

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIOAKTIVITAS METABOLIT
SEKUNDER EKSTRAK KLOOROFORM SPONS *Petrosia alfiani* DARI
KEPULAUAN BARRANG LOMPO**

ABD.RAHMAN

H311 08 011



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2014**

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIOAKTIVITAS METABOLIT
SEKUNDER EKSTRAK KLOOROFORM SPONS *Petrosia alfiani* DARI
KEPULAUAN BARRANG LOMPO**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana sains*

Oleh :

ABD. RAHMAN

H311 08 011



MAKASSAR

2014

SKRIPSI

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI BIOAKTIVITAS METABOLIT
SEKUNDER EKSTRAK KLOOROFORM SPONS *Petrosia alfiani* DARI
KEPULAUAN BARRANG LOMPO**

Disusun dan diajukan oleh

ABD.RAHMAN

H311 08 011

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Prof. Dr. H. Hanapi Usman, MS.
NIP. 19570228 198703 1 001

Pembimbing Pertama

Prof. Dr. Ahyar Ahmad
NIP. 19671231 199103 1 020

(Tuhan) Yang Maha Pemurah⁽¹⁾. Yang telah mengajarkan al Quran⁽²⁾. Dia menciptakan manusia⁽³⁾. Mengajarnya pandai berbicara⁽⁴⁾. Matahari dan bulan (beredar) menurut perhitungan⁽⁵⁾. Dan tumbuh-tumbuhan dan pohon-pohonan kedua-duanya tunduk kepada Nya⁽⁶⁾. Dan Allah telah meninggikan langit dan Dia meletakkan neraca (keadilan)⁽⁷⁾. Supaya kamu jangan melampaui batas tentang neraca itu⁽⁸⁾. Dan tegakkanlah timbangan itu dengan adil dan janganlah kamu mengurangi neraca itu⁽⁹⁾. Dan Allah telah meratakan bumi untuk makhluk(Nya)⁽¹⁰⁾. Di bumi itu ada buah-buahan dan pohon kurma yang mempunyai kelopak mayang⁽¹¹⁾. Dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya⁽¹²⁾. Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?⁽¹³⁾ (QS. Ar Rahman: 1-13)

Dan mereka bertanya kepadamu tentang roh. Katakanlah: "Roh itu termasuk urusan Tuhan-ku, dan tidaklah kamu diberi pengetahuan melainkan sedikit".

(QS. Al Isra: 85)

Dialah Allah Yang tiada Tuhan selain Dia, Raja, Yang Maha Suci, Yang Maha Sejahtera, Yang Mengaruniakan Keamanan, Yang Maha Memelihara, Yang Maha Perkasa, Yang Maha Kuasa, Yang Memiliki segala Keagungan, Maha Suci Allah dari apa yang mereka persekutukan⁽²³⁾. Dialah Allah Yang Menciptakan, Yang Mengadakan, Yang Membentuk Rupa, Yang Mempunyai Asmaaul Husna. Bertasbih kepadaNya apa yang di langit dan bumi. Dan Dialah Yang Maha Perkasa lagi Maha Bijaksana⁽²⁴⁾. (QS. Al Hasyr: 23-24)

**Kupersembahkan karya kecil ini untuk Rabbku,
Kedua Orang Tuaku
Saudara-saudaraku dan
Orang-orang yang aku cintai dan mencintaiku karena Allah SWT.**

PRAKATA



Segala puji hanya milik Allah SWT atas nikmat tak berujung yang dicurahkan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“Isolasi, Identifikasi dan Uji Bioaktivitas Metabolit Sekunder Ekstrak Kloroform Spons *Petrosia alfiani* dari Kepulauan Barrang Lompo”**. Shalawat serta salam kepada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta seluruh keluarga dan sahabat-sahabat beliau. Salah satu keindahan di dunia ini yang akan selalu dikenang adalah ketika kita bisa melihat atau merasakan sebuah impian menjadi kenyataan. Dan inilah salah satu keindahan itu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat tersusun tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak baik materil maupun moril, olehnya itu kepada pihak yang telah membantu, penulis menghaturkan banyak terima kasih. Terutama kepada keluarga tercinta, Ayahanda **Abu Hera, S.Sos** dan Ibunda **Hj. Haramiah** atas kesabaran dan doa yang tak pernah putus untuk anak-anaknya, saudaraku: **Hadijah, Arsyad, Muh. Raefathul**, dan **Sofyan Adi Wijaya** terima kasih atas segala kasih sayang dan pengertiannya, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kasih sayang-Nya. Terima kasih juga penulis haturkan kepada:

1. Prof. Dr. H. Hanapi Usman, MS. selaku pembimbing utama dan Prof. Dr. Ahyar Ahmad selaku pembimbing pertama yang telah berkenan meluangkan banyak waktu, pikiran dan tenaga di sela-sela kesibukannya dalam membimbing, memberi saran dan bantuan selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini, mohon maaf jika kehendak tidak sesuai dengan yang diharapkan. Serta kepada dosen penguji, Dr. Hj. Nursiah La Nafie, M.Sc,

Dr. Muhammad Zakir, M.Si dan Dra. Hj. Rohani Bahar, M.Si., juga kepada Ketua Jurusan Dr. Firdaus Zenta, M.S dan seluruh staf pengajar di Jurusan Kimia FMIPA UNHAS yang senantiasa memberi bekal ilmu.

2. Saudara-saudaraku **Mr.8 Community** (**Syarif** “*Hiperaktif*”, **Gilang** “*Rajin Kuliah yah*”, **Imran & UC** “*sedikit lebay*”, **Ichar & Ulla** “*Playboy dikit*”, **Haidil** “*IPK tertinggi*”, **Asman** “*dragon sky*”, **Hendra, Fadel, Lh14, Wida & Kaltri** “*passappuru*”, **Ani** “*autis*”, **Salsa** “*njel*”, **Upe & Ajeng** “*galauers*”, **Nano;Unhy;Vibe** “*ribut*”, **Nink, Meity** “*dikit emosional*”, **Nta** “*dietlah*”, **Nia, Vega, Caca & Arfi** “*dikit kalem*”, **Ana** “*korean lovers*”, **Ama, Agu’ & Tika** “*pendiam*”, **Lili** “*cikebers*”, **Nani, Dewi, Nataq, Ima, Ime’, Desi, Nurul, Kis, Evo, Ayu, Denes** “*tomboy*”, **Defi**, dan **Feros**) yang telah memberi warna dalam hidup penulis baik itu suka maupun duka. Semoga kedepannya kita semua bisa menjadi lebih baik lagi.
3. Buat “**FaRah**” yang telah menemani penulis selama ini baik suka maupun duka, memberi semangat, dan motivasi.
4. Sahabat-sahabat sepenelitian Organik (Syarif, Mila, Cita, Selfi, Ulla, Imran) di Laboratorium Kimia Organik. Kepada Kak Arti dan Pak Usman yang telah menemani selama penelitian berlangsung. Tidak lupa juga saya ucapkan banyak terima kasih untuk Ibu Tini, Pak Sugeng dan K’Anti yang telah meluangkan banyak waktu untuk membantu selama penelitian berlangsung.
5. Sahabat-sahabatku MIPA 08 (Ammart, Fahry, Puang Saki, Arya, Aryo, Jaya, Ahmi, Papank, Wira, Desta, Abel, Ihfa, Okvi, Fahrul “*boncel*”, Rian, Juma, Hikmat, Fera, Daya, Suardi, Surach, dan masih banyak lagi yang belum

sempat disebutkan namanya) terima kasih atas bantuannya dan canda tawanya selama ini. Semoga kenangan itu tak akan hilang oleh waktu.

6. Saudara-saudaraku Keluarga Mahasiswa Kimia/KMK (Angkatan 2002, 2003, 2005, 2006, 2007, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013) yang tidak bisa disebutkan satu per satu dalam kesempatan ini. Terima kasih atas semua bantuannya dan kebersamaannya selama ini. Semoga jalinan kekeluargaan yang telah kita bangun bisa kita pertahankan bersama.
7. Untuk (kak Nanang “CKP”, Kak Joe, Kak Gusti, Kak Dadank, Kak Ucup, Kak Abel, Kak Fian, Kak Jamal, Kak Dede, Kak Cacank, Kak Uki, dan yang lainnya yang belum sempat disebutkan) atas saran, kritik, nasehat, dan ajarannya selama kita bersama.
8. Untuk Nag IPA 1 genkg (Toto, Gamal, Acha, Diman, Chani, Rahmat, Ita, Upi Kecil, Upi Besar, Mayank, Ria, dan yang belum sempat disebutkan namanya) terima kasih untuk canda tawanya.
9. Serta terima kasih kepada pihak-pihak yang telah memberikan bantuan secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis sadar akan kekurangan dalam skripsi ini baik materi maupun teknik penulisannya. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun dalam penulisan selanjutnya.

Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat dalam memecahkan masalah pengobatan berbagai macam penyakit.

Penulis

2014

ABSTRAK

Spons merupakan salah satu biota laut yang sangat prospektif sebagai sumber senyawa-senyawa bahan alam yang memiliki aktivitas farmakologis. Isolasi dan identifikasi metabolit sekunder dari ekstrak kloroform spons *Petrosia alfiani* asal perairan Spermonde Sulawesi-Selatan telah dilakukan. Teknik isolasi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi, partisi, kromatografi kolom vakum, dan kromatografi kolom gravitasi. Senyawa murni telah berhasil diisolasi, kemudian diuji bioaktivitasnya dan diidentifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis, FTIR, dan NMR. Uji bioaktivitasnya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambatan 13,8 mm (100 ppm); 16,2 mm (50 ppm); 16,8 mm (10 ppm); 11,2 mm (1 ppm); 7,0 mm (kontrol negatif); 23,6 mm (kontrol positif), dan bakteri *Escherichia coli* dengan daya hambat 100 ppm (9,8 mm), 50 ppm (8,2 mm), 10 ppm (7,4 mm), 1 ppm (6,8 mm); kontrol positif (25,6 mm); kontrol negatif (7,0 mm), serta uji toksisitas dengan larva udang *Artemia salina* Leach menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 0,045 $\mu\text{g/mL}$ (ppm). Identifikasi senyawa dengan UV-Vis, FTIR, dan NMR memperoleh hasil berupa senyawa β -sitosterol.

Kata kunci: Identifikasi, Spons *Petrosia alfiani*, Uji Bioaktivitas, β -sitosterol

ABSTRACT

Sponge is one of marine biota that very prospective as natural material compounds that has pharmacological activity. The isolation and identification of secondary metabolites from extract chloroform of *Petrosia alfiani* sponge from Spermonde Archipelago at south-Sulawesi has been done. The isolation technique used in this study was maceration method, partition, vacuum column chromatography, and gravitation column chromatography. Pure compound has been isolated, then tested the group and its bioactivity and identified by UV-Vis spectrophotometer, Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR), and Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Bioactivity of the compound has been identified and it be able to inhibition the growth of *Staphylococcus aureus* bacteria with the obstruct diameter is 13.8 mm (100 ppm); 16.2 mm (50 ppm); 16.8 mm (10 ppm); 11.2 mm (1 ppm); 7.0 mm (negative control); 23.6 mm (positive control), and *Esherchia coli* bacteria the inhibition is 100 ppm (9.8 mm), 50 ppm (8.2 mm), 10 ppm (7.4 mm), 1 ppm (6.8 mm), positive control (25.6 mm), negative control (7.0 mm), and toxicity test with shrimp larvae *Artemia salina* Leach and LC₅₀ values of 1.4719 µg/mL. The result of compounds identification with UV-Vis, FTIR, and NMR was β-sitosterol compound.

Key Word; Identification, *Petrosia alfiani* sponge, Bioactivity, β-sitosterol

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR GRAFIK.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Maksud Penelitian.....	3
1.3.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Senyawa Metabolit Sekunder	5
2.2 Biologi Spons.....	6
2.3 Spons <i>Petrosia alfiani</i>	9
2.3.1 Taksonomi.....	9
	x

2.3.2 Morfologi	9
2.4 Fitokimia Genus <i>Petrosia</i>	11
2.4.1 Steroid.....	11
2.4.2 Alkaloid.....	11
2.4.4 Serebrosida.....	13
2.5 Bioaktivitas	13
2.5.1 Senyawa Antikanker	13
2.5.1.1 Cara Penetapan Aktivitas Antikanker <i>P. cf. nigricans</i> ...	15
2.5.2 Senyawa Antibakteri	16
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Bahan Penelitian	18
3.2 Alat Penelitian.....	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	18
3.4 Prosedur Kerja	19
3.4.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel	19
3.4.2 Ekstraksi.....	19
3.4.3 Isolasi	19
3.4.4 Identifikasi	20
3.4.5 Uji Bioaktivitas	20
3.4.5.1 Uji Antibakteri	20
3.4.5.2 Uji Antikanker	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1 Penyiapan dan Pengolahan Sampel	22
4.2 Ekstraksi.....	23

4.3 Isolasi	24
4.4. Identifikasi	26
4.4.1 Spektrofotometer UV-Vis	26
4.4.2 Spektroskopi FTIR	27
4.4.3 ¹ H NMR	28
4.4.4 ¹³ C NMR	30
4.5 Uji Bioaktivitas	34
4.5.1 Antibakteri	34
4.5.2 Uji Toksisitas	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	39
5.1 Kesimpulan	39
5.2 Saran	39
DAFTAR PUSTAKA	40
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Spons <i>Petrosia alfiani</i>	10
Gambar 2. 24 ξ -ethyl-cholesta-5-en-3 β -ol	11
Gambar 3. 24 ξ -ethyl-cholesta-8(9)-en-3 β -ol	11
Gambar 4. 5 α ,8 α -epidioxy-24 ξ -ethyl-cholesta-6-en-3 β -ol	11
Gambar 5. Lembehsterols A	11
Gambar 6. Lembehsterols B.....	11
Gambar 7. Manzamine A	12
Gambar 8. Xestomanzamine A	12
Gambar 9. Nigricinol [4-((1H-Indol-3-yl)methyl)-2-amino-5-(1H-indol-3-yl)-3H-pyrrol-3-one].....	12
Gambar 10. Cribrostatin.....	13
Gambar 11. Renierone	13
Gambar 12. <i>O</i> -demethylrenierone	13
Gambar 13. Petrocerebroside 1	13
Gambar 14. Petrocerebroside 2.....	13
Gambar 15. Spons <i>P. alfiani</i> sebelum dan sesudah kering	22
Gambar 16. Spons <i>P. alfiani</i> setelah dihaluskan.....	22
Gambar 17. KLT fraksi yang memiliki noda tunggal.....	25
Gambar 18. Hasil identifikasi spektrofotometer UV-Vis	26
Gambar 19. Hasil identifikasi spektroskopi FTIR	27
Gambar 20. Hasil identifikasi ¹ H NMR	29
Gambar 21. Hasil identifikasi ¹³ C NMR.....	32

Gambar 22. Struktur senyawa β -sitosterol.....	34
Gambar 23. Bakteri uji yang telah dipreparasi.....	34
Gambar 24. Bakteri yang telah diuji dengan sampel	35

DAFTAR GRAFIK

	Halaman
Grafik 1. Mortalitas A. Salina	15
Grafik 2. Hubungan Log Konsentrasi dan Nilai Probit	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil Uji BSLT Ekstrak Kasar <i>P. cf. nigricans</i>	16
Tabel 2. Hasil Pengukuran ¹ H NMR dan ¹³ C NMR pada sampel.....	33
Tabel 3. Pengukuran diameter zona hambat sampel terhadap bakteri uji .	35
Tabel 4. Hasil uji toksisitas dengan <i>Artemia salina</i> Leach.....	36
Tabel 5. Penentuan nilai LC ₅₀	37

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki garis pantai sepanjang lebih kurang 81.000 km dengan wilayah laut yang sangat luas. Hal ini menjadikan perairan Indonesia memiliki potensi kekayaan alam yang besar dengan tingkat keragaman hayati yang tinggi, di dalamnya terdapat berbagai jenis organisme laut. Pemanfaatan organisme laut tidak hanya terbatas sebagai bahan makanan, tetapi juga sebagai sumber bahan kimia alam yang berpotensi sebagai obat (Handayani dkk., 2008).

Lingkungan laut merupakan sumber senyawa bioaktif yang sangat melimpah. Senyawa bioaktif dari lingkungan laut yang secara umum berupa senyawa metabolit sekunder sangat potensial untuk dikembangkan sebagai bahan obat. Senyawa bioaktif dari lingkungan laut juga dapat dijadikan sebagai senyawa pemandu (lead compound) dalam sintesis obat-obatan baru (Nursid dkk., 2006).

Spons, alga, Coelenterata, dan Echinodermata adalah organisme bahari yang merupakan sumber bahan bioaktif potensial untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, spons menduduki tempat teratas sebagai sumber senyawa aktif karena metabolit sekunder pada spons memiliki keaktifan sebagai antimikroba, antivirus, dan antikanker yang sangat berguna sebagai bahan baku obat (Soediro, 1999). Spons merupakan salah satu biota laut yang potensial untuk diambil kandungan metabolit sekundernya. Metabolit sekunder memiliki kemampuan sebagai

senyawa bioaktif sehingga sangat menjanjikan sebagai *lead compound* untuk bahan yang memiliki aktivitas farmakologi (Rachmat, 2007).

Spons merupakan binatang berongga rapat tergolong sebagai filum Porifera yang ditemukan dikarang-karang vertikal di daerah yang dangkal. Indonesia kaya akan bermacam-macam jenis spons. Biota laut ini menghasilkan berbagai senyawa kimia metabolit sekunder yang bersifat bioaktif. Senyawa kimia tertentu dihasilkan untuk mempertahankan diri dari serangan predator, mengingat struktur tubuhnya yang lunak dan menetap (Muniarsih, 2005).

Spons laut memiliki potensi bioaktif yang sangat besar. Selama 50 tahun terakhir telah banyak kandungan bioaktif yang telah ditemukan. Kandungan bioaktif tersebut dikelompokkan beberapa kelompok besar yaitu *antiflammantory*, antitumor, *immunosuppressive*, antivirus, antimalaria, antibiotik, dan antifouling (Rasyid, 2009).

Spons *Petrosia alfiani* adalah spesies baru yang di temukan oleh De Voogd dan Van Soest (2002) yang tersebar di kawasan perairan kepulauan Spermonde, Barat-Selatan Sulawesi. *P. alfiani* berbentuk bulat (globular) besar atau seperti ranting dengan panjang maksimum 20 cm, lebar 10 cm dan tinggi 4 cm. Berwarna kuning terang, berubah menjadi merah-coklat pada udara terbuka. Dari beberapa penelitian telah dipublikasikan beberapa senyawa bioaktif dari genus *Petrosia* diantaranya adalah asam kortikatat sebagai antijamur dari spons *Petrosia cortikata* (Soediro, 1999), sedangkan data dari Van Soest dan Braekman (1999) menemukan beberapa senyawa bioaktif dari family petrosidae diantaranya polihidroksilat asetilin, siklik 3-alkilpiperidin, dan siklopropenasterol. Selain itu beberapa senyawa aktif yang telah ditemukan dan dilaporkan dari genus *Petrosia*

adalah alkaloid manzamine-A bersifat sitotoksik (El sayed dkk., 2001). Pada *Petrosia sp.* ditemukan senyawa poliasetilen, dideoxypetrosynol A yang menunjukkan aktivitas antitumor pada sel melanoma kulit manusia (Cho dkk., 2004). Aktivitas antibakteri juga ditemukan pada hasil isolasi dari spons laut *Petrosia contignata*, yaitu, Taraxeron dan D-homoandrostan (Sutedja dkk., 2005). Senyawa antibakteri epidioksi sterol dari spons laut *Petrosia nigrans* juga telah diisolasi dan dikarakterisasi dengan rumus molekul $C_{29}H_{48}O_3$ dengan nama 5,8-epidioksi-24-etilkolest-6-en-3-ol (Handayani dkk., 2008).

Jenis spons *P. alfiani* banyak diperairan laut Indonesia namun belum pernah diteliti kandungan kimianya. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa metabolit sekunder dari spons jenis *P. alfiani* dan uji bioaktivitas terhadap bakteri patogen dan larva udang *Artemia salina* Leach.

1.2 Rumusan Masalah

1. Senyawa metabolit sekunder apa yang terkandung dalam ekstrak kloroform spons *Petrosia alfiani*?
2. Apakah metabolit sekunder dari spons *Petrosia alfiani* aktif terhadap bakteri patogen dan larva udang *A. salina* Leach?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan uji bioaktivitas senyawa metabolit sekunder spons *Petrosia alfiani*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

1. Mengisolasi dan memurnikan senyawa metabolit sekunder spons *P. alfiani*.
2. Melakukan uji bioaktivitas terhadap bakteri patogen dan larva udang *A. salina* Leach dari senyawa metabolit sekunder spons *P. alfiani*.
3. Menentukan struktur senyawa bioaktif spons *P. alfiani* yang memiliki potensi sebagai antibakteri dan antikanker.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang jenis dan potensi senyawa metabolit sekunder spons *P. alfiani*.
2. Dasar bagi pengembangan penelitian-penelitian lanjutan tentang senyawa aktif dari spons *P. alfiani*.
3. Kemungkinan ditemukannya senyawa baru dalam *P. alfiani* mengingat spesies ini tergolong baru.
4. Sebagai awal dari eksplorasi obat antibakteri dan antikanker yang baru..

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Indonesia sebagai negara kepulauan yang besar di dunia yang memiliki wilayah laut sangat luas, dua pertiganya merupakan wilayah laut, memiliki sumber daya alam hayati laut yang besar. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah ekosistem terumbu karang. Ekosistem terumbu karang merupakan bagian dari ekosistem laut yang menjadi sumber kehidupan bagi beraneka ragam biota laut. Di dalam ekosistem terumbu karang bisa hidup lebih dari 300 jenis karang, lebih dari 200 jenis ikan, dan berpuluh-puluh jenis moluska, krustacea, spons, algae, lamun, dan biota lainnya (Suparno, 2005).

Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Muniarsih dan Rachmaniar, 1999).

2.1 Senyawa Metabolit Sekunder

Proses sintesis dan degradasi senyawa kimia dalam 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 pertahanan dirinya. Metabolit primer yang digunakan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup diantaranya adalah lemak, DNA, protein dan karbohidrat. Sedangkan metabolit sekunder atau

sering disebut dengan “*natural product*” yang diproduksi oleh organisme mempunyai fungsi penting dalam ekologi (Murniasih, 2005).

Metabolit sekunder pada mulanya diasumsikan sebagai hasil samping atau limbah dari organisme sebagai akibat produksi metabolit primer yang berlebihan. Namun seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan, terbukti bahwa metabolit sekunder diproduksi oleh organisme sebagai respon terhadap lingkungannya (Murniasih, 2005).

Senyawa metabolit sekunder merupakan sumber bahan kimia alami yang dapat ditemukan di alam dapat dijadikan sebagai rujukan untuk pengembangan obat-obatan dan untuk menunjang berbagai kepentingan industri. Bahan ini tidak akan pernah habis dan terus akan tercipta dengan struktur molekul yang mengalami interkonversi sejalan dengan perkembangan zaman. Dengan demikian senyawa yang bersumber dari alam akan terus ada tercipta baik yang sudah pernah ditemukan maupun yang baru dan belum diketemukan (Darminto dkk., 2009).

2.2 Biologi Spons

Spons adalah hewan yang termasuk Filum Porifera. Filum Porifera terdiri dari tiga kelas, yaitu: Calcarea, Demospongiae, dan Hexactinellida (Amir dan Budiyanto, 1996; Rachmaniar, 1996; Romimohtarto dan Juwana, 1999), sedangkan menurut Warren (1982), Ruppert dan Barnes (1991), Filum Porifera terdiri dari empat kelas, yaitu: Calcarea, Demospongiae, Hexactinellida, dan Sclerospongia. Kelas Calcarea adalah kelas spons yang semuanya hidup di laut. Spons ini mempunyai struktur sederhana dibandingkan yang lainnya. Spikulanya terdiri dari kalsium karbonat dalam bentuk *calcite*. Kelas Demospongiae adalah kelompok spons yang terdominan diantara porifer, tersebar luas di alam, dengan

beragam jenis dan jumlah yang sangat banyak. Mereka sering berbentuk masif dan berwarna cerah dengan sistem saluran yang rumit, dihubungkan dengan kamar-kamar bercambuk kecil yang bundar. Spikulanya ada yang terdiri dari silikat dan ada beberapa (*Dictyoceratida*, *Dendroceratida*, dan *Verongida*) spikulanya hanya terdiri dari serat spongin, serat kollagen atau tidak memiliki spikula. Kelas *Hexactinellida* merupakan spons gelas, kebanyakan hidup di laut dalam. Spikulanya terdiri dari silikat dan tidak mengandung spongin (Warren, 1982; Ruppert dan Barnes, 1991; Brusca dan Brusca, 1990 dalam Suparno, 2005; Amir dan Budiyanto, 1996; Romihmohtarto dan Juwana, 1999). Kelas *Sclerospongia* merupakan spons yang kebanyakan hidup pada perairan dalam di terumbu karang atau pada gua-gua, celah-celah batuan bawah laut atau terowongan diterumbu karang. Semua jenis ini adalah bertipe leuconoid yang kompleks, mempunyai spikula silikat dan serat spongin. Elemen-elemen ini dikelilingi oleh jaringan hidup yang terdapat pada rangka basal kalsium karbonat yang kokoh atau pada rongga yang ditutupi oleh kalsium karbonat (Warren, 1982; Harrison dan De Vos, 1991; Ruppert dan Barnes, 1991).

Jumlah struktur senyawa yang telah didapatkan dari spons laut sampai Mei 1998 menurut Van Soest dan Braekman (1999) adalah 3500 jenis senyawa, yang diambil dari 475 jenis dari dua kelas, yaitu *Calcarea* dan *Demospongiae*. Senyawa tersebut kebanyakan diambil dari kelas *Demospongiae* terutama dari ordo *Dictyoceratida* dan *Dendroceratida* (1250 senyawa dari 145 jenis), *Haplosclerida* (665 senyawa dari 85 jenis), *Halichondrida* (650 senyawa dari 100 jenis), sedangkan ordo *Astroporida*, *Lithistida*, *Hadromerida* dan *Poecilosclerida*,

senyawa yang didapatkan adalah sedang dan kelas *Calcarea* ditemukan sangat sedikit.

Ekstrak metabolit dari spons mengandung senyawa bioaktif yang diketahui mempunyai sifat aktifitas seperti: sitotoksik dan antitumor (Kobayashi dan Rachmaniar, 1999), antivirus (Munro dkk., 1989), anti HIV dan antiinflamasi, antifungi (Muliani dkk., 1998), antileukimia (Soediro, 1999), penghambat aktivitas enzim (Soest dan Braekman, 1999). Selain sebagai sumber senyawa bahan alam, spons juga memiliki manfaat yang lain, seperti: digunakan sebagai indikator biologi untuk pemantauan pencemaran laut (Amir, 1991)

Biota laut telah menjadi topik untuk investigasi sejumlah produk alami. Kondisi laut yang ekstrim, yang berbeda dari teresterial, mampu menghasilkan jenis senyawa aktif yang berbeda. Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa senyawa bioaktif dari karang laut berkhasiat sebagai antimikroba, antikanker, dan antiinflamasi (Rachmaniar, 2003).

Kompleksnya komponen kimia dari ekstrak biota laut telah memacu berkembangnya usaha isolasi dan karakterisasi senyawa. Seperti yang telah dilakukan oleh Johannes (2008) melalui isolasi dan karakterisasi metabolit sekunder Hydroid *Aglaophenia cupressina* Lamoureaux menemukan senyawa (1) golongan asam karboksilat yaitu asam heksadekanoat, dan (2) golongan steroid yaitu β -sitosterol. Namun sejauh mana tingkat toksisitas dan efektivitas senyawa bioaktif tersebut perlu diteliti lebih lanjut.

2.3 Spons *Petrosia Alfiani*

2.3.1 Taksonomi

Klasifikasi spesies spons yang menjadi objek penelitian ini adalah sebagai berikut (de Voogd & van Soest, 2002):

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Animalia
Subkingdom	: Radiata
Infrakingdom	: Spongiaria
Phylum	: Porifera
Subphylum	: Cellularia
Class	: Demospongiae
Subclass	: Ceractinomorpha
Order	: Haplosclerida
Suborder	: Petrosina
Family	: Petrosidae
Genus	: <i>Petrosia</i>
Specific name	: <i>alfiani</i>
Scientific name	: <i>Petrosia alfiani</i>

2.3.2 Morfologi

Morfologi luar spons laut sangat dipengaruhi oleh faktor fisika, kimiawi, dan biologis lingkungannya. Spesimen yang berada di lingkungan yang terbuka dan berombak besar cenderung pendek pertumbuhannya atau juga merambat. Sebaliknya spesimen dari jenis yang sama pada lingkungan yang terlindung atau pada perairan yang lebih dalam dan berarus tenang, pertumbuhannya cenderung

tegak dan tinggi. Pada perairan yang lebih dalam spons cenderung memiliki tubuh yang simetris dan lebih besar sebagai akibat dari lingkungan yang lebih stabil apabila dibandingkan dengan jenis yang sama pada perairan yang dangkal (de Voogd & van Soest, 2002).

Spons dapat berbentuk sederhana seperti tabung dengan dinding tipis, atau masif dan agak tidak teratur. Banyak spons juga terdiri dari segumpal jaringan yang tak tentu bentuknya, menempel dan membuat kerak pada batu, cangkang, tonggak, atau tumbuh-tumbuhan. Kelompok spons lain mempunyai bentuk lebih teratur dan melekat pada dasar perairan melalui sekumpulan spikula. Bentuk-bentuk yang dimiliki spons dapat beragam. Beberapa jenis bercabang seperti pohon, lainnya berbentuk seperti sarung tinju, seperti cawan atau seperti kubah. Ukuran spons juga beragam, mulai dari jenis berukuran sebesar kepala jarum pentul, sampai ke jenis yang ukuran garis tengahnya 0.9 m dan tebalnya 30,5 cm. Jenis-jenis spons tertentu nampak berbulu getar karena spikulanya menyembul keluar dari badannya. Morfologi spons *P. alfiani* dapat dilihat pada gambar 1 (de Voogd & van Soest, 2002).

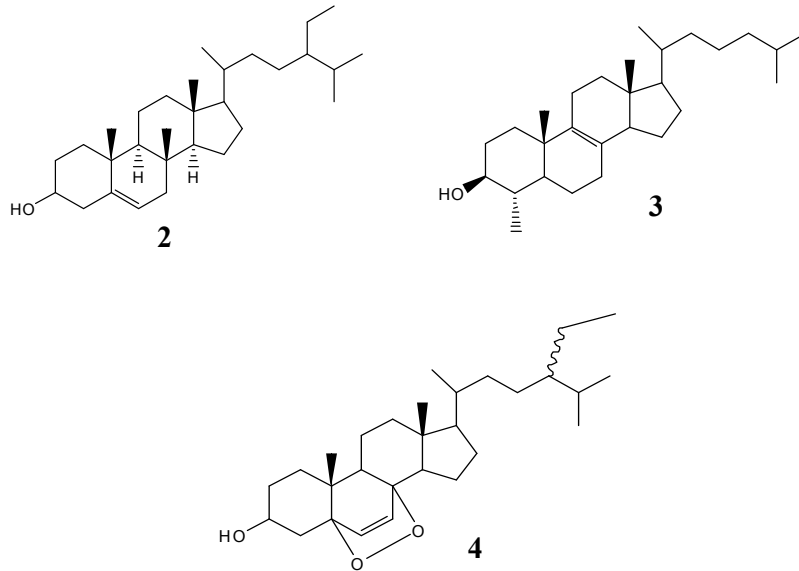


Gambar 1. Spons *P. alfiani*

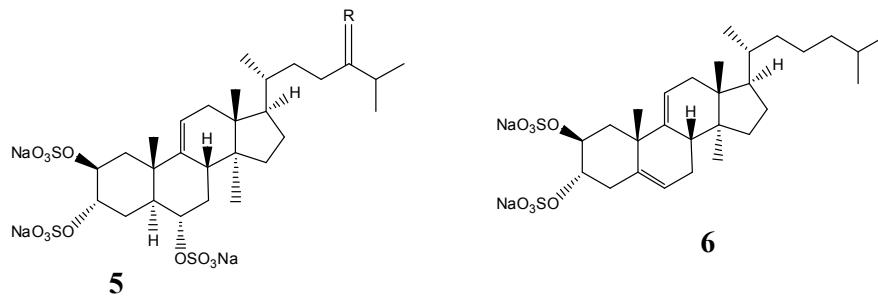
2.4 Fitokimia Genus *Petrosia*

2.4.1 Steroid

Beberapa senyawa turunan steroid telah diisolasi dari spons *Petrosia nigricans* yaitu 24 ξ -ethyl-cholesta-5-en-3 β -ol (**2**), 24 ξ -ethyl-cholesta-8(9)-en-3 β -ol (**3**), 5 α ,8 α -epidioxy-24 ξ -ethyl-cholesta-6-en-3 β -ol (**4**) (Aoki dkk., 2002).



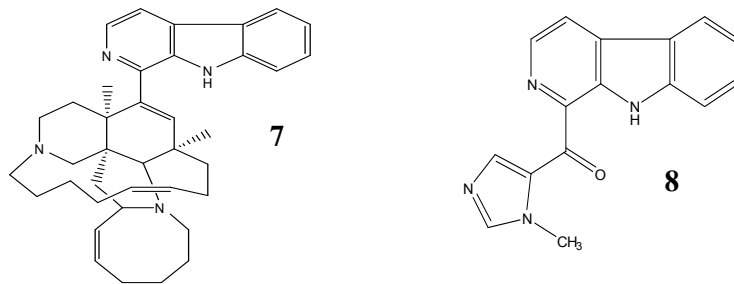
Lembehsterols A (**5**) dan B (**6**) adalah senyawa turunan steroid yang diisolasi dari spons *Petrosia strongylata* (Aoki dkk., 2002).



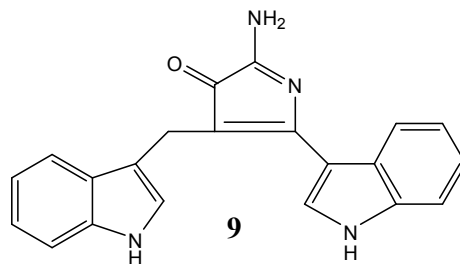
2.4.2 Alkaloid

Famili petrosiidae (seperti, *Xestospongia* sp. dan *Petrosia* sp.), spons *Petrosia*(*Petrosia*) *Hoeksemai* dilaporkan mengandung alkaloid manzamine. Dua

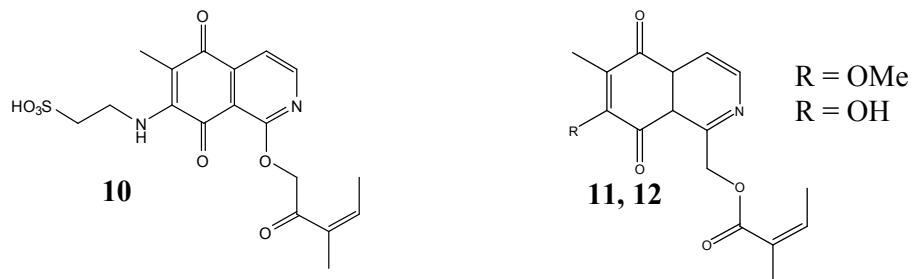
metabolit sekunder telah diisolasi dari spons *Petrosia Hoeksemai* yang dikoleksi dari Pulau Menjangan, Bali-Indonesia. Senyawa tersebut adalah manzamine A (**7**) dan xestomanzamine A (**8**). Senyawa alkaloid manzamine diketahui memiliki aktivitas antimalaria dan anti-HIV (Murti, 2006).



Senyawa baru alkaloid indol pertama kali dilaporkan oleh Ashour (2006) dari spesies *Petrosia nigricans* yang berasal dari Pulau Barranglompo, Sulawesi-Indonesia yaitu Nigricinol [4-((1H-Indol-3-yl)methyl)-2-amino-5-(1H-indol-3-yl)-3H-pyrrol-3-one] (**9**).

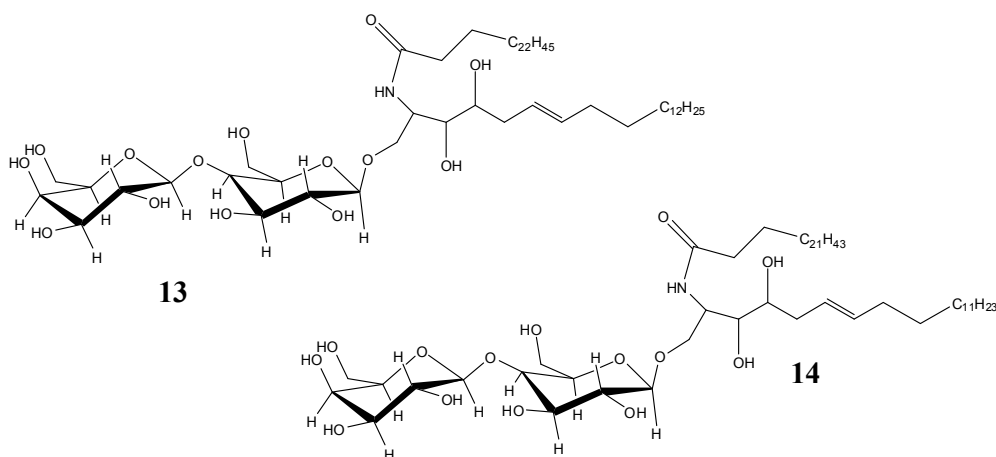


Sandoval dkk., telah menemukan turunan isoquinoline baru dari *Petrosia* spp. (Order Haplosclerida, Family Petrosiidae) asal Filipina yaitu cribrostatin (**10**), dan dua senyawa lain yang telah diketahui yaitu renierone (**11 R=OMe**) dan *O*-demethylrenierone (**12 R=OH**).



2.4.3 Serebrosida

Dua senyawa baru serebrosida yang diisolasi dari *Petrosi nigricans* adalah petrocerebroside 1 (**21**), petrocerebroside 2 (**22**) (Ashour, 2006).



2.5 Bioaktivitas

2.5.1 Senyawa Antikanker

Beberapa peneliti melaporkan bahwa aktivitas substansi dari laut antara lain berkhasiat sebagai antimikroba, antivirus, anti HIV, antikanker dan antiinflamasi (Satari, 1996). Senyawa tersebut merupakan metabolit sekunder yang digunakan dalam sistem pertahanan diri, yaitu untuk mempertahankan hidup dan menghindari gangguan dari organisme lain di lingkungan hidupnya. Karena aktivitas farmakologinya maka senyawa tersebut memiliki prospek untuk diisolasi dan dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Sardjoko, 1996).

Spons merupakan sumber senyawa bahan alam seperti terpenoid, steroid, poliketida, alkaloid dan masih banyak lagi senyawa-senyawa yang lain. Senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi biomedik yang berguna bagi penyembuhan penyakit tertentu pada manusia, misalnya sebagai antikanker, antibiotik, antitumor, antiinflamasi, inhibitor enzim, dan sifat-sifat lainnya (Ralph, 1988).

Senyawa bioaktif ditemukan dari sekitar 11 genera spons. Tiga genera spons yaitu *Haliclona*, *Petrosia* dan *Discodemia* memiliki efek antikanker yang sangat kuat (Jha dan Zi-rong, 2004). *Petrosia sp.* yang berasal dari perairan Korea mengandung senyawa bioaktif poliasetilen yang termasuk dalam golongan alkohol. Senyawa ini memiliki aktifitas sitotoksik yang kuat terhadap sel tumor leukemia pada manusia (K-562) (Seo dkk., 1999), dapat menghambat replikasi DNA secara *in vitro* (Kim dkk., 2002) dan dapat menginduksi apoptosis pada sel melanoma kulit manusia (Cho dkk., 2004).

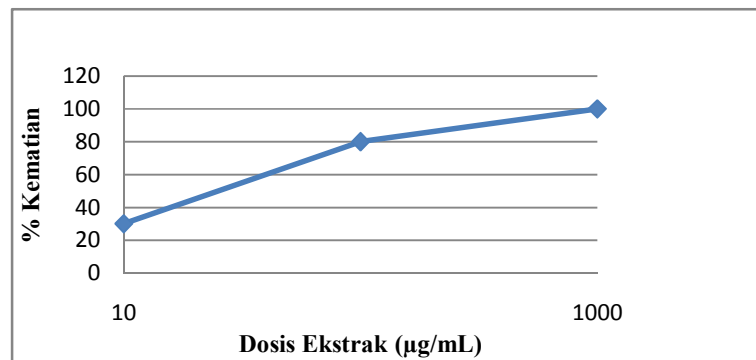
Dua senyawa yang diisolasi dari spons *Petrosia sp.* adalah senyawa alkaloid yang menunjukkan tingkat toksisitas cukup tinggi terhadap larva *A. salina* dengan LC_{50} masing-masing sebesar 7,23 $\mu\text{g/mL}$ (isolat 1) dan 5,69 $\mu\text{g/mL}$ (isolat 2). Sitotoksitas terhadap sel myeloma menunjukkan nilai LC_{50} masing-masing sebesar 16,95 $\mu\text{g/mL}$ (isolat 1) dan 18,8 $\mu\text{g/mL}$ (isolat 2). Semakin lama waktu pemberian, kedua isolat tersebut semakin toksik yang ditunjukkan dengan semakin rendahnya LC_{50} (Astuti, 2005).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Sapar dkk (2004) pada spons *Biemna triraphis* diperoleh isolat tunggal berupa senyawa berbentuk kristal memiliki sifat dan karakteristik yang sama dengan β -sitosterol (35). Selain itu, uji bioaktivitas menunjukkan bahwa *Biemna triraphis* adalah bioaktif dengan nilai

LC₅₀ terhadap *Artemia salina* sebesar 454 ppm, dan uji bioaktivitas terhadap isolat kristal menunjukkan bahwa metabolit sekunder yang dikandungnya adalah bioaktif dengan nilai LC₅₀ sebesar 76 ppm.

2.5.1.1 Cara Penetapan Aktivitas Antikanker *P. cf. nigricans*

Viabilitas *A. salina* dan nilai LC₅₀ hasil uji BSLT dari ekstrak metanol *P. cf. nigricans* disajikan pada Grafik 1. Pada dosis ekstrak 1000 µg/mL semua *A. salina* yang diuji mengalami kematian. Hasil perhitungan analisis probit untuk mencari nilai LC₅₀ disajikan pada Tabel 1. Berdasarkan data pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa nilai LC₅₀ ekstrak metanol spons *P.cf. nigricans* sebesar 23,4 µg/mL. Menurut McLaughlin & Rogers (1998) suatu ekstrak termasuk dalam katagori sangat aktif apabila memiliki nilai LC₅₀ < 30 ppm (Nursid dkk., 2006).



Grafik 1. Mortalitas *A. Salina* setelah pemberian ekstrak metanol *P. cf. nigricans*

Tabel 1. Hasil uji BSLT ekstrak kasar spons *P. cf. nigricans*

Dosis	Log Dosis	Kematian	Nilai Probit	Persamaan Garis	LC ₅₀
10	1	30	4,48	Y = 1,805X + 2,52 R ² = 0,98	23,45
100	2	80	5,84		
1000	3	100	8,09		

2.5.2 Senyawa Antibakteri

Senyawa antibakteri yang dihasilkan dari *actinomycetes* asosiasi spons berdasarkan data IR diduga merupakan senyawa turunan karboksilat serta isolat *actinomycetes* yang diisolasi dari spons termasuk dalam genus *Streptomyces sp.* yang menghasilkan metabolit sekunder aktif terhadap bakteri *S.aureus* resisten antibiotik dengan kadar yang masih bisa menghambat yaitu 0,0195 µg (Rante, 2010).

Bioaktifitas antibakteri ekstrak kasar spons laut terdapat pada beberapa jenis, seperti: *Halichondria sp.*, *Callyspongia pseudoreticulata*, *Callyspongia sp.* dan *Auletta sp.* (Suryati dkk., 1996). Beberapa spons yang belum diketahui jenisnya, yang aktif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Vibrio cholerae* Eltor (Rachmaniar, 1996).

Senyawa antibakteri telah diisolasi dari spons laut jenis: *Discodermiakiensis*, *Cliona celata*, *lanthella basta*, *lanlheller ardis*, *Psammaphysila purpurea*, *Agelas sceptrum*, *Phakelia flabellata*. Senyawa antijamur telah diisolasi dari spons laut jenis: *Jaspis sp*, *Jaspis johnstoni*, *Geodia sp.* Senyawa antitumor/antikanker telah diisolasi dari spons laut jenis: *Aplysina fistularis*, *A. Aerophoba*. Senyawa antivirus telah diisolasi dari spons laut jenis: *Cryptotethya crypta*, *Irciniavariabilis*. Senyawa sitotoksik diisolasi dari spons laut

jenis: *Axinella cannabina*, *Epipolasis kulumotoensis*, *Spongia officinalis*, *Igernella notabilis*, *Tedania ignis*, *Axinella verrucosa*, *Ircinia sp.* Senyawa antienzim tertentu telah diisolasi dari spons laut jenis: *Psammaphysilla purea* (Ireland dkk., 1989; Munro dkk., 1989).