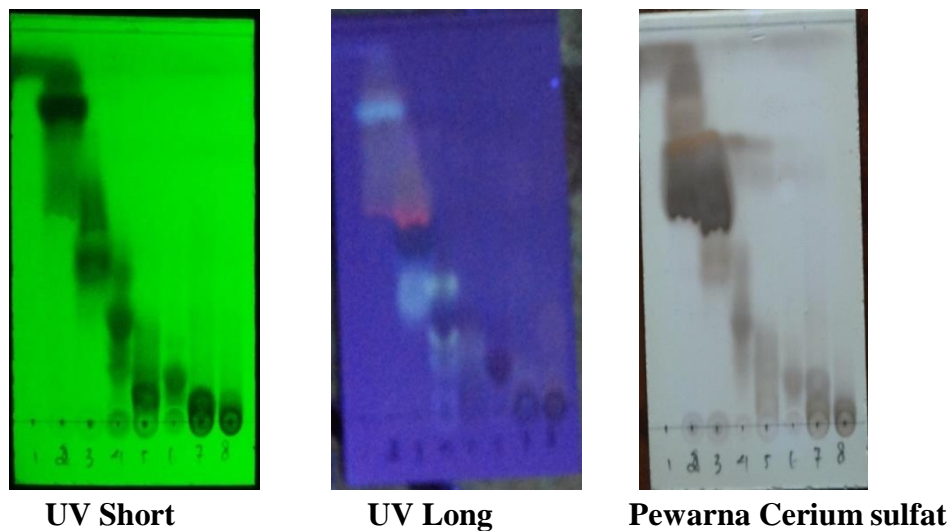
#### 3.4. Isolasi Fraksi Etilasetat

Uji TLC terhadap fraksi kloroform (FK) menggunakan eluen *n*-heksan : etilasetat (4 : 6), menunjukkan ada 7 senyawa yang prospektif untuk ditelusuri yakni senyawa A, B, C, D, E dan F. dengan Rf berturut-turut 0,20; 0,35; 0,46; 0,60; 0,76 dan 0,90.



Gambar 7. Hasil TLC Fraksi etilasetat

Selanjutnya dilakukan isolasi dengan menggunakan kromatotron dengan perbandingan pelarut *n*-heksan : etilasetat (7 : 3), dihasilkan delapan fraksi utama dengan profil noda pada TLC sebagai berikut.



Gambar 8. Hasil kromatotron dengan eluen *n*-heksan : etilasetat (7:3)

Pemurnian lebih lanjut terhadap hasil kromatotron tersebut didapatkan 3 senyawa murni yang berasal dari fraksi 3 ( $F_3$ ), fraksi 6 ( $F_6$ ) dan fraksi 7 ( $F_7$ ). Setelah dimurnikan berulang-ulang sehingga didapatkan senyawa murni sebagai berikut.

#### 3.4.1. Faraksi 3 ( $F_3$ )

- $F_3$  berupa kristal berbentuk hablur putih dengan titik didih  $136^{\circ}\text{C}$ - $138^{\circ}\text{C}$ , teridentifikasi sebagai **terpenoid**



Gambar 9. Kristal putih  $F_3$

- Hasil IR dari  $F_3$

Analisis terhadap spektrum IR menunjukkan puncak serapan sebagaimana terlihat pada gambar 8. Pita serapan tampak pada bilangan gelombang  $3429\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya gugus fungsi *hidroksil* (-OH). Pita serapan pada  $2935\text{ cm}^{-1}$ ,

dan  $2897\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya (C-H, stretching) dari metil dan metilen, diperkuat oleh spektrum  $1377\text{ cm}^{-1}$  dan  $1463\text{ cm}^{-1}$ , spektrum pada bilangan gelombang  $1049\text{ cm}^{-1}$  indikasi adanya (C-O).

- Uji Bioaktivitas

- a.  $F_3$  vs bktri *S.aureus*    b.  $F_3$  vs bkteri *E. coli*    c.  $F_3$  vs bktri *C. albicans*



Ket :  
 A = Ekstrak etiasetat  
 B = Senyawa  $F_3$   
 C = Chloramphenicol (k +)  
 D = DMSO (k-)

Ket :  
 A = Ekstrak etiasetat  
 B = Senyawa  $F_3$   
 C = Chloramphenicol (k +)  
 D = DMSO (k-)

Ket :  
 A = Ekstrak etiasetat  
 B = Senyawa  $F_3$   
 C = Ketoconazole (k +)  
 D = DMSO (k-)

Gambar 10. Uji Bioaktivitas Isolat  $F_3$

### 3.4.2. Faraksi 6 ( $F_6$ )

Pemurnian hasil kromatotron terhadap  $F_6$ , didapatkan isolat murni berupa padatan berwarna coklat



Gambar 11. Isolat fraksi  $F_6$

- Hasil IR dari  $F_6$

Analisi terhadap spektrum IR dari isolat  $F_6$  menunjukkan adanya puncak bilangan gelombang pada spektrum  $1437\text{ cm}^{-1}$  identifikasi adanya gugus hidoksil (-OH), bilangan gelombang  $295\text{ cm}^{-1}$ ,  $2924\text{ cm}^{-1}$  dan  $2854\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya

(C-H) diperkuat oleh  $1460\text{ cm}^{-1}$  dan  $1379\text{ cm}^{-1}$ . Spektrum pada  $1732\text{ cm}^{-1}$ ,  $1662\text{ cm}^{-1}$  dan  $1616\text{ cm}^{-1}$ . Uji fitokimia menunjukkan  $F_6$  sebagai **Flavonoid**

### 3.4.3. Fraksi 7 ( $F_7$ )

Pemurnian hasil kromatotron terhadap  $F_7$ , didapatkan isolat murni berupa padatan berwarna coklat tua



Gambar 12. Isolat fraksi  $F_7$

- Hasil IR dari  $F_7$

Analisi terhadap spektrum IR dari isolat  $F_7$  menunjukkan adanya puncak bilangan gelombang pada spektrum  $1417\text{ cm}^{-1}$  identifikasi adanya gugus hidoksil (-OH), bilangan gelombang  $2920\text{ cm}^{-1}$  dan  $2850\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan adanya (C-H). Pita  $1668\text{ cm}^{-1}$ ,  $1602\text{ cm}^{-1}$ ,  $1539\text{ cm}^{-1}$  dan  $1448\text{ cm}^{-1}$ . Uji fitokimia menunjukkan  $F_6$  sebagai **Flavonoid**

## 4. Kesimpulan

4.1. Telah dilakukan ekstraksi dan isolasi konstituen semi polar dan polar dalam pelarut kloroform dan etil asetat terhadap spons *Petrosia alfiani*. Sementara ini telah ditemukan lima isolat/senyawa murni, dua dari ekstrak kloroform dan tiga dari ekstrak etilasetat. Isolat dari ekstrak kloroform keduanya berupa kristal putih yaitu  $I_1$  dan  $I_2$ . Analisis spektroskopi menunjukkan bahwa senawa  $I_1$  adalah  $\beta$ -Sitosterol. Empat isolat yang lain, berturut-turut  $I_2$  teridentifikasi sebagai steroid,  $F_3$  sebagai terpenoid,  $F_6$  dan  $F_7$  teridentifikasi sebagai Flavonoid.

4.2. Uji bioaktivitas terhadap derajat toksisitas dilakukan terhadap larva udang *Artemia salina leach*. Senyawa  $I_1$  sangat aktif dengan  $LC_{50}$  sebesar  $1,47\text{ }\mu\text{g/mL}$ . Senyawa  $F_3$  menunjukkan keaktifan terhadap jamur *C. albicans*

## DAFTAR PUSTAKA

- Allen, G.R. and R. Steene, 2000, Marine life of Malaysia and the Indo-Pacific. Periplus Edition Ltd, Singapore
- Aoki, S., Naka, Y., Itoh, T., Furukawa, T., Rachmat, R., Akiyama, S., and Kobayashi, M., 2002, Lembahsterols A and B, Novel Sulfated Sterols Inhibiting Thymidine Phosphorylase, from the Marine Spons *Petrosia strongylata*, *Chem. Pharm. Bull.*, **50**(6) 827-830.
- Ashour, M. A. A., 2006, *Structure Elucidation of Bioactive Marine Natural Products Using Modern Methods of Spectroscopy*, diseretation.
- Cho, H. J., Ja Bae S., Kim, N. D., Jung, H. J., and Cho, Y. H., 2004, Induction of Apoptosis by Dideoxypetrosynol A, A Polyasetylene from Spons *Petrosia sp.*, in Human Skin Melanoma Cells, *International Journal of Molecular Medicine*, 1091-1096.
- Braekman, J. C., Dalozze, D. 1986, Chemical defence in sponss, *Pure & Appl. Chem.*, 58(3), 357-364.
- Dahuri, R. 2003, Keanekaragaman Hayati Laut, PT Gramedia Pustaka Utama Jakarta
- Darminto, Ali, A., Dini, I., 2009, Indentifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Potensial Menghambat Pertumbuhan Bakteri Aeromonas hydrophyla dari Kulit batang Tumbuhan Aveccennia spp., *Jurnal Chemica*, **10**(2), 92 – 99.
- De Voogd, N. J., and Van Soest, R. W. M., 2002, *Indonesian Sponge of the Genus Petrosia*, *Zool. Med. Leidan*, 76.
- El Sayed, K. L., Kelly, M., Kara, U. K., Ang, K. H., Katsuyama, I., Dunbar, D.C., Khan, A. A., and Hamann, M.T., 2001, New Manzamine Alkaloids with Potent Activity against Infectious Disease, *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 1804 - 1808.

- Goud, T. V., Reddy, N. S., Swamy, N. R., Ram, T. S., and Venkateswarlu, Y., 2003, anti-HIV Active Petrosins from the marine Spons *Petrosia similis*, *biol.pharm. bull.*, 26(10) 1498-1501
- Higa T., Tanaka, j., Ohtani, I.I., Musman, M., Roy, M.C., and Kuroda, I., 1994, Bioactive from coral reef invertebrates, *Pure Appl. Chem.*, **73**(3), 589 – 593.
- Isaacs, S., Kashman, Y., Loya, S., Hizi, A., Loya, Y., 1993, *Tetrahedron*, 49, 10435-10438.
- Jha, R. K., and Zi-rong, X., 2004, *Biomedical compounds from marine organism. Marine Drugs*, 2, 123 – 146.
- Kim, D.K., Lee, M.Y., Lee, H.S., Lee, D.S., Lee, J.R., Lee, B.J., and Jung, J.H. 2002. Polyacetylenes from a marine spongs *Petrosia sp.* inhibit DNA replication at the level of initiation. *Cancer Lett.*, **185**(2) : 95 – 101
- Kobayashi, M., dan Rachmaniar R., 1999, *Overview of Marine Natural Product Chemistry*. Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98.. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta, 14 – 15 Oktober 1998, 23 – 32
- Li, H., Matsunaga, S.Fusetani, N., 1994. *J.Nat. Prod.*, 57, 1464-1467
- Murniasih, 2005, Subtansi Kimia Untuk Pertahanan Diri Dari Hewan Laut Tak Bertulang Belakang, *Oseana*, **30**(2), 19-27.
- Muniarsih, T., dan Rachmaniar R., 1999, Isolasi Substansi Bioaktif Antimikroba dari Spons Asal Pulau Pari Kepulauan Seribu. Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta, 14 – 15 Oktober 1998: 151 - 158.

- Murti, Y. B., 2006, *Isolation and structure elucidation of bioactive secondary metabolites from sponss collected at Ujungpandang and in the Bali Sea, Indonesia*, Disertation.
- Nursid dan Chasanah, 2009, Model Produksi Senyawa Bioaktif Melalui Kultur Sel pada Spons *Dysedia avara, squalen*, **4**(1).
- Rachmat, R., 2007, Spons Indonesia Timur “Keragaman, Distribusi, Kelimpahan dan Kandungan Metabolit Sekundernya”, *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, **33**, 123-138.
- Rante, H., Wahyono, Murti, Y. B., dan Alam, G., 2010, Purifikasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari *Actinomycetes* Asosiasi Spons Terhadap Bakteri Patogen Resisten, *Majalah Farmasi Indonesia*, **21**(3), 158-165.
- Rasyid, A. 2009. Senyawa – Senyawa Bioaktif dari Spons. *Oseana*. **34**(2), 25-32.
- Soediro, I.S., 1999, *Produk Alam Hayati Bahari dan Prospek Pemanfaatannya di Bidang Kesehatan dan Kosmetika*, Prosidings Seminar Bioteknologi Kelautan Indonesia I '98, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia Jakarta, 14 – 15 Oktober 1998, 41 – 52.
- Soegiarto, A., N. Polunin. 1981. The Marine environment of Indonesia. A Report Prepared for the Government of the Republik Indonesia, Unnder the sponsorship of the International Union for Conservation of nature.
- Suparno, 2005, *kajian bioaktif spons laut (forifera:Demospongiae) suatu peluang alternatif Pemanfaatan ekosistem karang Indonesia Dalam bidang farmasi*, Sekolah Pasca Sarjana, IPB-Bogor.
- Sutedja, L., Udin, L. Z., dan Manupputy, A., 2005, *Antimicrobial Activity of the Spons Petrosia contignata Thiele*, Sistem Informasi Dokumen Kegiatan Pusat Penelitian Kimia LIPI, Bandung.



Tanaka, J., S., Aoki, T., M. Kobayashi, R. Rachmat dan N.J. de voog. 2002.  
Indonesia Marine Sponges. RDCO-LIPI, Osaka Univ.

Usman, H., Ahmad, A., 2010, *Bioactivity and Cloning of a New Antibacterial Lectin Protein in Sponge Gelliodes sp. from Barang Lompo Island in South Sulawesi Indonesia Terrestrial*. Indo. J. Chemistry 10(2), 232-239.

Usman, H. 2012, *Dasar-Dasar Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Dua Satu Press