



SKRINING DAN UJI TOKSISITAS BEBERAPA SPONS LAUT
(PORIFERA) ASAL PERAIRAN PULAU KODINGARENG KEKE
DENGAN METODE UJI LETAL LARVA UDANG

(*Artemia salina* Leach.)

OLEH

M.RUSDI

H51101056



PERPUSTAKAAN PUSAT UNIV. HASANUDDIN	
Tgl. Terima	15-5-06
Asal Dari	Fale. MIPA
Banyaknya	1 (satu) eksemplar
Harga	H
No. Inventaris	647/15-5-06
No. Klas	

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2005

SKRINING DAN UJI TOKSISITAS BEBERAPA SPONS LAUT
(PORIFERA) ASAL PERAIRAN PULAU KODINGARENG KEKE
DENGAN METODE UJI LETAL LARVA UDANG
(Artemia salina Leach.)

OLEH
M.RUSDI
H51101056

Skripsi ini untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar sarjana

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2005



LEMBAR PENGESAHAN

**SKRINING DAN UJI TOKSISITAS BEBERAPA SPONS LAUT
(PORIFERA) ASAL PERAIRAN PULAU KODINGARENG KEKE
DENGAN METODE UJI LETAL LARVA UDANG
(*Artemia salina* Leach.)**

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama

(DR.rer.nat.Marianti A.Manggau)

Pembimbing Pertama

(Dra. Rahmawati Syukur, M.Si.)

Pada tanggal

2005

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan studi, penelitian dan penyusunan skripsi ini. Salawat dan salam atas junjungan kita, Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wasallam, para sahabatnya serta orang-orang yang mengikuti mereka dengan baik.

Skripsi dengan judul “Skrining dan Uji Toksisitas Beberapa Spons Asal Perairan Pulau Kodingareng Keke dengan Metode Uji Letal Larva Udang (*Artemia Salina* Leach.)” ini disusun sebagai salah satu syarat dalam mencapai gelar keserjanaan pada jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Pada Kesempatan ini penulis menghaturkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu DR. rer-nat. Marianti A. Manggau selaku pembimbing utama, dan Ibu Dra. Rahmawati Syukur, M.Si. selaku pembimbing pertama serta Bapak Drs. Gemini Alam, M.Si., yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam membimbing penulis sejak awal perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.

Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin

2. Bapak Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin
3. Ibu Mufidah, M.Si., Apt. selaku penasehat akademik yang selalu membimbing dan mengarahkan selama proses studi dan pada saat penyusunan skripsi ini.
4. Bapak/Ibu Kepala Laboratorium di Lingkungan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam khususnya Jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih kepada kedua orang tua tercinta, Ayahanda Kurusing dan Ibunda Hj. Kanang (semoga Allah merahmatinya) serta Ibunda Bunga, atas kasih sayang dan doa restu yang diberikan selama ini hingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan ini.

Kepada saudara-saudariku, kakak tercinta Nuherah, Nurhayati, Nurjannah, Nurheda, Indaryani serta adikku yang tercinta Amirullah, Nurhilma yang telah menemaniku dalam suka dan duka kehidupan, doa dan dukungan yang telah diberikan kepada penulis.

Kepada Ka' Rahim S.Si. Apt., penulis mengucapkan terima kasih atas waktu, tenaga dan pikiran yang telah diberikan selama penelitian ini. Begitu pula kepada Ka' Risfah, S.Si. Apt, dan Ka' Endang atas bantuannya. Bapak Syuaib, penulis juga mengucapkan terim kasih.

Kepada keluarga besar angkatan 01, Abie bagaya, Agus gagah, Idrus, Amin, Ahmad, Hasan, Farid, Ippank, Ikhsan, Jimmy, Rudi dan Yandri dan keluarga 01 lainnya yang tidak sempat disebutkan namanya, pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih. Semoga persahabatan kita menjadi sebuah kisah klasik untuk masa depan.

Kepada para Ustadz, penulis ucapkan jazakumullah khairan katsiran, atas ilmu yang bermanfaat, yang telah membimbing dan mengarahkan penulis dalam mengarungi kehidupan dunia khususnya pendidikan Farmasi dan terlebih lagi kehidupan akhirat yang abadi. Begitupun para ikhwa salafi tak terkecuali, penulis ucapkan jazakumullah khairan atas bantuannya.

Penulis menyadari bahwa kesempurnaan adalah hanya milik Allah namun penulis masih tetap berharap semoga skripsi yang jauh dari kesempurnaan ini masih dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amiin.

Makassar, Agustus 2005

Penulis,

ABSTRAK

Telah dilakukan skrining dan uji toksisitas spons A, B, C, D dan E asal Perairan Pulau Kodingareng Keke. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan data awal adanya spons yang mengandung senyawa bioaktif dengan melihat toksisitasnya terhadap *Artemia Salina*. Ekstrak metanol dan kloroform yang diperoleh dari partisi pelarut masing-masing spons diuji dengan metode uji letal larva udang *Artemia Salina* Leach., suatu ekstrak dinyatakan toksik bila memiliki nilai LC_{50} lebih kecil dari 1000 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrak yang paling toksik adalah ekstrak kloroform spon B dengan persentase kematian 100 persen pada konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ dan 100 $\mu\text{g/ml}$ serta 98 persen pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$. Pemisahan lebih lanjut terhadap ekstrak kloroform spons B dilakukan dengan kromatografi kolom cair vacum menggunakan fase diam silika gel 60 PF 254 dan fase gerak hexan-etil asetat yang kepolarannya semakin ditingkatkan. Dari ketiga fraksi hasil pemisahan tersebut yang memiliki toksisitas yang paling tinggi adalah fraksi III dengan LC_{50} sebesar 9,861 $\mu\text{g/ml}$. Identifikasi terhadap kromatogram fraksi III menggunakan pereaksi Dragendorff menunjukkan hasil yang positif adanya senyawa nitrogen yang diduga sebagai senyawa alkaloid.

ABSTRACT

Screening and toxicity test Sponges A, B, C, D and E from Kodingareng Keke Island water have been done. The purpose of this research is to gain initial data concerning to the Sponges that contain bioactive compound by observing their activities toward *Artemia Salina* nauplii. Methanol and chloroform extracts respectively were from solvent partition of each Sponges tested by Brine Shrimp Lethality Test method, an extract could be toxic, if there is LC_{50} less than 1000 $\mu\text{g/ml}$. The most toxic is chloroform extract of sponge B with death procentage is 100 % of 100 $\mu\text{g/ml}$ and 1000 $\mu\text{g/ml}$, and 98 % of 10 $\mu\text{g/ml}$ concentration. The next separation of the chloroform extract of Sponge B is done by vacuum liquid chromatography by using silica gel 60 PF 254 as stationary phase and hexan-ethyl acetate as mobile phase. From the three fraction that have been resulted by this separation, fraction III was the highest toxicity with LC_{50} 9,861 $\mu\text{g/ml}$. Identification of fraction III chromatogram with reagent Dragendorff showed that there are compound with nitrogen which assumed as alkaloid compound.

DAFTAR ISI

	Halaman
JUDUL	i
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACK	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II POLA PENELITIAN	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	7
III.1 Spons	7
III.2 Metode Ekstraksi	9
III.2.1 Tujuan Ekstraksi	9
III.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi	10
III.2.3 Ekstraksi Secara Maserasi.....	10
III.2.4 Ekstraksi Cair-Cair	11
III.3 Metode Pemisahan	12
III.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	12



III.3.2 Isolasi Dengan Kromatografi Kolom Cair Vakum.....	13
III.4 Uji Toksisitas	14
III.5 Uji Letal Larva Udang <i>Artemia salina</i>	16
III.6 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach.....	17
III.6.1 Klasifikasi	17
III.6.2 Morfologi	17
BAB IV PELAKSANAAN PENELITIAN.....	20
IV.1 Penyiapan alat dan bahan	20
IV.1.1 Alat-alat yang digunakan.....	20
IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan.....	21
IV.2 Penyiapan Bahan Penelitian.....	22
IV.2.1 Pengambilan sampel.....	22
IV.2.2 Pengolahan sampel.....	22
IV.3 Ekstraksi, Partisi dan Uji Toksisitas Ekstrak	22
IV.4 Isolasi sampel	23
IV.4.1 Persiapan kolom kromatografi cair vakum.....	23
IV.4.2 Pemisahan komponen kimia.....	24
IV.5 Uji Toksisitas Dengan Metode Uji Letal Larva Udang.....	24
IV.5.1 Penyiapan Larva Udang	24
IV.5.2 Pembuatan Konsentrasi Sampel	25
IV.5.3 Pelaksanaan Uji	26

IV.6 Identifikasi Senyawa Aktif	26
IV.6.1 Pembuatan Pereaksi	26
IV.6.2 Identifikasi Senyawa Aktif	27
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
V.1 Hasil Penelitian.....	28
V.2 Pembahasan.....	30
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
VI.1 Kesimpulan.....	35
VI.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
SKEMA KERJA	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengamatan Kematian Larva <i>Artemia salina</i> dari Ekstrak Kloroform Beberapa Spons Koleksi Pulau Kodingareng Keke	28
2. Hasil Pengamatan Kematian Larva <i>Artemia salina</i> dari Ekstrak Metanol Beberapa Spons Koleksi Pulau Kodingareng Keke	29
3. Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang <i>Artemia salina</i> Hasil Isolasi dari Ekstrak Kloroform Spon B	29
4. Data Hasil Pengamatan Jumlah Larva Udang (<i>Artemia salina</i> Leach) yang Mati Setelah 24 jam Perlakuan dengan Ekstrak Kloroform Spons...	40
5. Data Hasil Pengamatan Jumlah Larva Udang (<i>Artemia salina</i> Leach) yang Mati Setelah 24 Jam Perlakuan dengan Ekstrak Metanol Spons	41
6. Data Hasil Pengamatan Jumlah Larva Udang (<i>Artemia salina</i> Leach) yang Mati Setelah 24 Jam Perlakuan dengan Fraksi-Fraksi Hasil Isolasi Ekstrak Kloroform Spon B	42
7. Harga Probit Sesuai Prosentasenya	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan LC_{50} Fraksi 1 (Ekstrak Kloroform Spon B) Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi	44
2. Perhitungan LC_{50} Fraksi 2 (Ekstrak Kloroform Spon B) Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi	45
3. Perhitungan LC_{50} Fraksi 3 (Ekstrak Kloroform Spon B) Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan prosentase kematian (probit) fraksi I (ekstrak kloroform spon B)	47
2. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan prosentase kematian (probit) fraksi II (ekstrak kloroform spon B)	48
3. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan prosentase kematian (probit) fraksi III (ekstrak kloroform spon B)	49
4. Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B	50
5. Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B	51
6. Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B	52
7. Foto hasil kromatografi Fraksi III (ekstrak kloroform Spon B)...	53
8. Foto Spon Laut A	54
9. Foto Spon Laut B	54
10. Foto Spon Laut C	55
11. Foto Spon Laut D	55
12. Foto Spon Laut E	56

BAB I

PENDAHULUAN

Sumber daya biota laut merupakan aset potensial yang dapat didayagunakan menjadi produk untuk diaplikasikan pada berbagai bidang, terutama bidang farmasi. Jenis biota laut di daerah tropis Indonesia diperkirakan 2-3 kali lebih besar dibandingkan dengan biota laut di daerah subtropis dan daerah beriklim dingin. Oleh karena itu, Indonesia yang merupakan bagian dari wilayah Indopasifik, yang memiliki keanekaragaman biota laut terbesar di dunia, tentu tidak boleh tinggal diam dalam perburuan obat-obatan dan formula-formula baru guna menanggulangi berbagai penyakit yang bermunculan (1).

Biota laut menghasilkan produk alam yang terdiri dari metabolit primer dan metabolit sekunder(2). Metabolit sekunder dari organisme tersebut merupakan sumber obat-obatan (3).

Spons merupakan biota laut yang multiseluler primitif (metazoa) tanpa jaringan nyata, yang merupakan sumber metabolit sekunder terkaya (1,2). Jumlah dan penyebarannya sangat banyak. Ada sekitar 15.000 spesies spons laut di seluruh dunia dan sekitar 45 persen senyawa bioaktif laut ditemukan di spons laut (3). Perjalanan pencarian obat dari spons di beberapa perairan di Indonesia sudah dilakukan, namun masih banyak lokasi di Indonesia yang belum tersentuh (4). Salah satu diantaranya adalah pulau Kodingareng Keke.

Spons memproduksi senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder yang bermanfaat dalam proses pencernaan secara enzimatik, juga kandungan kimianya mampu untuk menangkal dan menghambat pertumbuhan patogen penggungunya (5). Karena proses metabolisme dan produksi metabolit sekunder pada spons dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, seperti temperatur, kekeruhan, kekuatan arus, cahaya, salinitas serta faktor-faktor kimiawi lainnya (6) maka diharapkan di Pulau Kodingareng Keke akan ditemukan spons yang memiliki potensi untuk dijadikan sebagai sumber senyawa bioaktif. Disamping itu pulau Kodingareng Keke mempunyai populasi dan jumlah spesies spons relatif lebih banyak (7)

Beberapa penelitian telah menunjukkan spon mempunyai aktivitas ketoksikan terhadap *Artemia salina* Leach. Dari perairan pulau Barang Lompo telah dieksplorasi 5 jenis spons dan yang paling aktif adalah ekstrak kloroform spons BRLP-03 dengan LC_{50} paling kecil ($5,01 \mu\text{g/ml}$) (8).

Uji Letal Larva Udang adalah salah satu metode skrining bioaktif dari bahan alam yang menunjukkan aktifitas farmokologis yang luas dan dimanifestasikan sebagai toksisitas senyawa terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Metode ini ternyata cepat, murah, mudah dapat dikerjakan di rumah dan dapat dipercaya. Hasil uji dikatakan toksik terhadap *Artemia salina* apabila senyawa yang diujikan memiliki $LC_{50} < 1000 \mu\text{g/ml}$ (9,10).

Maksud penelitian ini adalah melakukan skrining dan uji toksisitas beberapa spons asal perairan pulau Kodingareng Keke dengan menggunakan metode Uji Letal Larva Udang *Artemia salina*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan data

awal adanya spons yang mengandung senyawa bioaktif yang selanjutnya dilakukan identifikasi awal.

BAB II

POLA PENELITIAN

II.1 Penyiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini disiapkan sesuai dengan kebutuhan.

II.2 Penyiapan Bahan Penelitian

II.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah spons yang merupakan koleksi Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS. Kelima spons tersebut diambil dari perairan pulau Kodengareng Keke (LS 05° 06, 273' & BT 119° 17, 058'), Sulawesi Selatan.

II.2.2 Pengolahan Sampel

Sampel dibersihkan kemudian dipotong – potong kecil.

II.3 Ekstraksi , Partisi dan Uji Toksisitas Ekstrak

Sampel diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian diuapkan dan dipisahkan lebih lanjut dengan kloroform dan air dengan menggunakan corong pisah. Pada Lapisan air ditambahkan metanol kemudian disentrifus, endapan dibuang sedangkan supernatannya diuapkan sampai kering. Masing-masing ekstrak

metanol dan kloroform diuji toksisitasnya secara BST dan ekstrak yang paling aktif diisolasi lebih lanjut.

II.4 Isolasi Senyawa Bioaktif

Isolasi senyawa bioaktif dilakukan secara kromatografi cair vakum.

II.5 Uji Toksisitas dengan Metode Uji Letal Larva Udang

II.5.1 Penyiapan Larva Udang

Telur udang *Artemia Salina* Leach ditetaskan selama 48 jam sebelum dilakukan uji. Penetasan dilakukan dengan cara merendam telur tersebut dalam air laut secukupnya pada kondisi pH 7-8 dibawah cahaya lampu pijar 60 watt dan pada suhu kamar 25 °C yang dilengkapi dengan aerator.

II.5.2 Pembuatan Konsentrasi Sampel

Ekstrak spons dan fraksi-fraksi hasil isolasi dilarutkan dalam pelarut kloroform dan metanol. Kemudian dibuat kadar dengan konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml, dan 1000 µg/ml, diuapkan pelarutnya hingga kering kemudian ditambahkan air laut sebanyak 2 ml. Selanjutnya diuji pada larva udang *Artemia Salina* Leach. Sebagai kontrol negatif digunakan pelarut yang digunakan pada pengenceran ekstrak.

II.5.3 Pelaksanaan uji

Dimasukkan 10 ekor larva udang yang diambil secara acak ke dalam masing-masing vial yang berisi ekstrak sampel dan kontrol. Selanjutnya disimpan ditempat yang cukup mendapat cahaya lampu selama 24 jam. Kemudian dihitung jumlah larva yang mati untuk tiap ekstrak.

II.6 Identifikasi Senyawa Aktif

Fraksi dengan LC_{50} paling rendah diidentifikasi dengan berbagai pereaksi penampak noda pada KLT.

II.7 Pengumpulan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dihitung dengan menggunakan analisis probit untuk mendapatkan LC_{50}

II.8 Pembahasan Hasil

Pembahasan diuraikan berdasarkan hasil analisis data yang diperoleh dari hasil perhitungan.

II.9 Pengambilan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan analisis data dan pembahasan hasil.

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

III.1 Spons

Spons merupakan organisme multiseluler yang termasuk dalam filum porifera. Porifera atau binatang karang merupakan invertebrate yang paling rendah tingkatannya. Binatang ini belum memiliki susunan otot, sistem syaraf dan belum mempunyai saluran pencernaan maupun organ-organ tubuh lainnya (11).

Ciri-ciri dari spons ini mempunyai bentuk badan membulat atau merumpun pada aliran arus kuat dan lemah, umumnya membentuk percabangan. Spons yang umumnya hidup pada laut dalam, berwarna putih, kuning dan hijau, ada juga spisimen yang berwarna hijau terang, kuning, oranye, merah dan ungu yang merupakan keistemewahan dari air laut dangkal.

Spons hidup di air dan melekat pada batu, karang atau benda padat, beberapa diantaranya hidup di pasir halus dan dasar lumpur. Spons hidup dengan memanfaatkan makanan disekitarnya dengan cara mengisap dan menyaring sehingga dikategorikan sebagai "filter feeder".(5)

Morfologi luar spons sangat dipengaruhi oleh faktor fisik, kimia dan biologis lingkungannya. Spesimen yang berada di lingkungan terbuka dan berombak besar cenderung pendek pertumbuhannya atau juga merambat. Sebaliknya spesimen dari jenis yang sama pada lingkungan terlindung atau pada

perairan yang lebih dalam dan berarus tenang, pertumbuhannya cenderung tegak dan tinggi. Pada perairan yang lebih dalam, spons cenderung memiliki bentuk tubuh yang lebih simetris dan lebih besar sebagai akibat dari lingkungan yang lebih stabil apabila dibandingkan dari jenis yang sama yang hidup pada perairan yang dangkal.(6)

Spons memproduksi senyawa bioaktif hasil metabolisme sekunder yang bermanfaat dalam proses pencernaan secara enzimatik terutama untuk mencerna bakteri sebagai sumber nutrisi baginya. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh spons tidak hanya bermanfaat untuk proses pencernaan makanannya, tetapi kandungan kimianya juga mampu menangkal dan menghambat pertumbuhan patogen pengganggu. (5).

Banyak kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam beberapa spons antara lain terpen, polyketid, asetogenin, peptide, karotin, asam amino bebas, sterol, asam lemak, brominat phenol, derivat senyawa dibromotyrosin, bromopyron, alkaloid dengan berbagai variasi struktur dan bermacam-macam senyawa hasil biosintesis (6,12).

Spons dibagi menjadi 4 kelas yaitu : (13)

a. Kelas *Calcarea (Calcispongiae)*

Spons dari kelas ini mempunyai rangka yang tersusun dari kalsium karbonat, biasa hidup di lautan yang dangkal, memiliki Choanocyte besar terdiri dari 2 ordo, yaitu ordo *Asconosa* dan ordo *Syconosa*. Contoh :

Leucosolenia dan *sycon*

b. Kelas Hexactinellida (Hyalospongiae)

Spons ini banyak ditemukan pada kedalaman lebih dari 50 meter mempunyai siliceous specules. Beberapa spons dari kelas ini mempunyai syconoid, kerangka tubuhnya terbuat dari silikat dan spikulanya berduri enam terdiri dari 2 ordo yaitu ordo *Hexastorophora* dan ordo *Amphidiscophora*. Contoh : *Euplectella*

c. Kelas demospongiae

Sekitar 90 % dari tubuh spons berpori, megasklera dan mikrosklera Sponging fibers, atau keduanya, dalam satu famili, mempunyai sedikit rangka spons dari famili spongilidae termasuk dalam kelas ini. Terdiri 8 ordo yaitu ordo *Carnosa*, ordo *Choristida*, ordo *Epipolasida*, ordo *Hadromerida*, ordo *Halicondrina*, ordo *Poeciloclerina*, ordo *Haploscerina*, dan ordo *keratosa*. Contoh *Epidatia*, *Cliona*, *spongilla*, *Spongia*.

d. Kelas Sklerospongiae

Dari spons tropik sampai subtropik biasanya ditemukan di habitat cryptic, memiliki rangka calcareous yang besar. Contoh : *Calcifibrosporgia* dan *Merlia*

III.2 Metode Ekstraksi Bahan Alam

III.2.1 Tujuan Ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan dan biota laut

dengan pelarut organik tertentu. Proses ekstraksi ini berdasarkan pada kemampuan pelarut organik untuk menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dalam pelarut organik dan karena adanya perbedaan antara konsentrasi di dalam dan konsentrasi diluar sel, mengakibatkan terjadinya difusi pelarut organik yang mengandung zat aktif keluar sel. Proses ini berlangsung terus menerus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel.(14,15)

III.2.2 Jenis-Jenis Ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara kering. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu dengan maserasi, perkolasi dan soxhletasi (15).

III.2.3 Ekstraksi Secara Maserasi

Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperature yang terlindung oleh cahaya. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok

kedalam sebuah bejana, ditusngi dengan 75 bagian penyari, dan ditutup, serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, diserikai dan peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya selama 2 hari. (15)

III.2.4 Ekstraksi cair-cair

Penyarian merupakan proses pemisahan dimana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur.

$$K_d = \frac{C_1}{C_2}$$

Kerap kali sebagai pelarut pertama adalah air sedangkan sebagai pelarut kedua adalah pelarut organik yang tidak bercampur dengan air. Dengan demikian ion anorganik atau senyawa organik polar sebagian besar akan terdapat dalam fase organik. Hal ini yang dikatakan "like dissolves like" yang berarti bahwa senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar dan sebaliknya. Dalam suatu larutan encer faktor kadar tidak mempengaruhi koefisien distribusinya.

Jika suatu cairan ditambahkan ke dalam ekstrak cairan lain yang tidak dapat bercampur dengan yang pertama, akan terbentuk dua

lapisan. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan kedalam dua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai kesetimbangan konsentrasi dalam kedua lapisan. Waktu diperlukan untuk tercapainya keseimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran kedua fase tersebut dalam corong pisah. (16)

III.3 Metode Pemisahan

III.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah cara pemisahan dengan adsorpsi pada lapisan tipis adsorben yang dapat digunakan untuk memisahkan berbagai senyawa seperti ion-ion anorganik, kompleks senyawa-senyawa organik dengan anorganik dan senyawa-senyawa organik baik yang terdapat di alam maupun senyawa-senyawa organik sintesis (17).

Pada kromatografi lapis tipis, fase diam berupa lapisan tipis (ketebalan 0,1-2 mm) yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat plat polimer atau logam. Lapisan melekat pada permukaan dengan bantuan pengikat, biasanya dengan kalsium sulfat atau amilum (18).

Prinsip KLT adalah pemisahan secara fisikokimia. Lapisan yang memisahkan yang terdiri dari bahan yang berbutir-butir (fase diam), ditempatkan dalam penyangga berupa plat gelas, logam atau lapisan yang

cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah plat atau lapisan ditaruh di dalam bejana yang ditutup rapat berisi fase gerak, pemisahan terjadi selama pengembangan. Senyawa berwarna terdeteksi (19).

Lapisan tipis sering mengandung indikator fluoresensi yang ditambahkan untuk membantu penempakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Indikator fluoresensi ialah senyawa yang memancarkan sinar tampak jika disinari dengan sinar berpanjang gelombang lain, biasanya sinar UV. Indikator fluoresensi yang paling berguna ialah sulfide anorganik yang memancarkan cahaya jika disinari cahaya pada panjang gelombang 254 nm. Beberapa senyawa organik bersinar atau berfluoresensi sendiri jika disinari pada panjang gelombang 254 nm atau 366 nm dan dapat tampak dengan mudah (18)

III.3.2 Isolasi dengan Kromatografi Kolom Cair Vakum

Target memperkenalkan modifikasi dan cara cair vakum untuk mencegah pembentukan saluran artinya sistem dirancang untuk bekerja pada vakum terus-menerus. Akan tetapi, kromatografi cair vakum untuk fraksinasi ekstrak tumbuhan secara kasar berhasil baik tanpa modifikasi ini. Cara asli Coll dkk menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek, sedangkan Target dkk menggunakan kolom yang lebih panjang. Kolom kromatografi dikemas kering (biasanya dengan penjerap

mutu KLT 10-40 mikro meter) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai. Cuplikan dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan prapenjerap (tanah diatomea, celite) dan dihisap perlahan-lahan ke dalam kemasan dengan menvakumkannya. Kolom dielusikan dengan campuran pelarut yang cocok, mulai dengan pelarut yang kepolarannya rendah lalu kepolaran ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi.

Kromatografi cair vakum menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak. Berbeda dengan metode yang menggunakan tekanan pada bagian atas kolom untuk meningkatkan laju aliran, mengotak-atik kolom mudah karena kepala kolom berada dalam tekanan atmosfer (20)

III.4 Uji toksisitas

Toksisitas adalah efek berbahaya dari suatu bahan kimia atau suatu bahan obat pada organ target. Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat keamanan dan keberbahayaan zat yang akan diuji. Adapun sumber dari zat toksik dapat berasal dari bahan alam maupun sintetik (21)

Toksisitas diukur dengan mengamati kematian hewan percobaan. Kematian dari hewan percobaan dianggap sebagai respon dari pengaruh dari senyawa yang diuji, sehingga hubungan dari respon dengan menggunakan kematian sebagai jawaban toksik adalah merupakan titik awal untuk mempelajari toksisitas.(22,23)

Angka kematian dari hewan percobaan dihitung sebagai Median Lethal Dose (LD_{50}) atau Median Lethal Concentration (LC_{50}). Penggunaan LC_{50} dimaksudkan untuk pengujian ketoksikan dengan perlakuan terhadap hewan coba secara inhalasi atau dengan menggunakan media air (22,23)

Cara penentuan LC_{50} ada beberapa cara yaitu a) dengan metode Reed dan Muench; b) Metode grafik; c) Perhitungan secara matematik; d) Metode grafik Probit. Disamping itu nilai LC_{50} juga dapat digunakan untuk menentukan tingkat efek toksik suatu senyawa sehingga dapat juga untuk memprediksi potensinya (9,24)

Salah satu uji efek toksik yang berkaitan dengan potensi bioaktif suatu bahan adalah dengan menggunakan metode "Brine Shrimp Lethality Test", yaitu menggunakan larva udang sebagai hewan uji dengan keuntungan hasil yang diperoleh lebih cepat (24 jam), tidak mahal, mudah pengerjaannya dari pengujian lainnya. Efek toksik dapat diketahui atau diukur dari kematian larva karena pengaruh bahan yang diuji. Hewan yang digunakan adalah *Artemia salina* yang merupakan udang-udangan primitif, sederhana dan efektif dalam ilmu biologi dan toksikologi (9,24)

Pengujian efek toksik dengan larva udang *Artemia salina* dihitung dengan metode LC_{50} yang mana kematian setelah 6 jam pemaparan dimasukkan dalam kategori LC_{50} akut dan pemaparan setelah 24 jam digolongkan LC_{50} kronis, dan dalam pengerjaannya biasanya digunakan LC_{50} setelah 24 jam mengingat kelarutan ekstrak yang sukar larut membutuhkan waktu yang lebih panjang (9)

III.5 Uji Letal Larva Udang *Artemia salina*.

Suatu metode ringkas bioaktivitas untuk penelitian bahan alam salah satunya adalah menggunakan udang renik air asin yaitu *Artemia salina* Leach. Yang dikenal dengan metode Uji Letal Larva Udang (BST). BST merupakan uji yang cepat, murah, relatif mudah dan cukup akurat. Metode uji toksisitas ini menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. yang berumur 48 jam. Pada stadium ini, larva dalam keadaan paling peka karena dinding selaput masih lunak, sehingga hanya diperlukan konsentrasi yang kecil untuk dapat menyebabkan kematian larva. BST dapat digunakan untuk berbagai system uji seperti : uji pestisida, mitotoksin, polutan, anestetik, komponen seperti morfin, karsinogenik dan ketoksikan dari dalam laut, serta senyawa beracun dari tumbuhan. Uji ini tidak spesifik untuk antitumor ataupun untuk aksi fisiologis tertentu, meskipun demikian metode ini layak untuk digunakan sebagai pemandu proses fraksinasi dan isolasi senyawa bioaktif yang bersifat sitotoksik

Senyawa aktif akan menghasilkan tingkat mortalitas yang tinggi terhadap udang. Uji dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach, memiliki spectrum farmakologis yang luas dengan tingkat kepercayaan 95 %. Sehingga dapat digunakan secara luas untuk penapisan senyawa bioaktif. Tingkat mortalitas dihitung dengan menggunakan analisis probit yang dirumuskan oleh Finney (10)

III.6 Larva Udang *Artemia salina* Leach.

III.6.1 Klasifikasi (25)

Filum	: Arthropoda
Kelas	: Crustaceae
Subkelas	: Branchiopoda
Bangsa	: Anostraca
Suku	: Artemiidae
Marga	: Artemia
Jenis	: <i>Artemia salina</i> Leach.

III.6.2 Morfologi

Udang *Artemia salina* Leach. adalah sejenis plankton yang mempunyai kulit keras, menghuni perairan-perairan yang berkadar garam tinggi. Baik keadaan tubuh maupun tingkah lakunya menunjukkan bahwa *Artemia* tidak mempunyai alat atau cara untuk mempertahankan diri terhadap serangan musuh-musuhnya.

Tingkat hidup *Artemia salina* Leach mengalami beberapa tingkatan, tetapi secara jelas dapat dilihat dalam 3 bentuk yang sangat berlainan yaitu bentuk telur, nauplius (larva) dan artemia dewasa.

Secara berkala, pada saat air laut atau danau menguap, partikel-partikel yang berwarna coklat, berdiameter sekitar 0,2-0,3 mm akan naik ke permukaan, oleh angin akan dibawa hanyut ke darat. Partikel tersebut merupakan telur-telur yang inaktif atau tidur dari *Artemia salina*. Sepanjang telur-telur tersebut terdehidrasi dan dalam keadaan diapauze, akan memiliki ketahanan dan kestabilan dalam penyimpanan yang lama.

Jika telur-telur tersebut (yang embrionya dalam keadaan diapauze) direndam ke dalam larutan bergaram (air laut), telur akan menyerap air laut hingga menggelembung. Proses penyerapan ini berlangsung secara hiperosmotik yaitu adanya tekanan osmose di dalam telur yang lebih tinggi daripada diluarnya. Setelah telur menggelembung dan metabolisme berlangsung terus, maka mulailah cangkang telur pecah. Untuk mencapai tingkatan ini dibutuhkan waktu sekitar 15 jam. Terjadinya pemecahan cangkang telur yang keras itu dibantu oleh kegiatan enzim yaitu enzim penetasan pada pH lebih dari 8. Sekitar 17 jam perendaman, embrio yang keluar dari cangkang yang masih dibungkus oleh selaput penetasan tumbuh terus hingga akhirnya keluar dari selaputnya menjadi makhluk hidup baru, yaitu sebagai burayak, tingkatan nauplius (larva). Sampai disini kira-kira telah memakan waktu

19 jam, hingga rata-rata berkisar antara 24-36 jam. Dalam perkembangan selanjutnya, burayak mengalami metamorfosis. Pada tingkatan Instar I, kandungan energi masih cukup tinggi. Sekitar 24 jam kemudian, mereka sudah berubah menjadi instar II mulai mempunyai mulut, saluran pencernaan dan dubur. Oleh karenanya mereka mulai mencari makanan. Demikian seterusnya sampai instar XV. Setelah itu berubah menjadi artemia dewasa. Proses ini biasanya berlangsung 1-3 minggu.

Tubuh terbagi atas bagian kepala, dada, dan perut. Pada bagian kepala terdapat 2 tangkai mata, 2 antena dan 2 antenula. Dada terbagi atas 11 segmen yang masing-masing mempunyai sepasang kaki renang, sedangkan perut terbagi atas 8 segmen. *Artemia salina* dewasa bentuknya telah sempurna.

Reproduksi *Artemia salina* dapat dengan bertelur atau dengan melahirkan anak. Pergantian reproduksi ini dimungkinkan oleh jumlah klorofil dalam makanannya dan faktor oksigen dalam lingkungan. Konsentrasi oksigen yang rendah dan klorofil yang tinggi dalam makanannya menyebabkan reproduksi dengan telur, dan sebaliknya akan menyebabkan reproduksi dengan melahirkan anak.

Kandungan kimia yang terdapat dalam tubuh *Artemia salina* adalah protein dan asam lemak yang tinggi (25).

BAB IV

PELAKSANAAN PENELITIAN

IV.1 Penyiapan Alat dan Bahan

IV.1.1 Alat-alat yang digunakan

1. Aerator
2. Batang Pengaduk
3. Botol coklat
4. Chamber
5. Corong
6. Corong pisah
7. Erlenmeyer
8. Gelas ukur 10, 50 ml
9. Kompor listrik
10. Labu takar 50 ml
11. Mikropipet 10, 50, 500 μ l (Socorex)
12. Oven listrik (Memmert)
13. Penyemprot pereaksi
14. Pipet tetes
15. Pipet volume 2, 5, 10 ml
16. Rotavapor (Buchi)
17. Seperangkat alat kromatografi cair vakum

18. Seperangkat alat maserasi
19. Seperangkat alat uji BST
20. Sentrifus
21. Spatel besi
22. Timbangan kasar
23. Timbangan analitik (Sartorius)
24. Vial

IV.1.2 Bahan-bahan yang digunakan

1. Air laut
2. Air suling
3. Amonia
4. Etil asetat
5. Heksan
6. Kloroform
7. Larva udang *Artemia salina* Leach.
8. Lempeng KLT G-60 PF₂₅₄ (E.Merck)
9. Metanol
10. Pereaksi Lieberman-Bouchard
11. Pereaksi Dragendorf
12. Ragi
13. Sampel Spons

14. Silika gel 60 PF₂₅₄ (E.Merck)
15. Uap ammonia

IV.2 Penyiapan Bahan Penelitian

IV.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah spons A, B, C, D dan E yang merupakan koleksi Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia jurusan Farmasi FMIPA UNHAS. Kelima spons tersebut dikoleksi dari perairan Pulau Kodingareng Keke, Sulawesi Selatan.

IV.2.2 Pengolahan Sampel

Masing-masing sampel spons dibersihkan kemudian dipotong-potong kecil dan siap diekstraksi.

IV.3 Ekstraksi, Partisi dan Uji Toksisitas Ekstrak

Ditimbang sampel spons A, B, C, D dan E masing-masing berturut-turut 550 g, 900 g, 550 g, 225 g dan 425 g dalam keadaan basah. Sampel spons kemudian dimasukkan kedalam wadah maserasi, ditambahkan metanol hingga terendam seluruhnya, setelah 24 jam cairan penyaringnya diganti dengan metanol yang baru. Pengerjaan ini dilakukan sebanyak 3 kali dengan jumlah penyari yang sama. Ekstrak metanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyaringnya dengan menggunakan rotavapor kemudian dilanjutkan di atas penangas air sampai diperoleh ekstrak metanol kental.

Ekstrak metanol kental selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan kloroform dan air suling dengan perbandingan 1:1, lapisan kloroform-air didiamkan hingga memisah. Lapisan kloroform ditampung, sedangkan lapisan airnya dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan diekstraksi kembali dengan kloroform. Pengerjaan ini dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak kloroform yang diperoleh diuapkan sampai kering dan selanjutnya ditimbang. Lapisan air juga diuapkan sampai kering kemudian ditambahkan dengan metanol dan disentrifus. Supernatannya diambil sedangkan endapannya yang berupa garam dibuang. Pengerjaan ini dilakukan beberapa kali hingga supernatan yang diperoleh sudah jernih. Diuapkan hingga pelarutnya habis dan ditimbang. Ekstrak yang diperoleh dari pengerjaan ini disebut ekstrak metanol-2 untuk membedakan ekstrak metanol pada ekstraksi awal. Ekstrak metanol-2 dan kloroform dari masing-masing Spons diuji toksisitasnya secara Uji Letal Larva Udang dan ekstrak yang paling toksik diisolasi lebih lanjut.

IV.4 Isolasi sampel

Ekstrak yang mempunyai toksisitas paling tinggi kemudian diisolasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom cair vakum.

IV.4.1 Persiapan kolom kromatografi cair vakum

Kolom kromatografi cair vakum dibersihkan kemudian dipasang tegak lurus pada statif. Adsorben (silika gel) dimasukkan

dalam kolom kemudian ditambahkan cairan pengelusi Hexan : EtOAc (15 : 1) dan pompa vakum dijalankan hingga adsorben (silika gel) rapat.

IV.4.2 Pemisahan komponen kimia

Sejumlah ekstrak kloroform spons B (yang mempunyai sifat toksik yang paling tinggi) ditimbang sebanyak 1,95 g. Ditambahkan sedikit adsorben (silika gel) dan eter kemudian diaduk hingga homogen, didiamkan hingga kering. Setelah kering dimasukkan ke dalam kolom dan bagian atasnya ditutup dengan kertas saring. Cairan pengelusi yang kepolarannya paling rendah yaitu hexan ditambahkan melalui dinding kolom dengan menggunakan batang pengaduk dan pompa vakum dijalankan sehingga eluen turun dan mengelusi komponen kimia, kemudian dilanjutkan dengan kepolaran yang lebih tinggi berturut-turut yaitu Hexan : EtOAc (15 :1), Hexan : EtOAc (10:1), Hexan : EtOAc (5:1) yang diulang sebanyak 2 kali, Hexan : EtOAc (1:1) yang diulang sebanyak 2 kali, Hexan : EtOAc (1:5), Kemudian dilanjutkan EtOAc saja, CHCl_3 : Metanol (1:1), dan yang terakhir dengan Metanol saja. Eluen yang keluar ditampung sebagai fraksi dengan volume 50 ml. Fraksi yang memberikan noda dan nilai Rf yang sama pada identifikasi dengan kromatografi lapis tipis disatukan dalam satu fraksi. Dari hasil ini diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi I, II dan III

IV.5 Uji Toksisitas dengan Metode Uji Letal Larva Udang

IV.5.1 Penyiapan Larva Udang

Telur udang *Artemia salina* Leach. sebanyak 10 gram direndam dalam wadah berisi air laut 1 liter pada kondisi pH 7-8 dibawah cahaya lampu pijar 60 watt dan pada suhu kamar 25 °C yang dilengkapi dengan aerator. Telur akan menetas selama 24 jam menjadi larva. Setelah larva berumur 48 jam larva udang siap diujikan.

IV.5.2 Pembuatan Konsentrasi Sampel

Ekstrak kloroform dan ekstrak methanol untuk tiap jenis spons ditimbang sebanyak 30 mg. Ekstrak kloroform dilarutkan dalam kloroform : methanol (1:1) dan ekstrak methanol dilarutkan dalam methanol masing-masing sebanyak 3 ml sehingga diperoleh konsentrasi 10 mg/ml sebagai stok. Dari stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing 10 µl, 100 µl dan 1000 µl menggunakan mikropipet dan pipet volume untuk mendapatkan konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml dan 1000 µg/ml. Untuk fraksi-fraksi hasil isolasi ditimbang sebanyak 3 mg kemudian dilarutkan dengan kloroform : methanol (1:1) sebanyak 3 ml sehingga diperoleh konsentrasi 1 mg/ml sebagai stok. Dari stok tersebut dipipet ke dalam vial masing-masing dengan menggunakan mikropipet untuk mendapatkan konsentrasi 1 µg/ml, 10 µg/ml dan 100 µg/ml. Untuk kontrol negatif dibuat konsentrasi 1000 µg/ml dengan

menggunakan pelarut metanol dan kloroform. Pelarut sampel dan pembanding diuapkan sampai kering lalu ditambahkan air laut masing-masing 2 ml.

IV.5.3 Pelaksanaan Uji

Dimasukkan larva udang *Artemia salina* Leach. yang telah berumur 48 jam sebanyak 10 ekor ke dalam masing-masing vial yang berisi larutan sampel air laut dengan berbagai konsentrasi serta pembanding. Kemudian setiap vial dicukupkan volumenya dengan air laut sampai 5 ml. Masing-masing vial ditambahkan 1 tetes suspensi ragi (3 mg/5 ml) sebagai sumber makanan. Selanjutnya disimpan di tempat yang cukup mendapat sinar lampu. Pengamatan larva yang mati dihitung setelah 24 jam. Dilakukan pengulangan 5 kali untuk tiap sampel uji dan kontrol.

IV.6 Identifikasi Senyawa Aktif

IV.6.1 Pembuatan pereaksi (14)

1. Liebermann-Burchard : Dicampurkan secara hati-hati 1 ml asam sulfat pekat, 20 ml anhidrat asetat dan 50 ml CHCl_3
2. Dragendorf : (i) 0,6 g bismutsubnitrat dalam 2 ml HCl pekat dan 10 ml air.
(ii) 6 g kalium iodida dalam 10 ml air

Larutan persediaan ini dicampur dengan
7 ml HCl pekat dan 15 ml air.

IV.6.2 Identifikasi senyawa aktif

Fraksi dengan LC_{50} paling rendah (Fraksi III) ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan EtOAc : MeOH : NH_3 (3 : 0,5 : 3 tetes), kemudian kromatogramnya disemprot dengan menggunakan pereaksi penampak noda sebagai berikut :

1. Liebermann-Burchard : Dipanaskan kromatogram dan diamati noda yang berflouresensi pada lampu UV, noda yang berflouresensi merah, hijau, dan biru adalah senyawa golongan terpenoid atau steroid
2. Dragendorf : Akan dihasilkan warna coklat jingga berlatar kuning pada senyawa golongan alkaloid.
3. Uap amonia : akan dihasilkan warna kuning pada senyawa golongan flavanoid.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

V.I Hasil Penelitian

Hasil ekstraksi secara maserasi dan pemisahan komponen kimia menggunakan corong pisah 550 g spons A, 900 g spons B, 550 g spons C, 225 g spons D dan 425 g spons E, diperoleh ekstrak kloroform masing-masing berturut-turut 2,3 g; 2,28 g; 1,11 g; 0,5 g; dan 2,5 g serta ekstrak metanol masing-masing berturut-turut 8,7 g; 5,9 g; 3,24 g; 1,7 g; 5,2 g.

Skrining toksisitas ekstrak spons dilakukan dengan metode Uji Letal Larva Udang menggunakan *Artemia salina* Leach. berumur 48 jam. Konsentrasi yang digunakan 10, 100 dan 1000 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 1 dan 2)

Tabel 1 Hasil Pengamatan kematian larva *Artemia salina* dari ekstrak kloroform beberapa spons koleksi pulau Kodingareng Keke

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kematian Larva (%)				
	Spons A	Spons B	Spons C	Spons D	Spons E
10	30	98	20	32	32
100	50	100	64	48	34
1000	94	100	94	100	38
Blanko	0	0	0	0	0

Tabel 2 Hasil Pengamatan kematian larva *Artemia salina* dari ekstrak metanol beberapa spons koleksi pulau Kodingareng Keke

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kematian Larva (%)				
	Spons A	Spons B	Spons C	Spons D	Spons E
10	34	46	96	22	40
100	46	92	94	28	52
1000	72	98	96	74	76
Blanko	0	0	0	0	0

Jenis spons yang memiliki tingkat ketoksikan paling tinggi adalah ekstrak kloroform spon B yang kemudian diisolasi lebih lanjut dengan metode kromatografi kolom cair vakum. Hasil isolasi diperoleh 3 fraksi dan masing-masing fraksi diuji kembali toksisitasnya dengan metode BST, tapi dengan konsentrasi yang lebih kecil yaitu 1, 10 dan 100 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 3)

Tabel 3 Hasil pengamatan kematian larva udang *Artemia salina* hasil isolasi dari ekstrak kloroform Spons B

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Kematian larva (%)		
	Fraksi I	Fraksi II	Fraksi III
1	34	42	50
10	24	30	56
100	54	74	96
LC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)	977,24	687,40	9,861

Hasil uji toksisitas tiga buah fraksi kloroform spons B menunjukkan bahwa fraksi III memiliki tingkat ketoksikan yang paling tinggi berdasarkan persentase kematian yang paling tinggi dan nilai LC_{50} yang paling rendah (perhitungan selengkapnya pada Lampiran 1-3)

Identifikasi dengan kromatografi lapis tipis terhadap fraksi III menunjukkan ada 2 noda pada sinar UV 254 nm dan 4 noda pada sinar UV 366 (Gambar 7 B-C). Hasil identifikasi lanjut menunjukkan :

1. Dengan Liebermann-Bouchard, nodanya tetap tidak menunjukkan perubahan warna (hasil negative terhadap golongan steroid)
2. Dengan Dragendorf menunjukkan 6 noda berwarna coklat jingga dengan latar kuning(hasil yang positif adanya senyawa nitrogen yang diduga golongan alkaloid).
3. Dengan uap amonia tidak menunjukkan perubahan warna (hasil negatif terhadap golongan flavanoid)

V.2 PEMBAHASAN

Sampel spons A, B, C, D dan E adalah spons yang dikoleksi dari Perairan Pulau Kodingareng Keke Makassar. Sebelum diekstraksi, sampel terlebih dahulu dipotong-potong kecil. Hal ini dimaksudkan untuk memperbesar luas permukaan sehingga kontak antara cairan penyari dan sampel lebih besar. Dengan demikian memudahkan proses penyarian komponen kimia didalam sampel. Selanjutnya sampel diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi

dengan pelarut metanol. Metanol digunakan karena sifatnya yang dapat menyari komponen kimia baik yang polar maupun nonpolar. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan rotavapor hingga diperoleh ekstrak metanol kental. Ekstrak metanol selanjutnya dipartisi dengan kloroform dan air dalam wadah corong pisah dengan perbandingan 1:1.

Partisi bertujuan untuk memisahkan komponen kimia berdasarkan sifat kepolarannya. Dengan adanya pemisahan, akan memudahkan dalam penelusuran senyawa bioaktif tertentu dari spons. Prinsip partisi ini menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur yaitu pelarut kloroform dan air. Komponen kimia yang sifatnya relatif nonpolar akan larut pada kloroform sedangkan yang polar bersama garam akan larut pada air. Pemisahan garam dari komponen polar selanjutnya dilakukan dengan cara mengeringkan lapisan air, setelah kering kemudian ditambahkan metanol dan disentrifus, supernatan dikumpulkan sedangkan endapan garam yang tidak larut dalam metanol dibuang.

Penentuan LC_{50} untuk mengetahui efek toksik ekstrak metanol dan ekstrak kloroform dari spons A, B, C, D dan E dengan kontrol negatif metanol 1000 $\mu\text{g/ml}$ yang dilakukan terhadap larva udang. Pengamatan ini dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang mati. Adapun uji ketoksikan dengan larva udang ini dipilih karena mudah, murah, cepat pelaksanaannya dan mempunyai korelasi positif terhadap efek toksiknya.

Senyawa aktif akan menghasilkan tingkat kematian yang tinggi terhadap larva udang. Menurut Meyer, dkk. (1982), uji dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach memiliki spectrum aktivitas farmakologi yang luas dan dengan tingkat kepercayaan 95 %. Dengan demikian dapat digunakan secara luas untuk skrining senyawa aktif dari bahan alam (10).

Ekstrak metanol dan kloroform spons A, B, C, D dan E dilarutkan dengan pelarutnya masing-masing untuk mempermudah kelarutannya dan dibuat konsentrasi 10 µg/ml, 100 µg/ml dan 1000 µg/ml. Ini dimaksudkan untuk melihat variasi respon yang diberikan dibawah dan pada konsentrasi 1000 µg/ml. Pelarut dalam sampel diuapkan hingga kering kemudian disuspensikan dengan air laut dan diujikan pada larva udang yang telah berumur 48 jam. Sebanyak 10 ekor untuk tiap konsentrasi sampel uji diperlakukan dengan parameter kematian setelah 24 jam dan direplikasi sebanyak 5 kali. Selama pengamatan kondisi ditentukan dengan pH air 7-8, suhu 25 °C dan kedalam vial diberikan makanan 1 tetes suspensi ragi (3 mg/5ml air) untuk mengoptimalkan hasil yang diperoleh. Kondisi tersebut cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan *Artemia salina* Leach. (Mujiman, 1988).

Menurut Meyer dkk. (1982), suatu ekstrak dinyatakan berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan anti kanker apabila ekstrak tersebut mampu menyebabkan kematian 50 % larva udang *Artemia salina* pada kadar lebih kecil atau sama dengan 1000 µg/ml (10).

Dari hasil pengamatan dari kelima sampel spons (Tabel 2 dan 3) tersebut diperoleh bahwa tingkat kematian dari masing-masing ekstrak spons bervariasi. Dan Ekstrak kloroform sampel spons B memberikan tingkat ketoksikan yang paling tinggi.

Ekstrak kloroform spons B selanjutnya diisolasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom cair vakum. Metode ini dipakai karena cepat dan mudah dalam proses pemisahan komponen kimia. Pemisahan dilakukan menggunakan fase diam silika gel dan fase gerak dengan gradient kepolaran yang semakin meningkat. Penggunaan fase gerak (eluen) Hexan : EtOAc dengan berbagai perbandingan diharapkan agar komponen kimia yang terdapat dalam sampel dapat terelusi sedikit demi sedikit sehingga proses pemisahannya lebih baik. Hasil pemisahan dari metode kromatografi kolom cair vakum ini diperoleh 11 fraksi. Masing-masing fraksi dikromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak Hexan : EtOAc (5:1). Fraksi yang memiliki kesamaan nilai Rf pada KLT digabung sehingga diperoleh 3 buah fraksi utama yaitu F I, F II dan F III.

Ketiga fraksi tersebut diuji kembali aktivitasnya dengan metode yang sama seperti ekstrak awal tetapi menggunakan konsentrasi pengujian yang lebih rendah dari ekstrak awal. Penurunan konsentrasi ini dimaksudkan agar diperoleh LC₅₀ dari setiap fraksi. Hasil pengujian diperoleh LC₅₀ dari fraksi I sebesar 977,24 µg/ml, fraksi II sebesar 687,40 µg/ml dan fraksi III 9,861 µg/ml.

Identifikasi dengan KLT terhadap fraksi III menunjukkan adanya 2 noda pada penampak noda sinar lampu UV 254 nm dan 4 noda pada UV 366 nm dan pada uji dengan Dragendorff menunjukkan ada 6 noda yang berwarna coklat jingga dengan latar kuning (hasil yang positif terhadap adanya senyawa nitrogen) yang diduga sebagai alkaloid.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak kloroform spons B fraksi III merupakan ekstrak yang paling toksik terhadap *Artemia salina* dengan nilai LC_{50} sebesar 9,861 $\mu\text{g/ml}$.
2. Senyawa toksik yang terdapat dalam ekstrak kloroform spons B fraksi III yang bertanggung jawab menyebabkan kematian larva *Artemia salina* diduga merupakan senyawa golongan alkaloid.

VI.2 Saran

1. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut senyawa aktif dari ekstrak kloroform spons B terutama fraksi III yang mempunyai tingkat toksisitas paling tinggi
2. Perlu dilakukan penelitian identifikasi jenis spons B dari pulau Kodingareng Keke, Sulawesi Selatan.

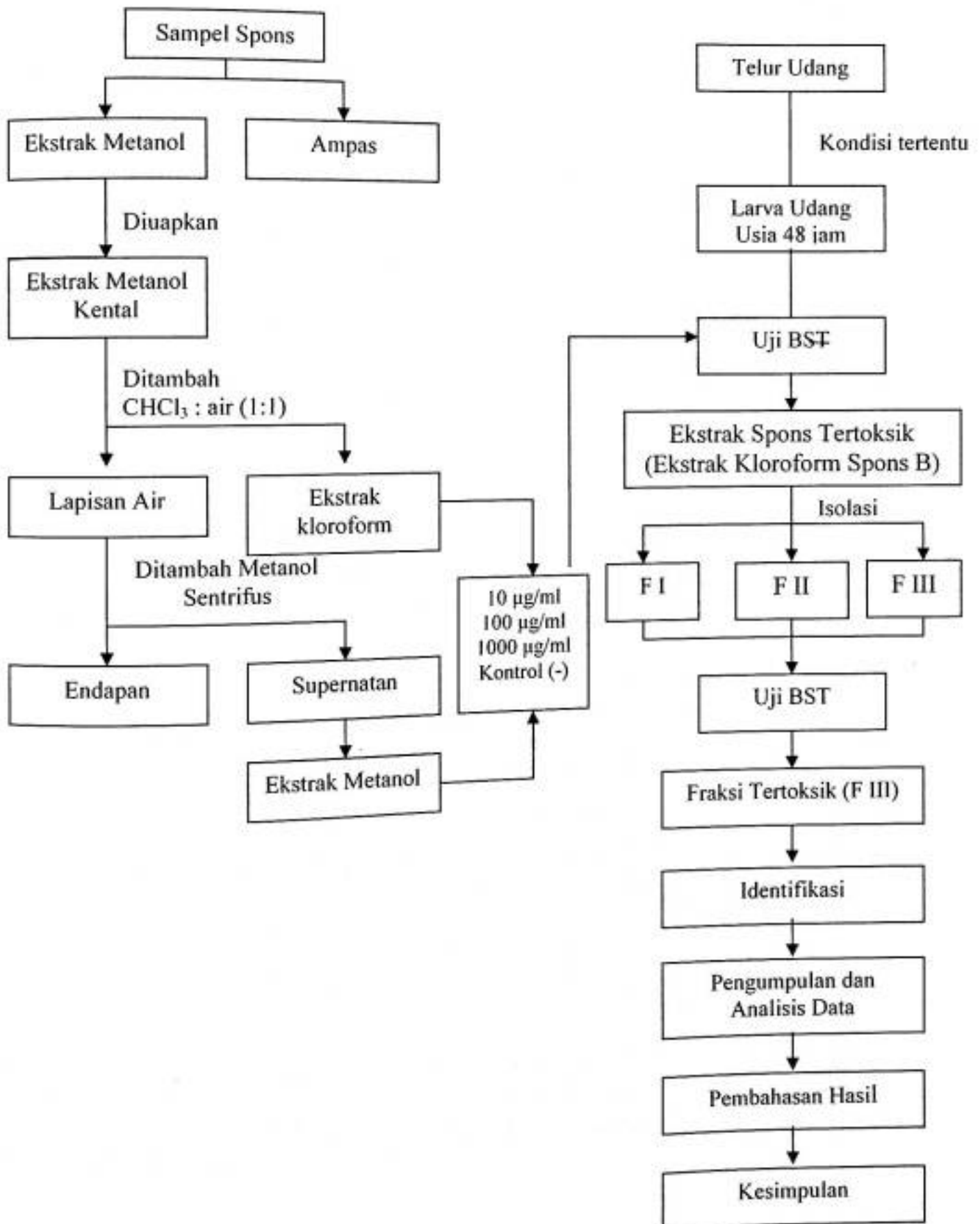
DAFTAR PUSTAKA

1. Eru Wibowo, A., dkk., 11 Februari 2005, "Studi Eksplorasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Biota Laut", Pusat Pengkajian dan Penerapan Teknologi Farmasi dan Medika, www.iptek.com.
2. Romimohtarto, K dan Sri Juwana, (2001), "Biologi Laut Ilmu Pengetahuan Tentang Biota Laut, Penerbit Djambatan, Jakarta, hal 451.
3. Anonim, 28 Desember 2003. Suara Pembaruan, (online), "Mencari Obat Mujarab Dari Laut", www.forek.or.id
4. Wahyuono, S. 23 Februari 2003, "Mencari Obat Antikanker dari Spons Perairan Indonesia". Cakrawala Suplemen Pikiran Rakyat, www.pikiranrakyat.com.
5. Bernes, R.S.K, dkk., (1993), "A New Synthesis", Second Edition, Blackwel Science, UK, 49-52
6. Amir, I dan Agus Budiyanto, (1996), "Mengenal Spons Laut (Demospongiae) Secara Umum", Oseana, Volume XXI, No.2, Penerbit LIPI, Jakarta, 15-31.
7. De Voogd, N.J., (1997), "Cross-shelf Distribution of South West Sulawesi Open Reef Sponges, Institute for Systematics and population Biology", University of Amsterdam, 2.
8. D. Astuti, E., (2004), "Skripsi : Skrining Toksisitas Beberapa Spesies Spons Asal Pulau Barang Lompo dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BST)", Makassar.

9. Anderson, J.E., Goetz, C.M., Mc Laughlin, J.L., (1991), "A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens", *Natural Product Chemistry*, Elsevier, Amsterdam, 1.
10. Meyer, B.N., et al., (1982), "Brine Shrimp : A Comvenient General Bioassay for Active Plant Constituen", *Drug Information Journal*, Vol. 32, 513-524.
11. Hooper, J., (1997), "Guide to Sponge Collection and identification Version March", Queensland, Australia, 37.
12. Cannel, R.J.P., (1998), "Methods in Biotechnology : Natiral Products Isolation, Humana Press, Totowa, New Jersey, 409-423.
13. Wallace, R.L., Taylor, W.K., (1997), "Invertebrate Zoology A Laboratory Manual", edition 5, Prentice-Hall Inc., New Jersey, 38-41.
14. Harborner, J.B., (1987), "Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Mengekstraksi Tumbuhan", Edisi II, Penerbit ITB, Bandung, 4-8,152,240.
15. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, (1986), "Sediaan Galenik", Edisi II, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Bhakti Husada, Jakarta, 4-26.
16. Sudjadi, (1988), "Metode Pemisahan", Edisi I, Kanisus, Yogyakarta, 60.
17. Adnan, M., (1997), "Teknik Kromatografi untuk Analisis Bahan makanan", Edisi Pertama, Cetakan Pertama, Penerbit ANDI, Yogyakarta, 9
18. Gritter, R.J., Bobbits, J.M. Swarting, A.E., (1991). "Pengantar Kromatografi", Penerbit ITB, Bandung, 6.

19. Stahl, Egon, (1985), "Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi", ITB, Bandung, 73.
20. Hostettmann, K., M. Hostettmann dan A. Marston, (1985), "Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam", Penerbit ITB, Bandung, 33-34.
21. Loomis, T.A., (1978), "Toksikologi Dasar", Edisi III, Penerjemah Imono Argo, IKIP Semarang Press, 4, 6-21.
22. Casarret, L.J., Doull, J., (1975), "Toxicology, The Basic Science of Poison", First Edition, Mac Millan Publishing, Co. Inc., New York, 7-21.
23. Hayes, A.W., (1983), "Principles and Method of Toxicology", Raven Press, New York, 4-23.
24. Mc. Laughlin, J.L., Chang, C.J, Smith D.L, (1991), "Bench-top, Bioassays for The Discovery of Bioactive Natural Produk : An Update", School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Departement of Medical Chemistry and Pharmacognocny, Robert Hiene, Pharmacy Building, West Lavayette, Indiana, USA, 1-6, 383-409.
25. Mujiman, A., (1988), "Udang Renik Air Asin", Bharata Karya Aksara, Jakarta, 15-25.

SKEMA KERJA



Tabel 4 DATA HASIL PENGAMATAN JUMLAH LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) YANG MATI SETELAH 24 JAM PERLAKUAN DENGAN EKSTRAK KLOOROFORM SPONS

KONSENTRASI ($\mu\text{g/ml}$)	SPONS				
	A	B	C	D	E
10 $\mu\text{g/ml}$	0	10	3	4	2
	4	10	3	1	4
	6	10	0	2	0
	1	10	3	4	7
	4	9	1	5	3
Jumlah total	15	49	10	16	16
% Kematian	30	98	20	32	32
100 $\mu\text{g/ml}$	3	10	5	4	3
	6	10	7	3	8
	6	10	7	5	10
	5	10	6	6	5
	5	10	7	6	8
Jumlah total	25	50	32	24	34
% Kematian	50	100	64	48	68
1000 $\mu\text{g/ml}$	10	10	10	10	7
	9	10	9	10	9
	10	10	9	10	9
	9	10	9	10	9
	9	10	10	10	10
Jumlah total	47	50	47	50	44
% Kematian	94	100	94	100	88
CHCl ₃ : MeOH(1:1)	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
PEMBANDING(-)	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
Jumlah total	0	0	0	0	0
% Kematian	0	0	0	0	0

Tabel 5 DATA HASIL PENGAMATAN JUMLAH LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) YANG MATI SETELAH 24 JAM PERLAKUAN DENGAN EKSTRAK METANOL SPONS

KONSENTRASI ($\mu\text{g/ml}$)	SPONS				
	A	B	C	D	E
10 $\mu\text{g/ml}$	2	5	10	2	5
	3	5	9	3	2
	6	5	10	1	2
	1	3	9	2	4
	5	5	10	3	7
Jumlah total	17	23	48	11	20
% Kematian	34	46	96	22	40
100 $\mu\text{g/ml}$	4	10	5	4	5
	5	9	7	3	6
	5	8	7	3	7
	5	10	6	2	4
	4	9	7	2	4
Jumlah total	23	46	32	14	26
% Kematian	46	92	64	28	52
1000 $\mu\text{g/ml}$	6	10	10	5	10
	7	10	10	9	7
	8	9	10	8	6
	8	10	9	8	7
	7	10	9	7	8
Jumlah total	36	49	48	37	38
% Kematian	72	98	96	74	76
CHCl ₃ : MeOH(1:1)	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
PEMBANDING(-)	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0
Jumlah total	0	0	0	0	0
% Kematian	0	0	0	0	0

Tabel 6 DATA HASIL PENGAMATAN JUMLAH LARVA UDANG (*Artemia salina* Leach) YANG MATI SETELAH 24 JAM PERLAKUAN DENGAN FRAKSI-FRAKSI HASIL ISOLASI EKSTRAK KLOOROFORM SPON B

KONSENTRASI ($\mu\text{g/ml}$)	Fraksi		
	I	II	III
1 $\mu\text{g/ml}$	4	1	3
	3	2	6
	5	2	7
	1	3	6
	4	4	5
Jumlah total	17	12	27
% Kematian	34	24	54
10 $\mu\text{g/ml}$	3	2	6
	6	3	5
	3	2	9
	5	6	7
	4	2	10
Jumlah total	21	15	37
% Kematian	42	30	74
100 $\mu\text{g/ml}$	3	6	9
	4	5	10
	9	9	10
	5	7	10
	4	10	9
Jumlah total	25	37	48
% Kematian	50	74	96
CHCl ₃ : MeOH(1:1) PEMBANDING(-)	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
	0	0	0
Jumlah total	0	0	0
% Kematian	0	0	0

7 : HARGA PROBIT SESUAI PROSENTASENYA

SENTASE	PROBIT									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	-	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,95	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,17	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,66	7,75	7,88	8,09

ꦩꦸꦫꦸꦱꦶꦢꦶ, A., (1984), " Statistik Farmasi Dan Biologi " Ghalia Indonesia, an I, Jakarta, 157

Lampiran 1. Perhitungan LC_{50} Fraksi 1 (Ekstrak Kloroform Spons B) Menurut Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0	4,59
1	4,8
2	5

Persamaan garis linier :

$$y = a + bx$$

y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

x = Log-konsentrasi ekstrak kloroform spons B

a = Intersep

b = Slop

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$a = 4,387$$

$$b = 0,205$$

$$r = 0,999$$

Sehingga diperoleh persamaan Regresi :

$$y = 4,387 + 0,205x$$

Untuk Log LC_{50} y = 5,, maka

$$x = \frac{5 - 4,387}{0,205} = 2,990$$

Sehingga $LC_{50} = 977,24 \mu\text{g/ml}$

Lampiran 2. Perhitungan LC_{50} Fraksi II (Ekstrak Kloroform spons B) Menurut

Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0	4.29
1	4.48
2	5.15

Persamaan garis linier :

$$y = a + bx$$

y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

x = Log-konsentrasi ekstrak kloroform spons B

a = Intersep

b = Slop

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$a = 3,780$$

$$b = 0,430$$

$$r = 0,952$$

Sehingga diperoleh persamaan Regresi :

$$y = 3,780 + 0,430x$$

Untuk $\text{Log } LC_{50} y = 5$, maka

$$x = \frac{5 - 3,780}{0,430} = 2,837$$

Sehingga $LC_{50} = 687,40 \mu\text{g/ml}$

Lampiran 3. Perhitungan LC₅₀ Fraksi III (Ekstrak Kloroform spons B) Menurut

Metode Grafik Probit Log-Konsentrasi

Log Konsentrasi (x)	Probit (y)
0	5.1
1	5.64
2	6.75

Persamaan garis linier :

$$y = a + bx$$

y = Persentase respon kematian dalam satuan probit

x = Log-konsentrasi ekstrak kloroform spons B

a = Intersep

b = Slop

Berdasarkan hasil perhitungan regresi diperoleh :

$$a = 4,180$$

$$b = 0,825$$

$$r = 0,981$$

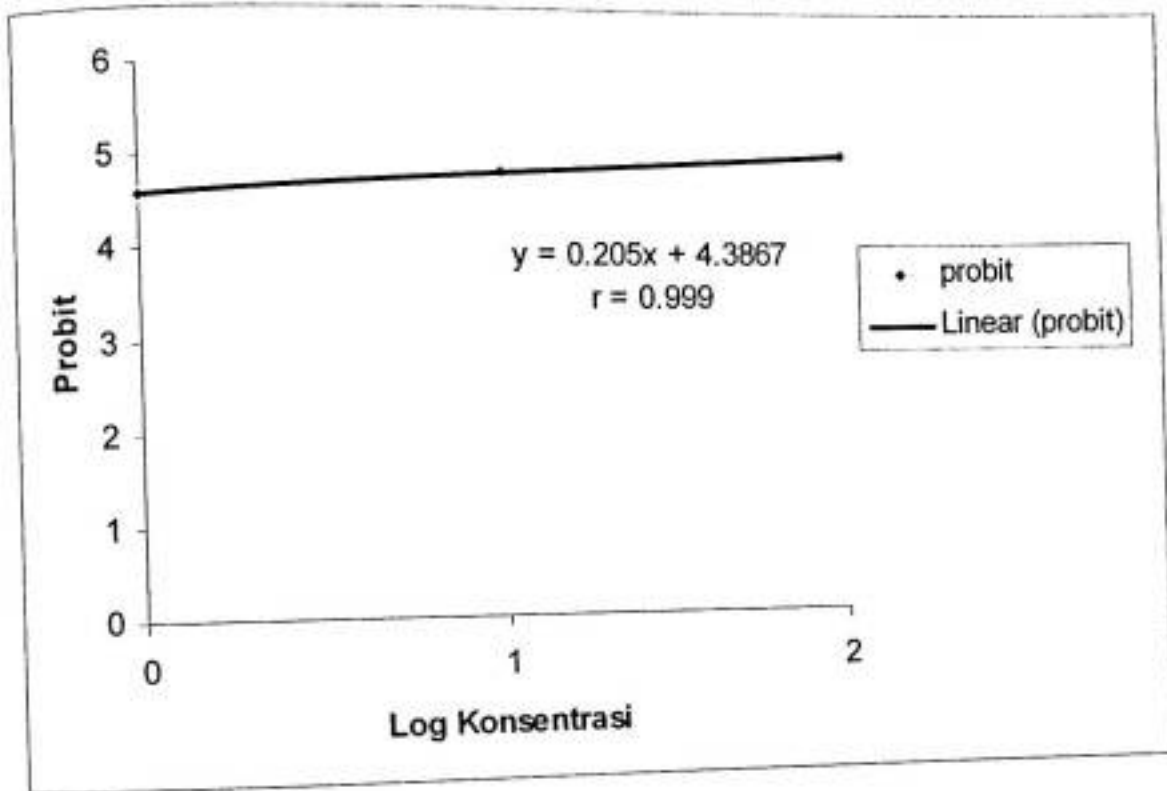
Sehingga diperoleh persamaan Regresi :

$$y = 4,180 + 0,825x$$

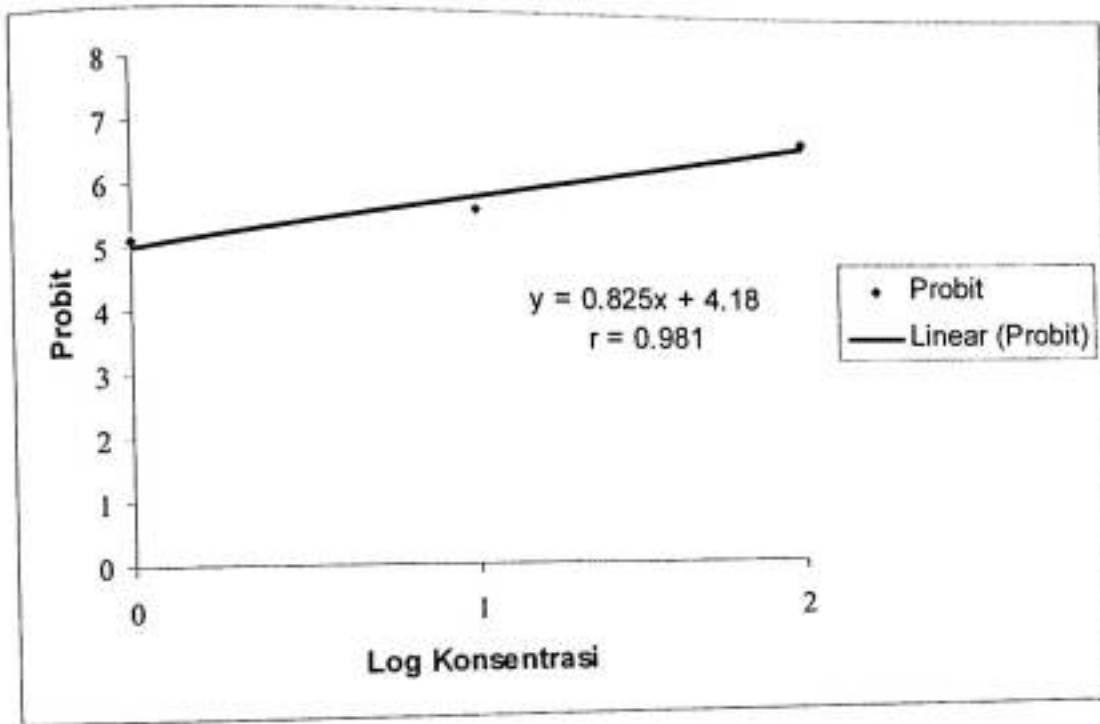
Untuk Log LC₅₀ y = 5, maka

$$x = \frac{5 - 4,180}{0,825} = 0,994$$

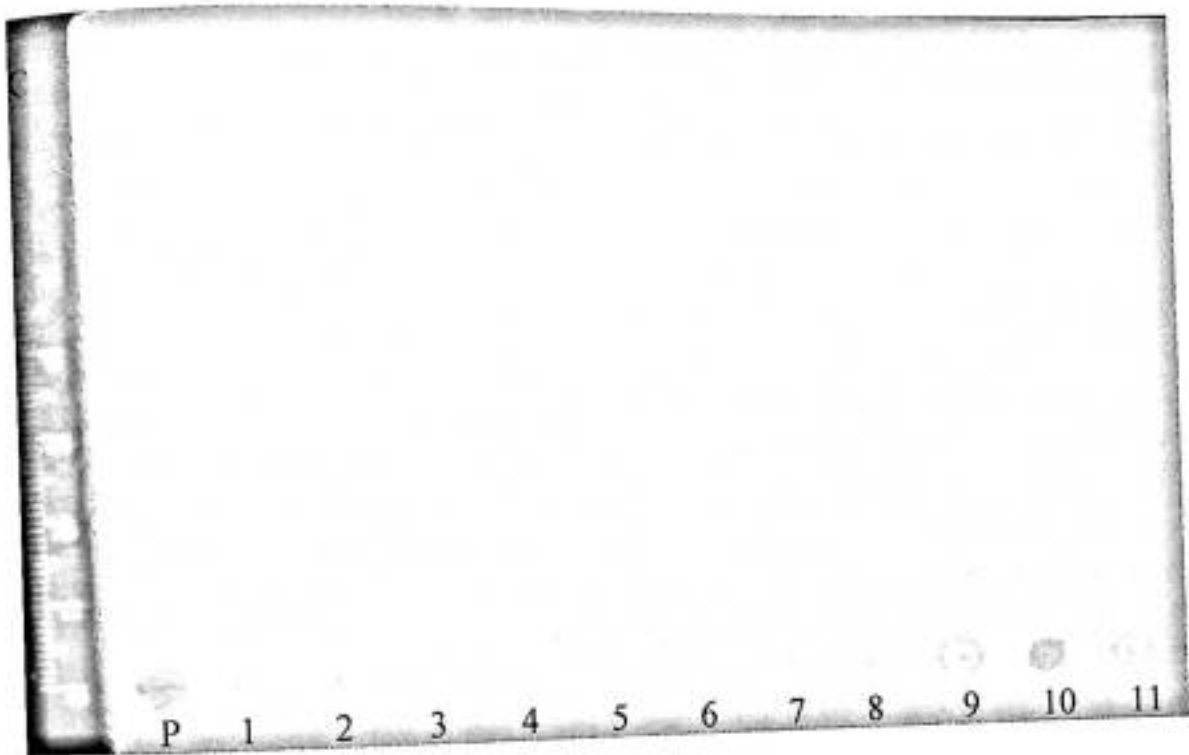
Sehingga LC₅₀ = 9,861 µg/ml



Gambar 1. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan prosentase kematian (probit) fraksi I (ekstrak kloroform spons B)



Gambar 3. Kurva hubungan antara log konsentrasi dan prosentase kematian (probit) fraksi III (ekstrak kloroform spons B)



Gambar 4 Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B

Keterangan :

P = Ekstrak kloroform spon B (Pembanding)

F I = Fraksi 1-4

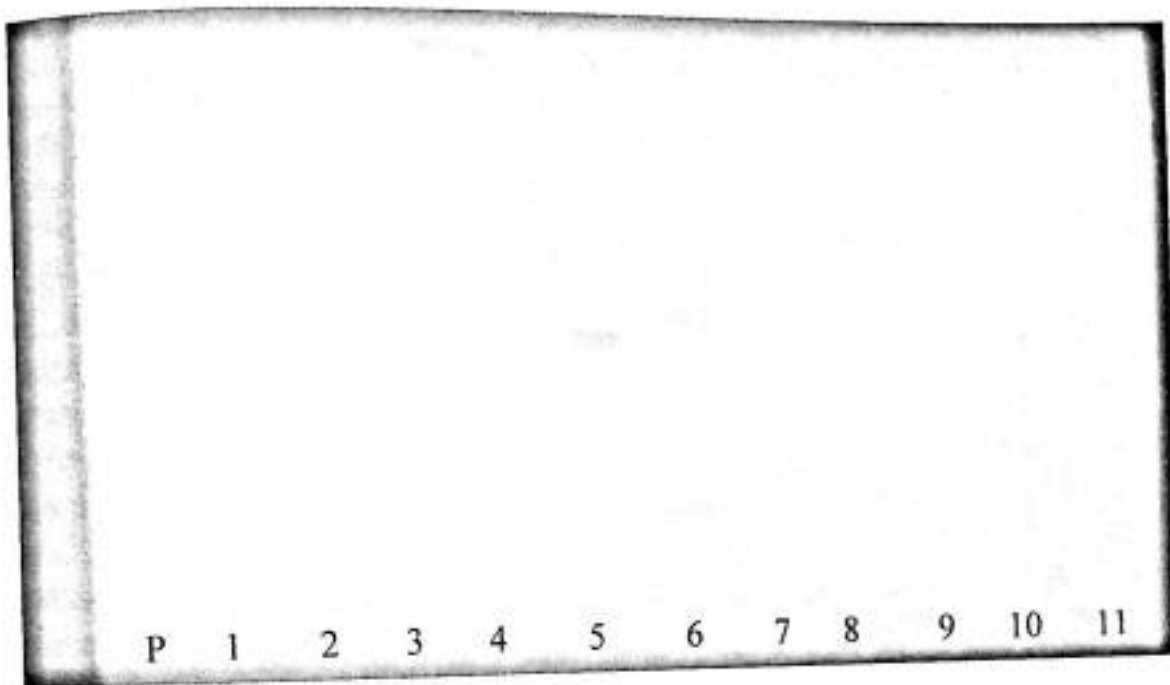
F II = Fraksi 5-6

F III = Fraksi 7-11

Cairan Pengembang : Hexan : Etil Asetat (5:1)

Adsorben : Lempeng KLT 60 PF₂₅₄

Penampakan noda : Lampu UV 254 nm



Gambar 5 Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B

Keterangan :

P = Ekstrak kloroform spon B (Pembanding)

F I = Fraksi 1-4

F II = Fraksi 5-6

F III = Fraksi 7-11

Cairan Pengembang : Hexan : Etil Asetat (5:1)

Adsorben : Lempeng KLT 60 PF₂₅₄

Penampakan noda : Lampu UV 366 nm



Gambar 6 Foto hasil kromatografi kolom cair vakum ekstrak kloroform Spon B

Keterangan :

P = Ekstrak kloroform spon B (Pembanding)

F I = Fraksi 1-4

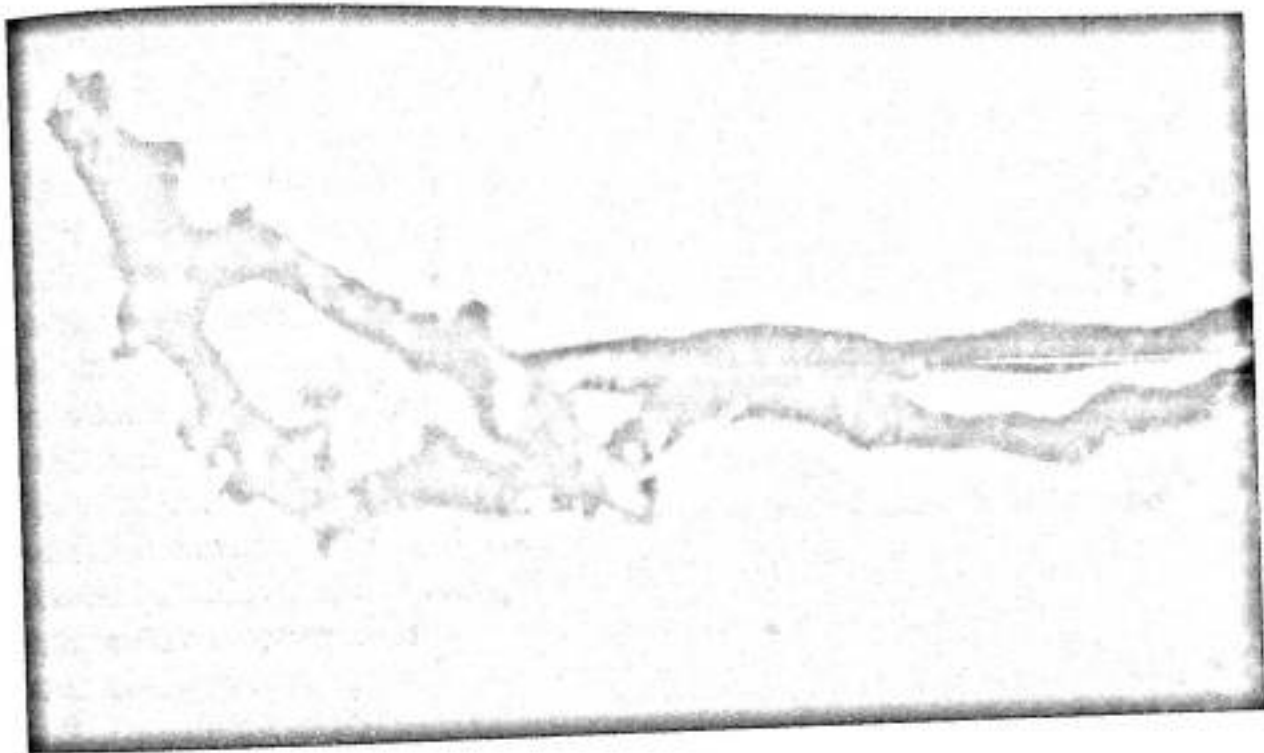
F II = Fraksi 5-6

F III = Fraksi 7-11

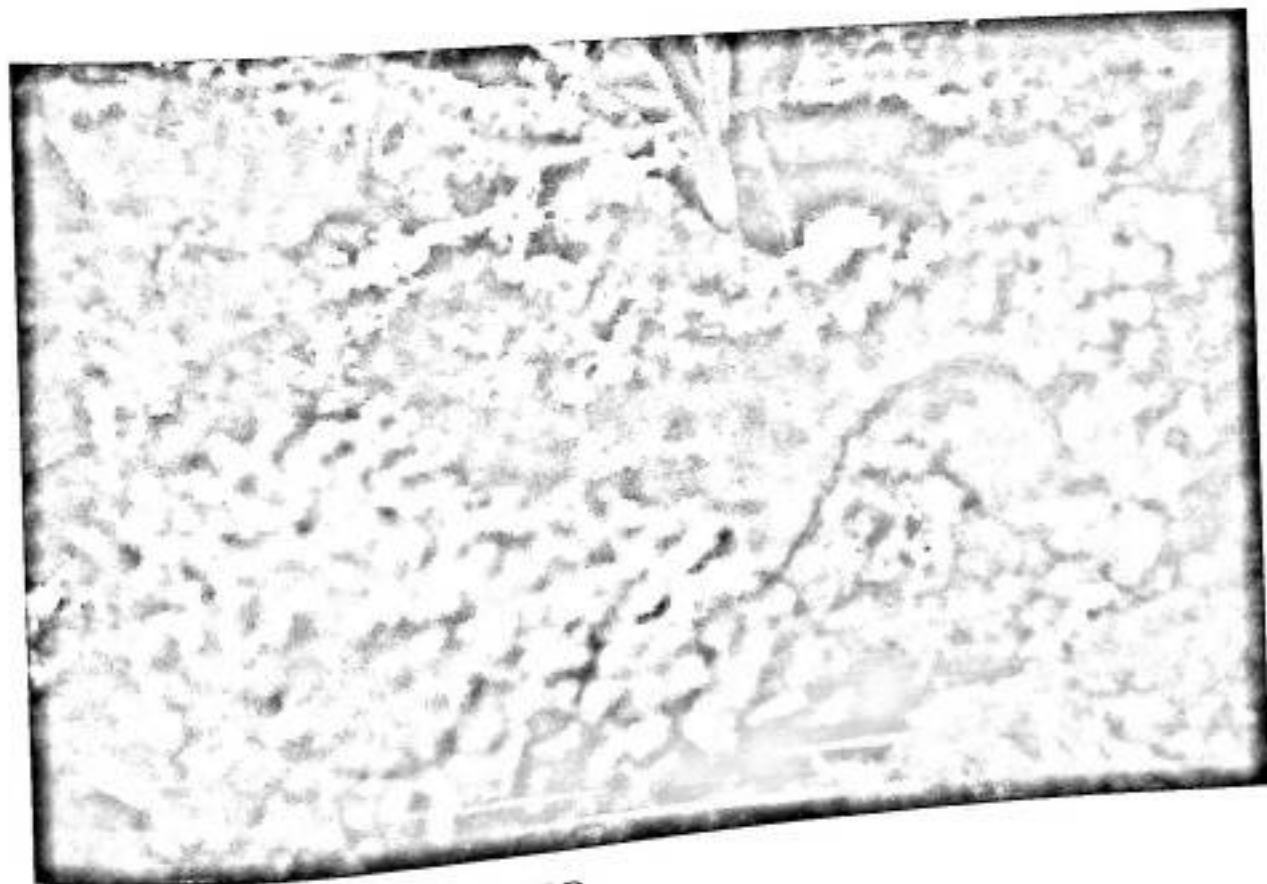
Cairan Pengembang : Hexan : Etil Asetat (5:1)

Adsorben : Lempeng KLT 60 PF₂₅₄

Penampakan noda : H₂SO₄ 10 %



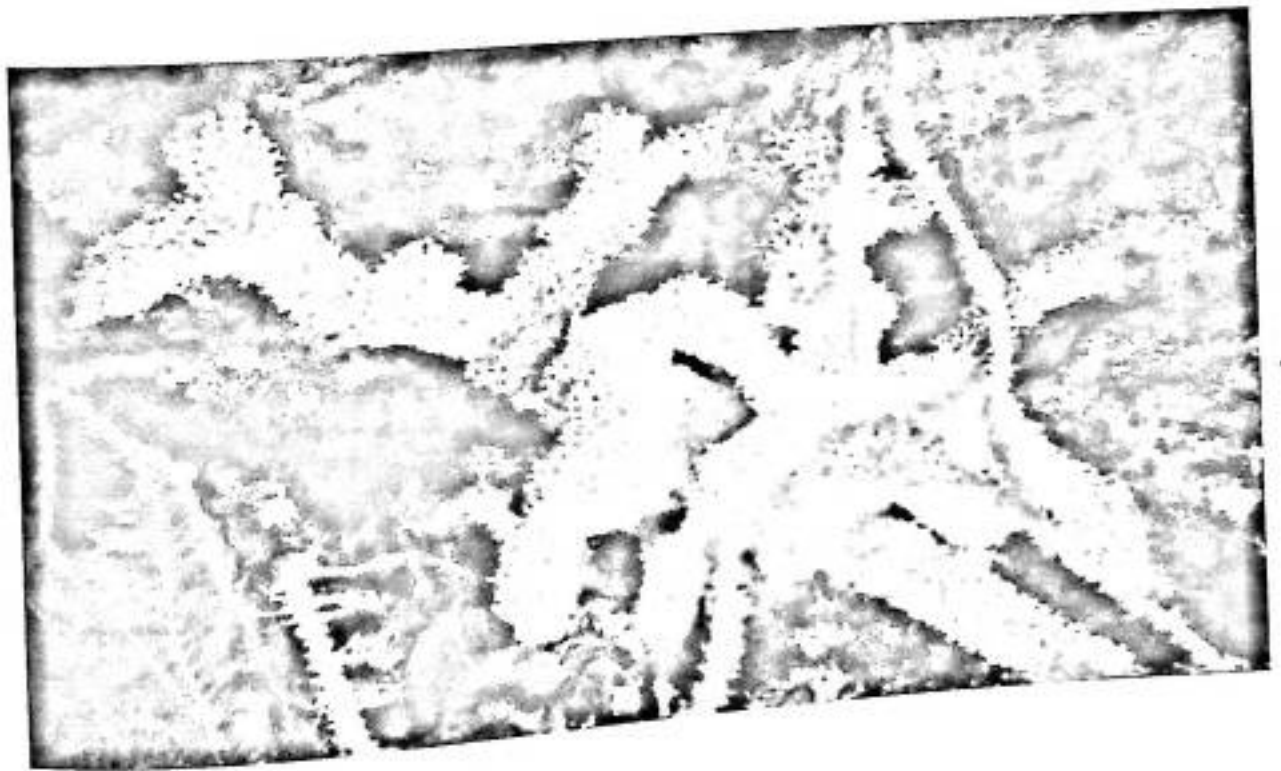
GAMBAR 8 FOTO SPON LAUT A



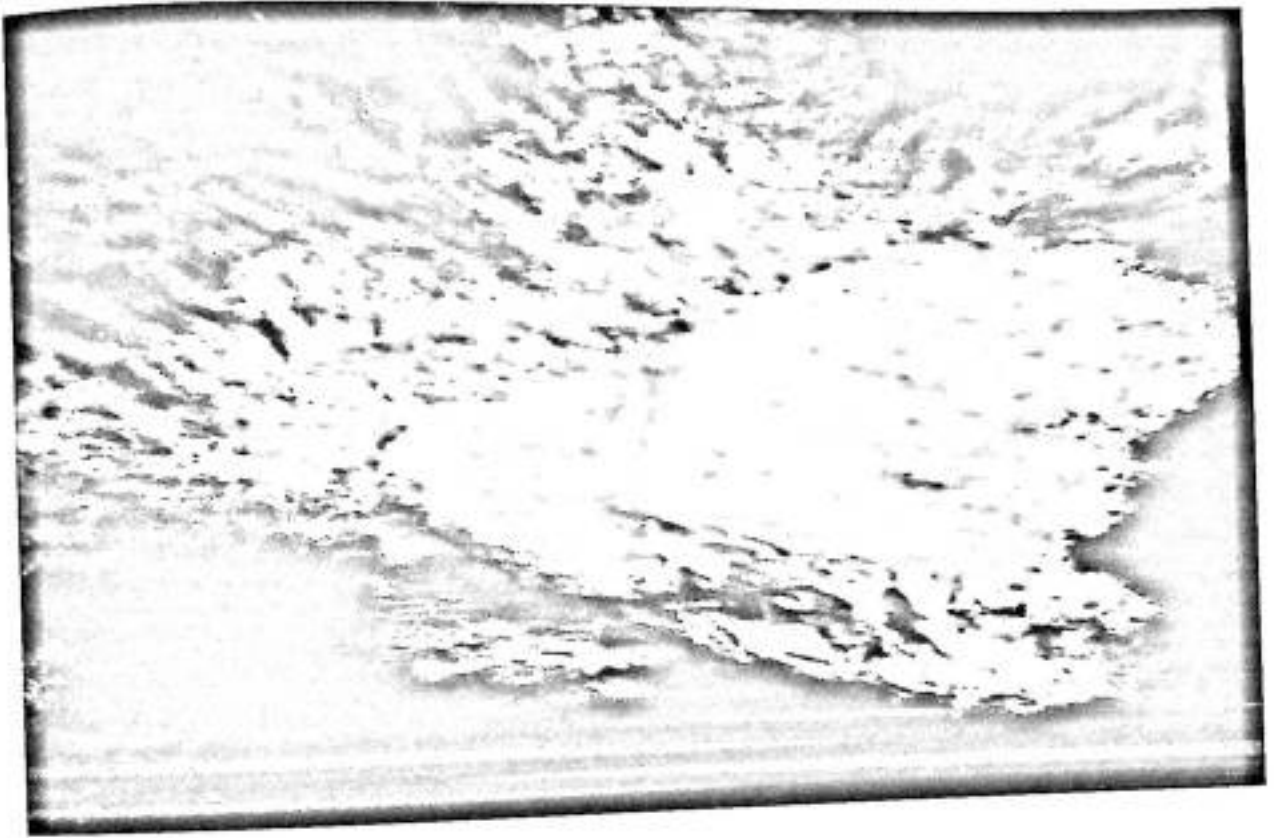
GAMBAR 9 FOTO SPON LAUT B



GAMBAR 10 FOTO SPON LAUT C



GAMBAR 11 FOTO SPON LAUT D



GAMBAR 12 FOTO SPON LAUTE