

**IDENTIFIKASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER PADA
FRAKSI NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* LEACH
DARI SPONS *Clathria reinwardtii***

*STRUCTURAL IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE
OF NON ACTIVE FRACTION ON *Artemia salina* Leach
FROM *Clathria reinwardtii* SPONGE*

ROSMAWATY



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2008

**IDENTIFIKASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER PADA
FRAKSI NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* LEACH
DARI SPONS *Clathria reinwardtii***

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Kimia

Disusun dan diajukan oleh

ROSMAWATY

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2008

TESIS**IDENTIFIKASI STRUKTUR METABOLIT SEKUNDER PADA
FRAKSI NON AKTIF TERHADAP *Artemia salina* LEACH
DARI SPONS *Clathria reinwardtii***

Disusun dan diajukan oleh

ROSMAWATY

Nomor Pokok P1100205002

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

pada tanggal 29 Agustus 2008

dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS

Ketua

Ketua Program Studi
Ilmu Kimia,

Dr. Paulina Taba, M.Phil

Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc

Anggota

Direktur Program Pascasarjana
Universitas Hasanuddin.

Prof. Dr. dr. Razak Thaha, M.Sc

Niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat

Q.S. Al-Mujaadilah/58:11

Karya kecil ini ku persembahkan kepada:

Ayahanda Tercinta (H. Djuhandi)

Ibunda Tersayang (Hi. Hindun
Tuasamu)

Kakek Tercinta (Alm. H. Ilyas
Tuasamu)

Nenek Tersayang (Aisyah Marasabessy)

Seluruh Keluarga dan Sahabah-sahabat Terbaikku

PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat **Allah SWT** atas pertolongan dan izin-Nya, penelitian dan penulisan tesis ini dapat selesai. Shalawat dan salam semoga dilimpahkan kepada **Nabi Muhammad SAW**, keluarga, sahabat dan orang-orang yang senantiasa berada di Sunnahnya.

Sembah sujud dan terima kasih yang tiada batas kepada kedua orang tua **Ayahanda tercinta H. Djuhandi** dan **Ibunda tersayang Hj. Hindun Tuasamu** atas kasih sayang, bimbingan, pengertian, dan setiap untaian doa tulus yang dipanjatkan serta tetesan keringat yang dikururkan dengan ikhlas buat penulis. Hanya **Allah SWT** yang dapat membalas keduanya. Semoga limpahan rahmat dan kemuliaan dari **Allah SWT** senantiasa tercurah serta kebahagiaan di dunia dan akhirat diperoleh keduanya. Terima kasih dan doa yang sama penulis ucapkan kepada **Nenek Aisyah Marasabessy, Kakek Alm. H. Ilyas Tuasamu**, dan **seluruh keluargaku tercinta**.

Penulis menyadari bahwa tesis ini dapat terwujud karena adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS** dan Bapak

Prof. Dr. Afian Noor, M.Sc sebagai ketua dan anggota komisi penasihat atas waktu yang telah diluangkan, curahan pikiran, doa yang tulus, dan tenaga dalam membimbing penulis sejak awal persiapan penelitian hingga selesainya penulisan tesis ini. Rasa terima kasih yang setinggi-tingginya pula penulis sampaikan kepada **Prof. Dr. Rauf Patong, Prof. Dr. M. Sjahrul, M.Agr.**, dan **Dr. Ir. Prastawa Budi**, atas kesediaannya sebagai penguji serta saran perbaikan terhadap tesisi ini.

Ucapan terima kasih tidak lupa penulis haturkan kepada :

1. Direktur dan Asisten Direktur PPS-Unhas beserta seluruh staf.
2. Ketua Program Studi Kimia PPS-Unhas Dr. Paulina Taba, M.Phil dan seluruh staf dosen pengajar.
3. Ketua dan staf Laboratorium Kimia Organik dan Kimia Radiasi FMIPA-Unhas.
4. Ketua dan staf Pusat Penelitian Kimia LIPI-Serpong atas bantuannya untuk pengukuran data UV, IR, dan NMR.
5. Rekan-rekan kuliah angkatan 2005/2006 Program Studi Kimia (Bu Ani, Bu Eva, Bu Suryani, Kak Difa, Nini dan Pak Dissing) yang telah sama-sama berjuang dan membantu penulis selama proses perkuliahan dan penelitian.
6. Para peneliti Kimia Bahan Alam *Altilis Group* (S1), *Spons Group* (S2, S3), *Sterculiaceae Group* (S2, S3), dan *Gedi* di Laboratorium Kimia Organik atas kerjasama dan bantuan yang diberikan.

7. Adik-adik tersayang di Pondok Ikhlas (Irma, Bia, Aziza, Eno, Erni, Lina, Ami, Ririn, dan Arie) atas bantuan dan keceriaan yang menghiasi hari-hari penulis. Dan spesial *thank's* buat Hindra, Fithy, Ommie, dan K' Waya atas pengertian, doa, waktu, dan tenaga yang kalian berikan.
8. Seluruh pihak yang telah membantu namun tak sempat penulis sebut satu persatu. Hanya Allah SWT yang dapat membalas segalanya.

Harapan penulis semoga tesis ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu pengetahuan Khususnya Kimia Bahan Alam.

Makassar, Agustus 2008

ROSMAWATY

ABSTRAK

ROSMAWATY. *Identifikasi Struktur Metabolit Sekunder pada Fraksi Non Aktif terhadap Artemia salina Leach dari Spons Clathria reinwardtii (dibimbing oleh Nunuk Hariani S. dan Alfian Noor).*

Identifikasi struktur metabolit sekunder pada fraksi non aktif dari spons *Clathria reinwardtii* telah dilakukan. Uji bioaktivitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) menggunakan *Artemia salina* Leach. Teknik pemisahan yang digunakan terdiri atas ekstraksi, fraksinasi, dan pemurnian. Senyawa yang diperoleh diuji golongan senyawa dan dielusidasi strukturnya berdasarkan data fisik, spektrum UV, IR dan NMR. Dua senyawa yang diperoleh diduga sebagai senyawa : (1) golongan fenolik, (2) ?-sitosterol.

Kata kunci; ?-sitosterol, *Artemia salina* Leach, *Clathria reinwardtii*, fenolik.

ABSTRACT

ROSMAWATY. *Structural Identification of Secondary Metabolites of Non Active Fraction against Artemia salina Leach from Sponge Clathria reinwardtii* (supervised by Nunuk Hariani S. and Alfian Noor).

Structural Identification of secondary metabolites of non active fraction from sponge *Clathria reinwardtii* have been carried out. Bioactivity assay was conducted by *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) method using *Artemia salina* Leach. Separation techniques used consisted of extraction, fractionation, and purification. The classes of compounds obtained were tested and their structures were elucidated based on physical data as well as UV, IR, and NMR spectra. Two compounds that obtained were predicted as (1). fenolic, (2) β -sitosterol.

Key words; β -sitosterol, *Clathria reinwardtii*, *Artemia salina* Leach, fenolic.

DAFTAR ISI

	halaman
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xvi
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Uraian Spons	
1. Morfologi spons	6
2. Klasifikasi spons	8
3. <i>Clathria reinwardtii</i>	9
B. Sifat Biologis Metabolit Sekunder dari Spons	11

C. Isolasi Bahan Alam	
1. Pemilihan sumber organisme	17
2. Ekstraksi bahan alam	18
3. Fraksinasi bahan alam	19
4. Uji bioaktivitas	19
III. METODE PENELITIAN	
A. Alat dan Bahan	
1. Alat	21
2. Bahan	22
B. Obyek Penelitian	22
C. Tempat dan Waktu Penelitian	22
D. Prosedur Kerja	
1. Pengumpulan dan persiapan sampel	23
2. Ekstraksi	23
3. Isolasi	24
4. Uji bioaktivitas	24
5. Penentuan Struktur	25
IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	
1. Ekstraksi	26
2. Isolasi dan uji bioaktivitas	26
3. Pengukuran spektroskopi	33
B. Pembahasan	34

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan	41
B. Saran	41

DAFTAR PUSTAKA**LAMPIRAN**

DAFTAR TABEL

nomor	halaman
1. Penyebaran spons di perairan Kepulauan Spermode	10
2. Berat dan nilai aktivitas (LC_{50}) ekstrak n-heksan, kloroform, dan etil a setat	27
3. Berat dan nilai aktivitas (LC_{50}) fraksi utama hasil fraksinasi ekstrak n-heksan	28
4. Berat dan nilai aktivitas (LC_{50}) fraksi utama hasil fraksinasi ekstrak $CHCl_3$	33
5. Perbandingan data spektrum IR senyawa (2) dan ?-sitosterol	39

DAFTAR GAMBAR

nomor	halaman
1. Spons <i>Clathria reinwardtii</i>	9
2. Senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas anti-kanker	14
3. Senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas anti-HIV	15
4. Senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas anti-fungi	16
5. Kromatogram 9 fraksi utama n-heksan (A-I)	27
6. Kromatogram 9 fraksi gabungan hasil fraksinasi fraksi D	29
7. Kromatogram 17 fraksi hasil fraksinasi fraksi D ₁	30
8. Kromatogram fraksi D _{1,2} dengan tiga macam sistem eluen	30
9. Kromatogram fraksi D ₅ dan fraksi F _{10,6} dengan tiga macam sistem eluen	31
10. Kromatogram 14 fraksi utama kloroform	32
11. Spektrum UV senyawa (1)	35
12. Spektrum IR senyawa (1)	35
13. Spektrum ¹ H-NMR senyawa (1)	37
14. (a) Spektrum IR senyawa (2)	38
(b) Spektrum IR pembanding β -sitosterol	38
15. Struktur molekul β -sitosterol	39

DAFTAR LAMPIRAN

nomor	halaman
1. Bagan ekstraksi	47
2. Bagan fraksinasi ekstrak n-heksan	48
3. Bagan isolasi fraksi D	49
4. Bagan fraksinasi ekstrak kloroform	50
5. Kromatogram hasil maserasi	51
6. Kromatogram eluen yang sesuai untuk ekstrak n-heksan	52
7. (a) Kromatogram eluen yang sesuai untuk fraksi D	53
(b) Kromatogram eluen yang sesuai untuk fraksi D ₁	53
8. Kromatogram senyawa (2) dan standar β -sitosterol dengan tiga macam sistem eluen	54
9. Kromatogram eluen yang sesuai untuk ekstrak CHCl ₃	55
10. (a). Spektrum ¹ H-NMR senyawa (1)	56
(b). Spektrum ¹ H-NMR senyawa (1)	57
11. Prosedur uji BST	58
12. Bagan kerja uji senyawa terpenoid, steroid, dan fenolik	60

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
ABS	absorban
BST	brine shrimp lethality test
IC ₅₀	median inhibition concentrate
IR	infra red
KKG	kromatografi kolom gravitasi
KKT	kromatografi kolom tekan
KKV	kromatografi kolom vakum
KLT	kromatografi lapis tipis
LC ₅₀	median lethal concentrate
MIC	minimum inhibition concentrate
NMR	nucleus magnetic resonance
ppm	part per million (bagian per juta)
R _f	ratio force
v/v	volume per volume
UV	ultra violet
μg/mL	mikrogram per milliliter
μL	mikro liter
μM	mikro molar
λ _{max}	panjang gelombang maksimum
ν _{max}	bilangan gelombang
δ _H	pergeseran kimia atom hidrogen

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Terumbu karang di daerah tropis merupakan suatu ekosistem yang khas, mempunyai produktivitas senyawa organik yang sangat tinggi termasuk keanekaragaman biota laut yang hidup di dalamnya. Jenis biota laut yang terdapat di terumbu karang tersebut bisa dibandingkan dengan keanekaragaman hayati yang tumbuh di hutan tropis (Supriyono, 2000). Beberapa jenis organisme tersebut merupakan sumber vitamin, protein, dan mineral. Selain itu, ada juga beberapa jenis organisme yang mensintesis dan menyimpan senyawa toksin (*marine toxin*) pada bagian tubuhnya atau dikeluarkan ke lingkungan hidupnya (Satari, 2003). 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 farmakologiknya maka senyawa tersebut memiliki prospek untuk diisolasi dan dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Sardjoko, 1996).

Berbagai jenis penyakit akhir-akhir ini muncul dengan tingkat keganasan yang berbeda dan cenderung meningkat. Saat ini upaya kebutuhan obat baru dipenuhi melalui kerja eksploratif yaitu pencarian

dengan memodifikasi struktur senyawa obat yang secara klinis masih digunakan dan memanfaatkan sumber daya alam. Salah satu sumber daya alam yang belum dikembangkan secara maksimal adalah sumber alam kelautan (Wahyuono, 2003).

Salah satu jenis organisme yang berpotensi cukup besar dan berpeluang mengandung senyawa aktif adalah spons. Spons merupakan hewan laut yang hidup di kedalaman sampai dengan 50 meter di bawah permukaan laut. Penyebarannya sangat luas, terdapat 15.000 spesies spons laut di seluruh dunia dan sekitar 45 % senyawa bioaktif ditemukan pada spons laut (Anonim, 2006). Perjalanan pencarian obat dari spons di beberapa perairan di Indonesia sudah dilakukan, namun masih banyak lokasi di Indonesia yang belum tersentuh (Wahyuono, 2003). Di Perairan kepulauan Spermonde saja telah ditemukan 199 spesies spons dan diduga berpotensi untuk memiliki sampai 2000 spesies asalkan diteliti secara intensif (de Voogd, 2005 dalam Noor, 2007), salah satu pulau diantaranya yaitu Pulau Barang Lompo.

Spons dengan populasi terbesar yang tumbuh di perairan sekitar Pulau Barang Lompo yaitu *Clathria reinwardtii* (de Voogd *et al.*, 2006). Ekstrak dari *Clathria sp.* memberikan aktivitas antibiofouling yang tinggi dan aktivitas dalam menghambat jamur *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus sp.*, dan *Fusarium sp.* (Suryati *et al.*, 2005).

Sejumlah senyawa metabolit pada spons yang mempunyai bioaktivitas tertentu telah diisolasi dan diidentifikasi. Senyawa-senyawa

yang bersifat sitotoksik antara lain : jaspine B (1), mycaperoxide H (2), microcionamides A (3) dan B (4), barangamide A–D (5-8), bitungolide A-F (9-14), irciniastatin A (15) dan B (16). Dehydrocrambine A (17) dan clathsterol (18) merupakan senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai anti-HIV. Senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai anti-fungi, yaitu : aurantoside B (19) dan meridine (20). Senyawa golongan alkaloid dari ekstrak spons *Callyspongia* sp. mempunyai bioaktivitas sebagai anti-oksidan (Hanani *et al.*, 2005).

Penentuan sifat-sifat bioaktif suatu ekstrak atau suatu senyawa bahan alam dapat dilakukan melalui uji bioaktivitas dengan cara mempengaruhi sistem metabolisme organisme hidup. Uji bioaktivitas primer yang lazim digunakan adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Uji aktivitas ini menggunakan benur udang *Artemia salina* Leach. Uji ini mempunyai korelasi positif dengan uji-uji sekunder yang lain, seperti sebagai anti-tumor sel murin leukemia P-388 dan anti-kanker. Selain itu uji ini memiliki beberapa keunggulan antara lain prosedurnya mudah, dan biayanya relatif murah (Mayer *et al.*, 1982).

Ekstrak atau senyawa yang non aktif terhadap *A. salina* kemungkinan dapat memberikan efek biologi yang lain seperti anti-inflamasi, anti-oksidan, dan anti-mikroba. Senyawa turunan steroid, yang diduga β -sitosterol, memiliki aktivitas yang tinggi terhadap *A. salina* (LC_{50} 76,00 μ g/mL) telah berhasil diisolasi dari ekstrak spons *Biemna*

triraphis yang non aktif terhadap *A. salina* (LC₅₀ 543,00 µg/mL) (Sapar, 2003).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu untuk melakukan penelusuran senyawa metabolit sekunder pada fraksi non aktif terhadap benur udang *A. salina* yang ada dalam spons *C. reinwardtii*.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, spons *C. reinwardtii* diduga mengandung senyawa kimia yang aktif. Permasalahannya adalah metabolit sekunder apa saja yang terdapat dalam fraksi non aktif terhadap *A. salina* dari spons *C. reinwardtii* serta bagaimana struktur dan bioaktivitas metabolit sekunder tersebut.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi struktur metabolit sekunder pada fraksi non aktif terhadap benur udang *A. salina* Leach dari spons *C. reinwardtii*.

D. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat:

1. Memberi informasi tentang jenis senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam spons *C. reinwardtii* dan toksisitasnya terhadap benur udang *A. salina* sehingga dapat bermanfaat dalam pengembangan obat tradisional ke arah fitofarmaka .
2. Memberikan kontribusi bagi ilmu pengetahuan khususnya bagi ilmu kimia organik bahan alam laut.
3. Memberi pengalaman secara praktis maupun teoritis bagi peneliti.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian Spons

Spons, sering juga disebut bunga karang, merupakan organisme multiseluler yang termasuk filum porifera. Porifera berasal dari bahasa latin, *porus* berarti lubang kecil dan *ferre* berarti membawa atau mengandung atau mempunyai. Jadi, kata porifera berarti hewan yang mempunyai tubuh dengan struktur berpori dengan banyak permukaan yang terbuka (Hooper, 1997). Porifera atau binatang karang merupakan invertebrata yang paling rendah ditingkatannya, tanpa adanya jaringan sebenarnya (parazoa). Spesies ini kekurangan otot, saraf, dan organ-organ internal lainnya (Anonim b, 2007).

1. Morfologi spons

Morfologi luar spons sangat dipengaruhi oleh faktor fisik, 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, memiliki tubuh yang lebih simetris dan lebih besar apabila dibandingkan dengan

jenis yang sama yang hidup pada perairan yang dangkal (Amir dan Budiyanoto, 1996).

Spons dapat berbentuk sederhana seperti tabung dengan dinding tipis, dan agak tidak teratur. Banyak spons juga terdiri dari segumpal jaringan yang tak tentu bentuknya, menempel dan membentuk kerak pada batu, cangkang, tonggak, atau tumbuh-tumbuhan. Kelompok lain dari spons mempunyai bentuk lebih teratur dan melekat pada dasar perairan melalui sekumpulan spikula. Bentuk-bentuk spons dapat beragam, misalnya beberapa jenis bercabang seperti pohon, lainnya berbentuk seperti sarung tinju, cawan atau kubah. Ukuran spons juga beragam, mulai dari ukuran sebesar kepala jarum pentul sampai yang mempunyai garis tengah 0,9 m dan tebalnya 30 cm. Jenis-jenis spons tertentu nampak berbulu getar karena spikulanya menyembul keluar dari badannya (Suparno, 2005). Banyak spons yang berwarna putih dan abu-abu, dan ada pula yang berwarna kuning, orange, ungu, merah, atau hijau. Warna hijau biasanya disebabkan oleh adanya alga simbiotik yang disebut Zoochlorellae yang terdapat di dalamnya (Romimohtarto, 2001).

Konsistensi tubuh spons pada umumnya elastis seperti busa karet tetapi ada beberapa jenis yang agak keras dan agak rapuh. Tubuh spons ini diperkokoh oleh suatu kerangka spikula yang merupakan kumpulan dari materi alam tak hidup yang mengandung kalsium karbonat atau silika dan juga didukung oleh kerangka serat-serat keratin atau spongin (Amir dan Budiyanoto, 1996).

Reseck (1988), menyatakan bahwa ada enam faktor ekologis yang sangat mempengaruhi bentuk dan pertumbuhan spons, antara lain kedalaman air, struktur dasar, arus air, suhu air, level nutrien, dan sedimentasi. Spons hidup di kedalaman sampai dengan 50 meter di bawah permukaan laut. Namun spons sangat baik pertumbuhannya dan tumbuh subur pada perairan yang mempunyai kedalaman 9-60 kaki (3-20 meter).

2. Klasifikasi spons

Menurut Kozloff (1990), spons dapat diklasifikasikan berdasarkan pada pengelompokan secara umum dan komponen rangka yang dimiliki, yaitu:

a. Kelas Calcarea atau Calcispongiae

Spons ini hidup di daerah pantai yang dangkal dengan bentuk tubuh sederhana. Spikula spons ini tersusun dari kalsium karbonat dan tidak mengandung spongin. Sebagian besar spons dari kelas ini bentuknya kecil-kecil dan berwarna putih keabu-abuan dan ada beberapa jenis berwarna kuning, merah jambu, dan hijau. Elemen kerangka dari Calcarea berbentuk spikula "triaxon". Beberapa jenis spons ini adalah *Sycon gelatinosum* (berbentuk silinder berwarna coklat muda), *Clathrina sp.* dan *Leucetta sp.* Spons ini jumlahnya sedikit, lebih kurang hanya 10 % dari jumlah hewan spons yang ada di laut.

b. Kelas Hexactinellida atau Hyalospongiae

Spons ini hidup di laut dalam dengan kedalaman 50 meter, tetapi ada pula yang dapat tumbuh pada 1 meter. Jenis ini disebut juga spons gelas, dimana spikula terdiri dari silika dan tidak mengandung spongin. Spikulanya berbentuk bidang “triaxon”, dimana masing-masing bidang terdapat dua jari-jari (Hexactinal). Spons dari kelas ini belum banyak dikenal karena sulit didapatkan. Contoh spons ini yaitu *Euplectella sp* dan *Aspergillum sp*.

c. Kelas Demospongiae

Hampir 75 % jenis spons yang dijumpai di laut adalah kelas Demospongiae. Spons dari kelas ini tidak memiliki spikula “triaxon”, tetapi spikulanya berbentuk “monoaxon”, “tetraxon” yang mengandung silika. Beberapa jenis spons kelas ini ada yang tidak mengandung spikula tetapi hanya mengandung spongin. Contohnya *Cliona sp* dan *Spongia sp*.

3. *Clathria reinwardtii*



Gambar 1, Spons *Clathria reinwardtii*

Klasifikasi spesies spons yang menjadi objek penelitian, yaitu:

Filum : Porifera

Kelas : Demospongiae

Subkelas : Ceractinomorpha

Ordo : Poecilosclerida

Subordo : Microcionina

Famili : Microcionidae

Genus : Clathria

Spesies : *Clathria reinwardtii* (Hooper dan Soest, 2002)

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Nicole de Voogd (2006) di perairan Kepulauan Spermonde menunjukkan bahwa *Clathria reinwardtii* termasuk salah satu spesies spons yang kelimpahannya terbesar di wilayah tersebut.

Tabel 1 ; Penyebaran spons di perairan Kepulauan Spermonde (de Voogd, 2006)

Spesies	Lokasi								
	LL	BB	SA-E	SA-W	BL	BA	KK-E	KK-W	LK
<i>Amphimedon paraviridis</i> Fromont	64	248	52	847	212	22	66	326	58
<i>Callyspongia</i> aff. <i>Pseudofibrosa</i> Desqueyroux-Faundez	24	21	15	37	9	42	12	39	14
<i>Callyspongia biru</i> de Voogd	0	31	125	101	17	17	22	20	40
<i>Chalinula hooperi</i> Bakus & Nishiyama	4	83	12	29	9	5	76	56	165
<i>Clathria reinwardtii</i> Vosmaer	66	121	236	336	278	193	70	269	24
<i>Haliclona</i> sp. 'blue'	0	33	51	326	70	8	46	60	8
<i>Hyrtios erectus</i> Keller	8	39	147	185	138	157	42	86	94
<i>Petrosia hoeksemai</i> de Voogd & van Soest	2	33	41	153	35	75	13	84	23
<i>Petrosia nigricans</i> Lindgren	2	15	23	32	38	60	8	76	29
<i>Sphacispongia congenera</i> Ridley	10	68	15	70	26	12	12	15	4

Keterangan: LL: Laelae; BB: Bone Baku; SA: Samalona; BL: Bone Lola; BA: Barang Lompo; KK: Kudingareng Keke; LK: Langkai; E: timur, W: Barat

B. Sifat Biologis Metabolit Sekunder dari Spons

Metabolit sekunder merupakan produk detoksifikasi dari timbunan metabolit yang beracun. Metabolit sekunder tidak bersifat esensial bagi kehidupan organisme tetapi penting bagi organisme yang menghasilkannya yaitu sebagai pertahanan terhadap serangan-serangan organisme lain, sebagai penarik seks, dan lain sebagainya (Sapar, 2004).

Spons adalah salah satu biota laut yang menghasilkan senyawa bioaktif. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh spons laut telah banyak diketahui manfaatnya. Senyawa bioaktif tersebut dihasilkan oleh sel-sel spons itu sendiri, mikrosimbiotanya, atau keduanya secara bersama-sama (Munro *et al.*, 1989).

Spons secara khusus berkompetisi untuk menempati dan menyingkirkan predator-predator dengan zat kimia. Spons tidak dapat menggigit, menyengat atau melarikan diri dari predator-predator, tetapi dapat mengeluarkan racun (bahan kimia) secara aktif dalam daerah pertumbuhannya. Bahan kimia tersebut digunakan untuk meracuni karang-karang dan binatang lainnya yang cenderung tumbuh melebihi spons. Bahan kimia disimpan dalam selnya dan hanya dikeluarkan pada saat predator menggigitnya. Bahan kimia yang paten secara khusus memberi banyak perlindungan untuk melawan predator, tetapi jika predator memiliki beberapa enzim yang dapat mendetoksifikasi bahan kimia tersebut maka predator memiliki keuntungan untuk mengeksploitasi spons. Spons mampu untuk menghasilkan racun yang banyak. Efek

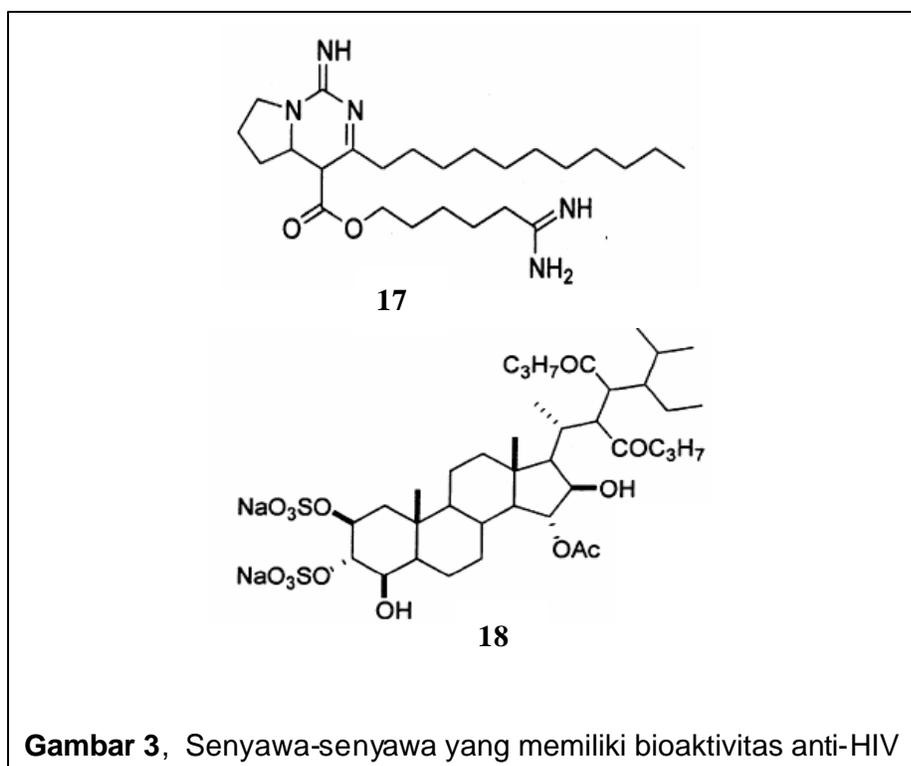
akhir dari spons merupakan kekebalan yang absolut tetapi masih ada predator yang dapat memakannya. Saat kedua spesies ini mendekati batasnya, keduanya memiliki kapasitas metabolik untuk menghasilkan racun atau enzim detoksifikasi.

Selain itu spons juga 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 mikroba patogen yang mengganggu kelangsungan hidupnya (Haris, 2001).

Metabolit dari spons mengandung senyawa bioaktif yang diketahui berperan dalam aktivitas seperti: respirasi, kardiovaskuler, gastrointestinal, dan anti-biotik (Anonim a, 2007); sitotoksik dan anti-tumor (Kobayashi dan Rachmaniar, 1999); anti-virus (Munro *et al.*, 1989); anti-HIV dan anti-inflamasi (Proksch, 1999); anti-fungi (Muliani *et al.*, 1998); anti-bakteri (Ireland *et al.*, 1989; Munro, *et al.*, 1989; Muniarsih dan Rachmaniar, 1999); anti-leukemia (Soediro, 1999); anti-malaria (Konig dan Wright, 1999); dan 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), dan sebagai hewan penting untuk akuarium laut (Riseley, 1971 dan Warren, 1982).

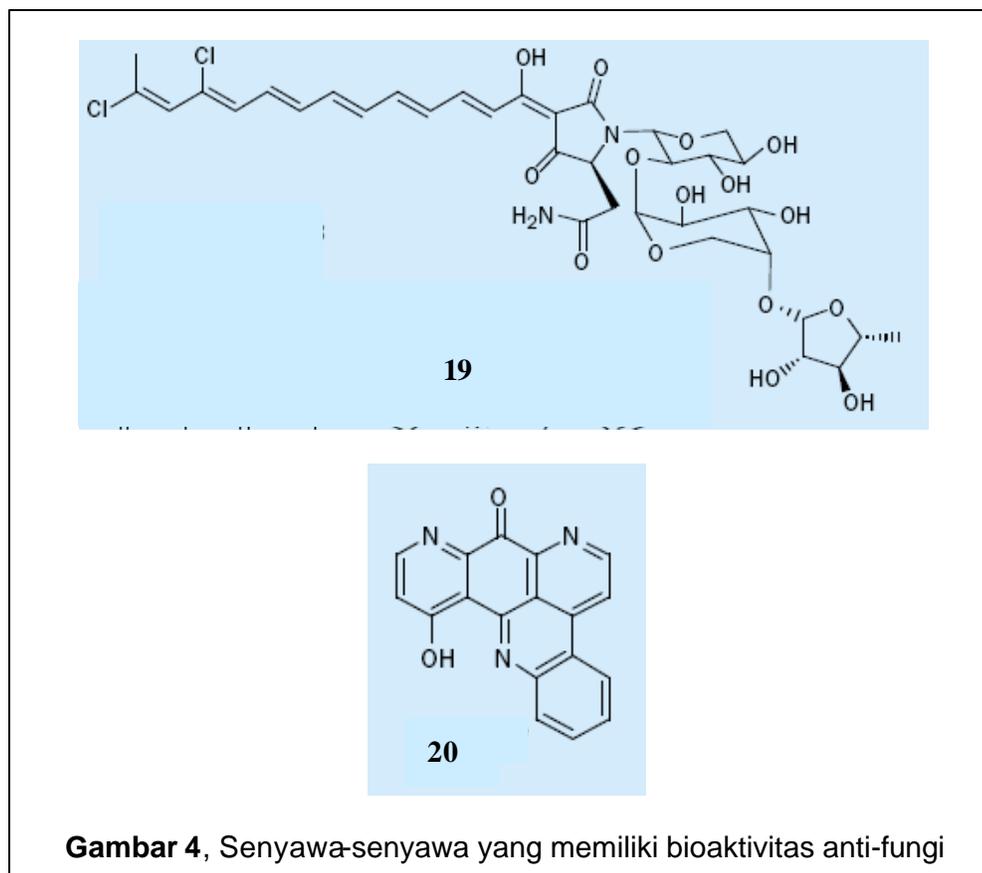
Sejumlah senyawa metabolit pada spons yang mempunyai bioaktivitas tertentu telah diisolasi dan diidentifikasi. Senyawa-senyawa yang bersifat sitotoksik antara lain : jaspine B (1), senyawa golongan alkaloid turunan sphingosine ini diisolasi dari spons *Jaspis sp.* dengan nilai IC_{50} 0,24 μ M (Ledcroit *et al.*, 2003); mycaperoxide H (2) merupakan sitotoksik peroksida norsesiterpen (IC_{50} 0,80 μ g/mL) yang diisolasi dari spons *Mycale sp.* (Phuwapraisiran *et al.*, 2003); microcionamides A (3) dan B (4) merupakan senyawa bioaktif peptida yang diisolasi dari spons Philipina *Clathria (Thalysias) abietina*, IC_{50} 0,80 μ g/mL (Davis *et al.*, 2004); barangamide A–D (5-8) yang merupakan sitotoksik peptida siklik (Higa *et al.*, 2001) dan sebuah rangkaian poliketida yang khas yaitu bitungolide A-F (9-14), telah berhasil diisolasi dari spons *Theonella swinhoei* yang berasal dari Pulau Barang Lompo Indonesia (Tanaka *et al.*, 2005); irciniastatin A (15) dan B (16), diisolasi dari spons Indo-Pasifik *Ircinia ramosa* yang mempunyai biaktivitas sebagai anti-neoplastik IC_{50} 0,80 μ g/mL (Pettit *et al.*, 2004).

Dehydrocrambine A (**17**), senyawa polisiklik guandin alkaloid yang telah diisolasi dari spons *Monachora sp.* (Chang *et al.*, 2003) dan Clathsterol (**18**), senyawa sterol yang telah diisolasi dari spons *Clathria sp* (Rudy *et al.*, 2001), keduanya merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai anti-HIV dengan konsentrasi berturut-turut $IC_{50} \approx 35 \mu M$ dan $IC_{50} 10 \mu M$.



Senyawa yang mempunyai bioaktivitas sebagai anti-fungi, yaitu: aurantoside B (**19**), diisolasi dari spons *Sillguariaspongia japonica* yang merupakan senyawa poliketida, memiliki aktivitas penghambat jamur *Aspergillus fumigatus* MIC 0,63 $\mu g/mL$ dan *C. albicans* MIC 0,16 $\mu g/mL$ (Sata *et al.*, 1999). Meridine (**20**) merupakan senyawa alkaloid polisiklik

yang diisolasi dari *Corticium sp.* yang mempunyai aktivitas penghambat jamur *C. albicans* MIC 0,20 μ g/mL dan *Cryptococcus neoformans* MIC 0,80 μ g/mL (McCarthy *et al.*, 1992). Senyawa golongan alkaloid dari ekstrak spons *Callyspongia sp.* mempunyai bioaktivitas sebagai antioksidan (Hanani *et al.*, 2005).



Salah satu senyawa dari golongan steroid yang memiliki efek farmakologis yaitu β -sitosterol. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Rinai Sante Institute of Integrative Medicine menunjukkan bahwa β -sitosterol mampu menghambat kerja enzim yang mengkonversi testosteron menjadi

dehidrotosteron (DHT). DHT ini adalah penyebab kanker prostat. Selain itu menurut Yuk (2007), β -sitosterol merupakan senyawa yang efektif digunakan dalam penyembuhan penyakit asma, sehingga memungkinkan senyawa ini untuk dikembangkan sebagai obat terapi penyakit alergi.

C. Isolasi Bahan Alam

Pemisahan berbagai komponen kimia yang ada dalam ekstrak hewan dapat dilakukan dengan metode isolasi. Pemisahan ini didasarkan atas sifat adsorpsi dan partisi dari setiap komponen tertentu. Metode isolasi yang dilakukan dan telah banyak dikembangkan terdiri dari empat tahap, yaitu :

1. Pemilihan sumber organisme

Dalam upaya pencarian senyawa bioaktif dari alam, pendekatan (*approach*) yang dilakukan untuk pemilihan sampel sangat memegang peranan penting. Pemilihan material dari alam secara acak yang dikombinasikan dengan proses seleksi (*screening*) bioaktivitas merupakan metode yang banyak digunakan oleh industri-industri besar dalam pencarian bahan aktif dari alam (Hadi *et al.*, 2001). Cara ini sering dianggap tidak efisien dan akan lebih efektif apabila pencarian tersebut dikombinasikan dengan memberikan kriteria tertentu. Sebagai contoh, tumbuh-tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional sering memberikan senyawa-senyawa aktif secara farmakologi.

Pendekatan dalam pemilihan hewan maupun tumbuhan dari alam adalah berdasarkan hubungan kekerabatan tumbuhan yang diketahui sebelumnya mengandung senyawa kimia yang bermanfaat (pendekatan filogenetik). Pendekatan kemo-taksonomi yang didasarkan pada kedekatan kekerabatan tumbuhan yang telah diketahui memiliki kandungan kimia tertentu juga dapat dilakukan. Secara alami sering dijumpai tumbuh-tumbuhan atau organisme lain dalam satu famili memproduksi senyawa yang sama (Hostettmann *et al.*, 1995).

2. Ekstraksi bahan alam

Penarikan senyawa kimia bahan alam yang akan diisolasi dapat dilakukan dengan proses ekstraksi. Ekstraksi adalah proses pelarutan senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam suatu sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan. Metode maserasi merupakan cara ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut organik selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Maserasi biasanya dilakukan bertahap, mulai dari pelarut yang paling nonpolar sampai pada pelarut yang paling polar. Bisa juga dilakukan dengan menggunakan pelarut polar seperti metanol secara langsung selanjutnya dilakukan partisi dengan pelarut yang ditingkatkan kepolarannya melalui proses ekstraksi (Harborne, 1987; Zenta dan Kumanireng, 2002).

3. Fraksinasi bahan alam

Fraksinasi dilakukan untuk memisahkan senyawa kimia yang satu dengan senyawa kimia yang lain dari suatu ekstrak bahan alam. Metode fraksinasi yang digunakan adalah metode kromatografi dimana pemisahan senyawa kimia tergantung pada sifat partisi, adsorpsi, dan distribusi komponen kimia terhadap fase diam dan fase gerak. Beberapa metode fraksinasi yang dapat digunakan antara lain: Kromatografi Kolom Vakum (KKV), Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG), dan Kromatografi Kolom Tekan (KKT) (Hostettmann *et al.*, 1995).

4. Uji bioaktivitas

Penentuan sifat-sifat bioaktif suatu ekstrak atau suatu senyawa bahan alam dapat dilakukan melalui uji bioaktivitas dengan cara mempengaruhi sistem metabolisme organisme hidup. Uji bioaktivitas primer yang lazim digunakan pada ekstrak maupun senyawa-senyawa bahan alam adalah *Brine Shrimp Lethality Test* (BST). Uji aktivitas ini menggunakan udang laut *A. salina* Leach untuk skining crude sampel atau monitoring pemisahan (McLaughlin *et al.*, 1991).

Meskipun penggunaan *A. salina* tidak spesifik terhadap aktivitas anti-kanker, akan tetapi dapat digunakan sebagai uji lethalitas sederhana dan menjadi dasar uji sitotoksitas serta sangat baik untuk evaluasi secara cepat terhadap hasil fraksinasi bahan alam yang mengandung senyawa bioaktif (Munro *et al.*, 1989 dalam Sapar, 2004).

BST telah dilakukan oleh Mayer pada tahun 1982 untuk penelitian bahan alam dengan menggunakan larva (*naupli*) udang *A. salina* yang diperoleh dengan menetasakan telur udang tersebut dalam medium air laut buatan. Aktivitas ekstrak atau isolat ditentukan oleh nilai LC_{50} dengan interval kepercayaan 95% yang dihitung menggunakan program komputer *Finney* ataupun program *Bliss Method*.

Nilai LC_{50} dari suatu senyawa digolongkan tidak aktif dari senyawa murni dan fraksi masing-masing adalah lebih dari 200 $\mu\text{g/mL}$ dan 500 $\mu\text{g/mL}$ (Anderson *et al.*, 1990). Aktivitas dari suatu senyawa yang tergolong bioaktif dapat menunjukkan sifat toksiknya terhadap benur udang *A. salina* dan metode ini telah digunakan untuk analisis residu pestisida, mikotoksin, polutan sungai, obat bius, morfin, dan bahan-bahan beracun pada lingkungan laut (Mayer *et al.*, 1982).