

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ALKALOID EKSTRAK  
METANOL *SPONGE Haliclona* sp.**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**FARADILLA DWI FRISKANCELLI**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

## ABSTRACT

### ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ALKALOID COMPOUND FROM EXTRACT METHANOL SPONGE, *Haliclona* sp.

By

**Faradilla Dwi Friskancelli**

The study has concerned about identification the alkaloid compounds from *Haliclona* sp. sponge. Sample which code CE was obtained from Seribu Islands taken by scuba diving technique at a depth of 5-30 meters, and dried for  $\pm$  14 days. Further, the bioactive metabolite of sample CE was isolated which several steps, maceration, partition, fractionation with sephadex LH 20, and purified by column chromatography to obtain pure isolate CE2S2M2K4 (5 mg). The result of characterization of isolates obtained by infrared spectrophotometry showed that the bands typical for alkaloid functional groups at wave number  $1215.1\text{ cm}^{-1}$  were vibration C-N and wave number  $1640\text{ cm}^{-1}$  was bending vibration of N-H. The analysis of spectrofotometric mass spectrum stated that the compound CE2S2M2K4 has a value of m/z 502.2. Based on the fragmentation value, CE2S2M2K4 has similar skeleton as Haliclonyclamine B alkaloid which had previously been isolated from sponge *Haliclona* sp.

**Keywords :** Haliclonyclamine B, Alkaloid, *Sponge Haliclona* sp.,  
Spectrophotometry Infrared, and Spektrophotometry Mass.

## ABSTRAK

### ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ALKALOID EKSTRAK METANOL *SPONGE Haliclona* sp.

Oleh

**Faradilla Dwi Friskancelli**

Pada penelitian difokuskan pada identifikasi senyawa alkaloid dari *sponge Haliclona* sp. Sampel dengan kode CE diperoleh dari perairan Kepulauan Seribu yang diambil dengan teknik *scuba diving* pada kedalaman 5-30 meter, dan dikeringanginkan selama  $\pm 14$  hari. Selanjutnya, senyawa bioaktif dari sampel CE diisolasi dengan beberapa tahapan, maserasi, partisi, fraksinasi dengan sephadex LH 20, dan dimurnikan dengan kromatografi kolom sehingga didapatkan isolat murni CE2S2M2K4 (5 mg). Hasil karakterisasi isolat yang didapatkan dengan spektrofotometri inframerah menunjukkan adanya pita yang khas untuk gugus fungsi alkaloid pada bilangan gelombang  $1215,1 \text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi ulur C-N dan pada bilangan gelombang  $1640 \text{ cm}^{-1}$  merupakan vibrasi tekuk N-H. Hasil analisis spektrum spektrofotometri massa menyatakan senyawa CE2S2M2K4 mempunyai nilai  $m/z$  502,2. Berdasarkan data fragmentasi, CE2S2M2K4 memiliki kerangka dasar yang sama dengan senyawa alkaloid Haliclonacyclamine B yang sebelumnya telah diisolasi dari *sponge Haliclona* sp.

**Kata Kunci** : Haliclonacyclamine B, Alkaloid, *Sponge Haliclona* sp.,  
Spektrofotometri inframerah, dan Spektrofotometri Massa

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA ALKALOID EKSTRAK  
METANOL *SPONGE Haliclona sp.***

**Oleh**

**FARADILLA DWI FRISKANCELLI**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam  
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2018**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA  
ALKALOID EKSTRAK METANOL *SPONGE  
Haliclona sp.***

Nama Mahasiswa : **Faradilla Dwi Friskancelli**

No. Pokok Mahasiswa : 1317011020

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Andi Setiawan, Ph.D.**  
NIP 19580922 198811 1 001

**Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.**  
NIP 19770713 200912 2 002

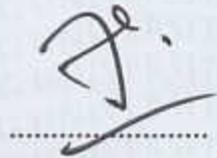
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

**Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP 19740705 200003 1 001

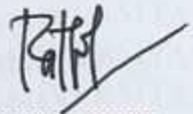
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

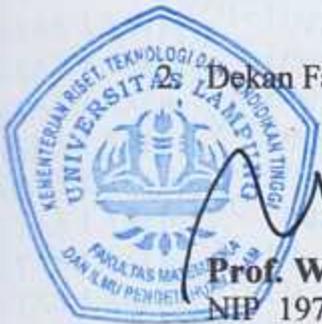
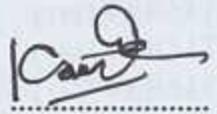
Ketua : **Andi Setiawan, Ph.D.**



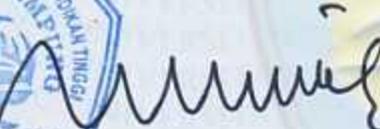
Sekretaris : **Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

  
**Prof. Warsito, S.St., D.E.A., Ph.D.**  
NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **26 Juni 2018**

## RIWAYAT HIDUP



Faradilla Dwi Friskancelli dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 29 Juni 1995, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, putri dari F. A. Pardi dan Suwati. Penulis telah menyelesaikan jenjang pendidikan mulai dari Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Gotong Royong tahun 2007, selanjutnya penulis menyelesaikan jenjang pendidikan di Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 25 Bandar Lampung tahun 2010, dan meneruskan ke Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 8 Bandar Lampung tahun 2013. Pada tahun 2013, penulis diterima sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN tertulis (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri)

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Dasar Jurusan Teknik Pertanian tahun 2016, dan asisten praktikum Kimia Organik Jurusan Biologi tahun 2016. Tahun 2016 Penulis melakukan Praktek Kerja Lapangan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LT-SIT) Universitas Lampung dan meneruskan penelitian di Laboratorium yang sama pada tahun 2017. Penulis juga ikut dalam organisasi tingkat fakultas yang terdaftar sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) periode kepengurusan 2013/2014. Aktif sebagai anggota bidang Kesekretariatan (Kestari) Himaki kepengurusan 2014/2015 hingga 2015/2016.

## MOTTO

*“Barangsiapa yang menghendaki kebaikan di dunia maka dengan ilmu. Barangsiapa yang menghendaki kebaikan di akhirat maka dengan ilmu. Barangsiapa yang menghendaki keduanya maka dengan ilmu”*  
(H.R. Bukhori dan Muslim)

“All our dreams can come true if we have the courage to pursue them” (Walt Disney)

*“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap”*  
(QS. Al-Insyirah, 6-8)

“Education is the most powerful weapon which you can use to change the world” (Nelson Mandela)

*“Sesungguhnya jika kamu bersyukur, pasti Kami akan menambah nikmat kepadamu”*  
(QS. Ibrahim, 7)

## SANWACANA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat teriring salam selalu tercurah kepada suri tauladan terbaik Rasulullah Muhammad SAW beserta para keluarga, sahabat, dan umatnya yang mendapatkan *syafa'at* beliau di *yaumul akhir* nanti, *Aamiin*.

Skripsi dengan judul “**Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Ekstrak Metanol *Sponge Haliclona sp.***” adalah salah satu syarat dalam meraih gelar Sarjana Sains pada program studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari berkat rahmat dan ridha Allah SWT serta dukungan semangat dan bantuan dari orang-orang yang hadir di kehidupan penulis. Dalam persembahan ini, izinkan penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak F. A. Pardi dan Ibu Suwati yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, cinta kasih, kesabaran dan keikhlasan yang tiada terhingga, semoga Allah membalas semua kebaikan kalian.

2. Bapak Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembimbing pertama yang telah memberikan semua ilmu pengetahuan, arahan, bimbingan, motivasi, semangat, dan nasihat dengan penuh keikhlasan dan kesabaran selama proses penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Eng. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, motivasi dan arahan dalam penulisan sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc. selaku pembahas yang telah memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
5. Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S. selaku Pembimbing Akademik atas semua bimbingan, arahan, dan nasihat yang bermanfaat kepada penulis.
6. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku ketua Jurusan Kimia Fmipa Universitas Lampung.
7. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu pengetahuan, bimbingan, dan motivasi selama menjalani proses perkuliahan di Jurusan Kimia FMIPA Unila, serta seluruh staff yang telah membantu penulis selama kuliah.
8. Bapak Prof. Warsito, D.E.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
9. Kakak dan adikku tersayang, Erlicha Aozora Hitari, S.Pd. dan Edo Kurniawan atas semua kasih sayang, bantuan, dan semangat yang diberikan kepada penulis.
10. Keluarga besarku, Bapak Wardiyo dan Mbah Harjo Utomo yang selalu memberikan kasih sayang, bantuan, dan semangat kepada penulis.

11. Seluruh staff UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LT-SIT) Ibu Nurul, Kak Miftah, Kak Wagiran, Kak Purna, Mba Lina, Mba Melli, dan Mba Fuji yang telah membantu selama proses penelitian penulis.
12. Sahabatku, Tya Gita Putri Utami, Megafhit Puspitarini, Ismi Ambalika, Dian Tanti N., Siti Mudmainah, Nurhastriana, Aulia Pertiwi Tri Yuda, Antonius Wendi Antono, Nita Yuliyani, Lulu Nur Rachmi, Sri Utami, dan Dewi Citra Ariani atas semua canda dan tawa selama masa perkuliahan.
13. Sahabat penelitianku, Tya Gita Putri Utami, Riska Martina, Dewi Citra Ariani, dan M. Bara Priamorta, semoga kita semua sukses atas semua kesulitan yang pernah kita lalui, *Aamiin*.
14. Teman-teman di UPT LT-SIT, Ibu Dian, Uut, Kak Ari, Mba Febita, Lulu, Dicky, Paul, Fendi, Dira, dan Rahma atas semua bantuan, dan motivasi selama ini.
15. Teman-teman Kimia angkatan 2013, Doddy, Anggun, Anita, Anton, Arief, Arni, Aulia, Awan, Badi, Paul, Della, Citra, Dewi R., Dian, Dona, Eka M., Eka S., Erva, Ezra, Nia, Fatimah, Febri, Fentri, Fera, Dicky, Fika, Gesa, Inggit, Ismi, Kartika, Nisa, Imah, Atun, Korina, Kurnia, Linda, Lulu, Ridho, Bara, Maya, Mega, Melia, Melita, Mia, Mita, Monica, Murnita, Ines, Nita, Nova, Ana, Dila, Nurma, Nurul, Oci, Tyas, Radho, Renita, Eky, Rian, Riska, Kiki, Riyan, Shela, Shelta, Sintia, Siti, Nabila, Uut, Yuni, Tika, Verdi, Netty, Vyna, Dewi, Widya, Yolanda, Yudha, Yulia, Yunita, Yunitri, Yuvica, Anggi, Vicka, Esti, Herma, Mawar, Indah, Nora, dan Gita. Terima kasih untuk pengalaman, canda dan tawa selama masa perkuliahan ini, dan tetap jalin silaturahmi.

16. Teman-teman KKN Kalidadi Lampung Tengah, Mawar, Sinta, Nisa, Ria, Ulfah, Meitra, dan Rizqy. Terima kasih untuk 40 hari kebersamaannya.
17. Teman-teman grup *Whatsapp* atas semua informasi dan foto-foto yang membuat penulis semangat dan termotivasi selama proses pembuatan skripsi, khususnya untuk Kak Anes, Vina, Wulan, Meilani, Raynita, Yuliana dan yang lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
18. Teman-teman alumni SD Negeri 1 Gotong Royong, SMP Negeri 25 Bandar Lampung, dan SMA Negeri 8 Bandar Lampung.
19. Guru-guruku dari SD sampai SMA, terima kasih telah memberikan ilmu pengetahuan, motivasi, dan pembelajarannya.
20. Seluruh keluarga besar Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung Angkatan 2010-2017.
21. Almamater tercinta Universitas Lampung.
22. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna, namun besar harapan penulis bahwa skripsi ini dapat bermanfaat untuk penelitian selanjutnya serta rekan-rekan mahasiswa dan pembaca umum lainnya. *Aamiin.*

Bandar Lampung, Juni 2018  
Penulis

**Faradilla Dwi Friskancelli**

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	iii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	iv
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
C. Manfaat Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
A. <i>Sponge</i> .....	5
B. Morfologi <i>Sponge</i> .....	6
C. <i>Sponge Haliclona</i> sp.....	7
D. Alkaloid.....	9
E. Isolasi Senyawa Alkaloid.....	12
1. Ekstraksi.....	12
a. Maserasi .....	13
b. Ekstraksi Cair-cair (Partisi).....	13
2. <i>Vacuum Rotary Evaporator</i> .....	14
3. Kromatografi.....	15
a. Kromatografi Lapis Tipis.....	16
b. <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i> .....	18
c. Kromatografi Kolom` .....	19
F. Karakterisasi Senyawa Alkaloid .....	20
1. Spektrofotometri .....	20
a. Spektrofotometri Massa (MS).....	20
b. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	21
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	24
A. Waktu dan Tempat .....	24
B. Alat dan Bahan.....	24
C. Prosedur Penelitian .....	25
1. Biomaterial.....	25
2. Ekstraksi <i>Sponge</i> .....	25
3. Ekstraksi Cair-cair (Partisi).....	25
4. Kromatografi Lapis Tipis.....	26

5. Fraksinasi Ekstrak <i>Sponge</i> dengan <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i> (MPLC) .....	26
6. Kromatografi Kolom.....	27
D. Karakterisasi Senyawa Alkaloid .....	27
1. Spektrofotometri Massa (MS).....	27
2. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	28
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>29</b>
A. Biomaterial <i>Sponge</i> .....	29
B. Ekstraksi <i>Sponge</i> .....	29
C. Ekstraksi Cair-cair (Partisi).....	32
D. Fraksinasi Ekstrak <i>Sponge</i> dengan <i>Medium Pressure Liquid Chromatography</i> (MPLC) .....	33
E. Kromatografi Kolom.....	37
F. Karakterisasi Senyawa Alkaloid .....	38
1. Spektrofotometri Massa (MS).....	38
2. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	41
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>43</b>

## DAFTAR PUSTAKA

## LAMPIRAN

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Identifikasi gugus fungsi senyawa dalam fraksi metanol <i>sponge Haliclona sp</i> .....	23
2. Interpretasi spektrum IR senyawa CE2S2M2K4 .....	42

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
3. Struktur morfologi <i>sponge</i> .....	7
4. Senyawa yang diperoleh dari sponge <i>Haliclona</i> sp .....	8
5. Morfologi <i>sponge Haliclona</i> sp .....	9
6. Senyawa alkaloid yang diperoleh dari beberapa jenis <i>sponge</i> .....	11
7. Proses Kromatografi Lapis Tipis .....	17
8. <i>Sponge Haliclona</i> sp. koleksi UPT LT-SIT .....	29
9. Hasil maserasi ekstrak MeOH <i>Sponge</i> .....	30
10. Hasil KLT ekstrak kasar MeOH <i>sponge</i> CE dengan fasa diam silika dan eluen MeOH:DCM (1:1) .....	31
11. Hasil ekstraksi cair-cair ekstrak <i>sponge</i> dalam pelarut EtOAc:Air (1:2) menjadi 2 fraksi yaitu (a). Fraksi EtOAc dan (b). Fraksi Air .....	32
12. Hasil KLT fraksi dari ekstraksi cair-cair secara berturut-turut yaitu fraksi EtOAc dan Fraksi Air dengan plat silika dan eluen n-heks:IPA (7:3) .....	33
13. Hasil fraksinasi dengan alat MPLC .....	34
14. Hasil Uji KLT fraksi CE2S2, CE2S3, CE2S4 dan CE2S5 dengan lampu UV, pereaksi serium sulfat dan pereaksi Dragendorff .....	35
15. Hasil fraksinasi CE2S2 dengan MPLC kolom resin Sephadex LH 20 eluen MeOH:Air (30%:70%) .....	36

16. Hasil uji KLT CE2S2M2 dengan plat C18 dan eluen MeOH:DCM (1:1)....	37
17. Hasil KLT fraksi CE2S2M2K4 dengan fasa diam silika dan eluen MeOH:DCM (1:1) .....	38
18. Hasil spektrum massa senyawa CE2S2M2K4 .....	39
19. Fragmentasi senyawa berdasarkan data MS dengan ChemBioDraw Ultra ..	40
20. Fragmentasi senyawa dengan nilai m/z 502,2 menjadi nilai m/z 485 .....	40
21. Spektrum IR senyawa CE2S2M2K4 .....	41

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kebutuhan senyawa metabolit sekunder terbarukan yang didapatkan dari biota laut sebagai sumber potensial senyawa bioaktif ini terus meningkat. Lebih dari 20000 senyawa telah ditemukan dari makhluk hidup di lautan sejak tahun 1960 (Hu *et al.*, 2011), dan ditemukan hampir 1000 senyawa baru pada tahun 2015 (Almeida *et al.* 2017). Salah satu sumber potensial senyawa bioaktif dari biota laut dikenal dengan nama *sponge*. *Sponge* terus menjadi kajian sebagai sumber terkaya senyawa bahan alam yang ditemukan setiap tahunnya dan mempunyai bioaktivitas dalam bidang farmasi (Berne *et al.*, 2015). Hasil dari berbagai penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam *sponge* dapat digunakan sebagai awalan dalam eksplorasi bahan dasar obat-obatan (Müller, 2003).

*Sponge* termasuk hewan yang mempunyai tubuh berpori-pori atau biasa disebut dengan kelompok porifera. Cara *sponge* untuk mencari makanannya adalah dengan menghisap dan menyaring air melalui pori-pori dari tubuhnya dan memompakan air keluar melalui oskulum. Cara makannya ini sering disebut dengan *filter feeders* (Berne *et al.*, 2015). *Sponge* terbagi menjadi 4 kelas yaitu *Hexatinellidae*, *Calcarea*, *Demospongia*, dan *Sclerospongiae*. *Demospongiae*

merupakan kelas *sponge* terbanyak yang ditemukan distribusinya di seluruh dunia (Barnes *et al.*, 1989). *Sponge* menjadi salah satu hewan laut yang menarik terlihat dari keunikannya, *sponge* yang bersifat *sesil* (tidak berpindah-pindah) dapat mempertahankan hidupnya dari serangan predator dengan mengeluarkan senyawa metabolit sekunder yang dapat membunuh atau menjauhkan dari predator (Blunt *et al.*, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian Pawlik and Walters (2005), *sponge Callyspongia plicifera*, *Callyspongia vaginalis*, dan *Niphates digitalis* akan membentuk selaput tipis yang dapat memulihkan kembali luka yang terbentuk dari serangan predator. Hal ini diduga, *sponge* mengeluarkan suatu senyawa aktif dari dalam tubuhnya yang dapat menyembuhkan luka dan menjauhkan predator yang akan memangsanya. Senyawa aktif tersebut biasa disebut dengan senyawa bioaktif. Hasil kajian yang telah dilakukan, senyawa bioaktif yang terkandung di dalam *sponge* hampir setengahnya terdiri dari terpenoid dan alkaloid (Hu *et al.*, 2011).

Alkaloid adalah senyawa turunan amino dan dibagi berdasarkan kerangka asam amino yang menyusunnya. Sifat basa dari alkaloid menyebabkan alkaloid dapat menembus barrier biologis dan dapat mencapai reseptor secara maksimal sehingga dapat dijadikan acuan sebagai antibakteri (Aniszweski, 2007). Alkaloid yang telah berhasil diisolasi dan mempunyai bioaktivitas yaitu senyawa Halicyclamine A sebagai agen antidorman tuberkulosis (Arai *et al.*, 2008), senyawa cyclic bis-1,3-dialkilpiridium sebagai agen antibakteri dan sitotoksik (Lee *et al.*, 2012), senyawa 3-alkilpiridin mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker

(Zhang *et al.*, 2015). Senyawa alkaloid yang didapatkan biasanya spesifik untuk satu jenis spesies dan mempunyai fungsi dan peran yang berbeda-beda pula.

Satu genus *sponge* dapat menghasilkan lebih dari 190 senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda (Yu *et al.*, 2006). Senyawa alkaloid terbaru atau yang telah ditemukan umumnya diisolasi dengan teknik skrinning spesifik, atau dengan kata lain belum semua senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel *sponge* diketahui struktur molekul dan manfaatnya sebagai senyawa bioaktif.

Berdasarkan hasil kajian yang telah dilakukan pada *sponge Haliclona* sp. khususnya terkait kandungan senyawa alkaloid yang terkandung di dalamnya, maka masih dimungkinkan menjadi sumber senyawa alkaloid terbaru. Dalam penelitian ini, telah dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa alkaloid dari *sponge Haliclona* sp. yang diperoleh dari Kepulauan Seribu. Melalui kegiatan ini diharapkan dapat mengisolasi senyawa alkaloid terbaru dari *sponge Haliclona* sp., selanjutnya karakterisasi bertujuan untuk menentukan struktur molekul senyawa alkaloid yang telah didapatkan dari sampel *sponge* dengan menggunakan spektrofotometri inframerah (IR), dan spektrofotometri massa (MS)

## **B. Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa alkaloid yang terkandung di dalam ekstrak metanol *sponge Haliclona* sp.

### **C. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dilakukannya penelitian ini adalah untuk dapat mengetahui kandungan senyawa alkaloid pada *sponge Haliclona sp.* serta bentuk struktur molekulny

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### A. *Sponge*

*Sponge* termasuk hewan yang mempunyai tubuh berpori-pori atau biasa disebut dengan kelompok porifera dan sebagai sumber terbesar untuk metabolit sekunder. Makanan dari biota laut ini berupa zooplankton atau hewan kecil dan bakteri yang terbawa oleh arus laut dan masuk kedalam tubuhnya. Cara *sponge* untuk mencari makanannya adalah dengan menghisap dan menyaring air melalui pori-pori tubuhnya, cara makannya ini sering disebut dengan *filter feeders* (Berne *et al.*, 2015). *Sponge* memiliki beragam spesies berbeda, bahkan bisa lebih dari 10.000 spesies dari 4 kelas yaitu *Hexatinellidae*, *Calcarea*, *Demospongia*, dan *Sclerospongiae*. *Demospongiae* merupakan kelas *sponge* terbanyak yang ditemukan distribusinya di seluruh dunia (Barnes *et al.*, 1989).

*Sponge* laut tergolong ke dalam Filum *Porifera* yang merupakan hewan multiseluler paling sederhana dengan bentuk tubuh dan warna yang beranekaragam (Jasin, 1992). Berdasarkan penelitian *sponge* diketahui bahwa mempunyai senyawa aktif alami yang diproduksi oleh dirinya sendiri dan mengeluarkan sejumlah besar senyawa kimia yang beranekaragam. Oleh karena itu, *sponge* tersebut mempunyai metode pertahanan diri sendiri dengan mengeluarkan senyawa bioaktif yang dapat menghalangi serangan predator

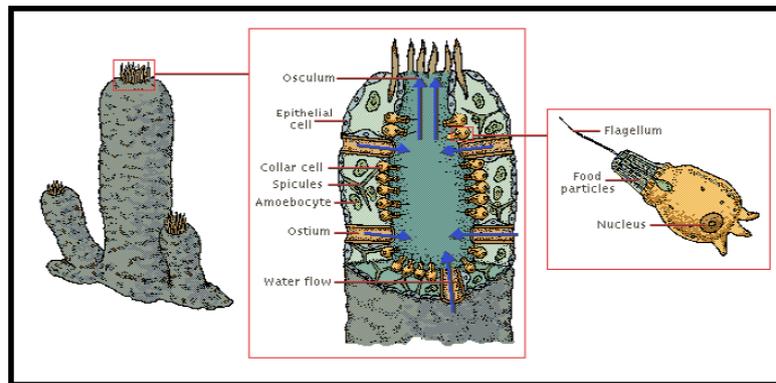
(Pawlik dan Walters, 2005). Senyawa bioaktif tersebut meliputi antivirus, antijamur, antimikroba, antiinflamasi, antitumor, dan sitotoksik (Joseph dan Sujatha, 2011). Bahan baku dari *sponge* ini yang menghasilkan senyawa bioaktif baru yang dapat digunakan sebagai eksplorasi awal dalam pembuatan obat-obatan (Belarbi *et al.*, 2003). Hasil dari berbagai penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam *sponge* tersebut juga dapat digunakan sebagai awal dalam eksplorasi bahan dasar obat-obatan (Müller, 2003).

## **B. Morfologi *Sponge***

Morfologi *sponge* sangat sederhana, berupa seperti tabung yang berdinding tipis dan tubuhnya berpori. Tubuh *sponge* berbeda-beda jenisnya, tidak ada yang sama bentuknya, ada yang asimetri (tidak beraturan) dan ada yang simetri radial, warnanya pun sangat bervariasi. Beberapa jenis *sponge* ada yang berbentuk seperti sarung tinju dan cawan bercabang seperti pohon, sedangkan yang lainnya berbentuk kubah. Karena adanya *zooxanthellae* yang hidup dalam jaringan tubuhnya membuat bentuk dan warna *sponge* sangat menarik dan beranekaragam juga (Dahuri, 2003). Umumnya, *sponge* disusun oleh beberapa jenis sel yang menyusun struktur tubuh dan biomasnya. Sel-sel tersebut memiliki fungsi yang berbeda-beda dalam organisasi tubuh *sponge*, dengan dinding tubuh yang berorganisasi secara sederhana.

Struktur tubuh *sponge* terdiri dari tiga lapisan yaitu epidermis, mesoglea dan endodermis. Epidermis merupakan lapisan luar yang terdiri atas sel-sel epitelium berbentuk pipih (pinakosit). Pinakosit berfungsi sebagai pelindung. Pada dinding

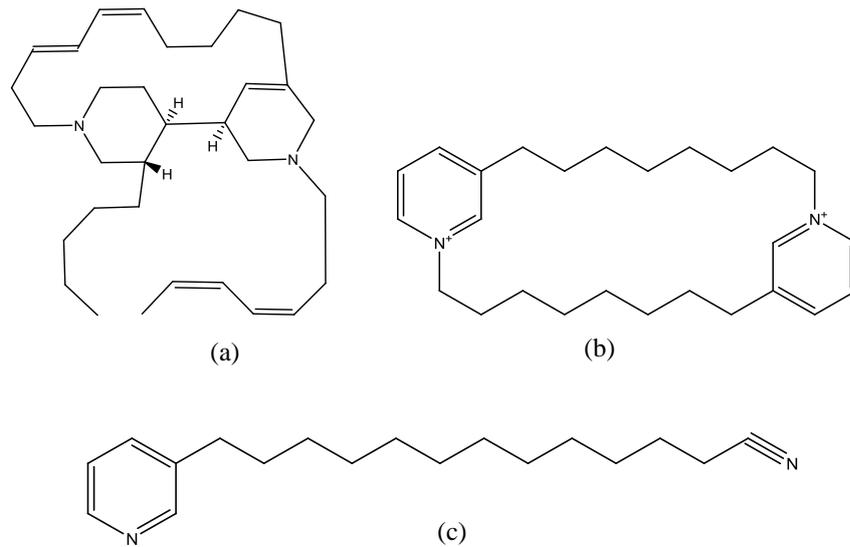
sponge juga terdapat pori-pori tempat masuknya air kedalam tubuh *sponge*. Endodermis terdiri atas sel berflagela yang berfungsi mencerna makanan dan bercorong yang disebut sel leher atau koanosit (Rupert *and* Barnes, 1994). Struktur morfologi *sponge* ditunjukkan pada **Gambar 1**.



**Gambar 1.** Struktur morfologi *sponge* (Brusca and Brusca, 1990).

### C. *Sponge Haliclona* sp.

*Sponge Haliclona* sp. termasuk kedalam kelas Demospongiae pada klasifikasinya. Demospongiae merupakan kelas terbesar yang mencakup 90% dari seluruh total spesies yang hidup di dunia yang mempunyai morfologi bertulang lunak karena tidak memiliki rangka, jika ada yang memiliki rangka terdiri atas serabut spongin dengan spikula dari silikat atau spongia. Senyawa yang berhasil diisolasi dari *Haliclona* sp. yaitu Halicyclamine A yang terlihat pada **Gambar 2** termasuk alkaloid jenis alkilpiridin berfungsi sebagai agen antidorman tuberkulosis (Arai, *et al.*, 2008).



**Gambar 2.** Senyawa yang diperoleh dari *sponge Haliclona* sp: (a) Halicyclamine A (Arai *et al.*, 2008); (b) Cyclic bis-1,3-dialkylpiridium (Lee *et al.*, 2012); dan (c) 3-alkilpiridin (Zhang *et al.*, 2015).

Cuong *et al.* (2014) juga telah berhasil mengisolasi *Bacillus megaterium* dari *Haliclona oculata* yang berfungsi sebagai antimikroba untuk beberapa jenis bakteri seperti *Vibrio vulnificus* dan *V. Parahaemolyticus* sebagai gram negatif, serta bakteri *Bacillus cereus* dan *Micrococcus luteus* sebagai gram positif. Senyawa alkaloid yang diperoleh yaitu 3-alkilpiridin yang berhasil diisolasi dari *sponge Haliclona* sp. menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (Zhang *et al.*, 2015) dan cyclic bis-1,3-dialkylpiridium dari *sponge Haliclona* sp (Lee *et al.*, 2012) sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan bakteri *Escherichia coli*. Aktivitas antibakteri dari *sponge Haliclona* sp yang menunjukkan aktivitas antibakteri paling efektif yaitu fraksi metanol dan fraksi kloroform. Ekstrak dan fraksi dikategorikan kuat berdasarkan kriteria Davis dan Stout (Wewengkang dkk, 2014).



**Gambar 3.** Morfologi *sponge Haliclona* sp. (Topsent, 1893).

#### **D. Alkaloid**

Alkaloid adalah senyawa-senyawa yang bersifat basa, mengandung atom nitrogen yang berasal dari tumbuhan dan hewan. Alkaloid merupakan golongan fitoestrogen. Alkaloid memiliki efek hormonal khususnya efek estrogenik (Aniszweski, 2007). Senyawa alkaloid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu organisme hidup, salah satunya adalah *sponge*. Senyawa metabolit sekunder adalah senyawa yang bersifat tidak esensial bagi tubuh manusia dan pertumbuhan organisme serta dapat ditemukan dalam bentuk yang berbeda-beda antar organisme satu dengan yang lainnya. Senyawa metabolit sekunder di dalam organisme berfungsi untuk alat interaksi antara organisme tersebut dengan lingkungannya. Alkaloid sebagai salah satu contoh senyawa metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari hewan dan tumbuhan umumnya mempunyai aktivitas biologis yang beragam terhadap suatu sel atau

mikroorganisme. Sifat biologis ini, dapat menghambat bahkan membunuh sel atau mikroorganisme dengan merusak sistem metabolisme di dalam tubuh (Wink, 1999).

Penggolongan alkaloid berdasarkan efek fisiologisnya adalah sebagai berikut

#### 1. Alkaloid Sesungguhnya

Alkaloid ini bersifat racun, aktifitas fisiologi yang kuat dan luas bersifat basa dan nitrogen terdapat sebagai heterosiklik. Alkaloid ini secara biosintesis adalah turunan asam amino.

#### 2. Protoalkaloid

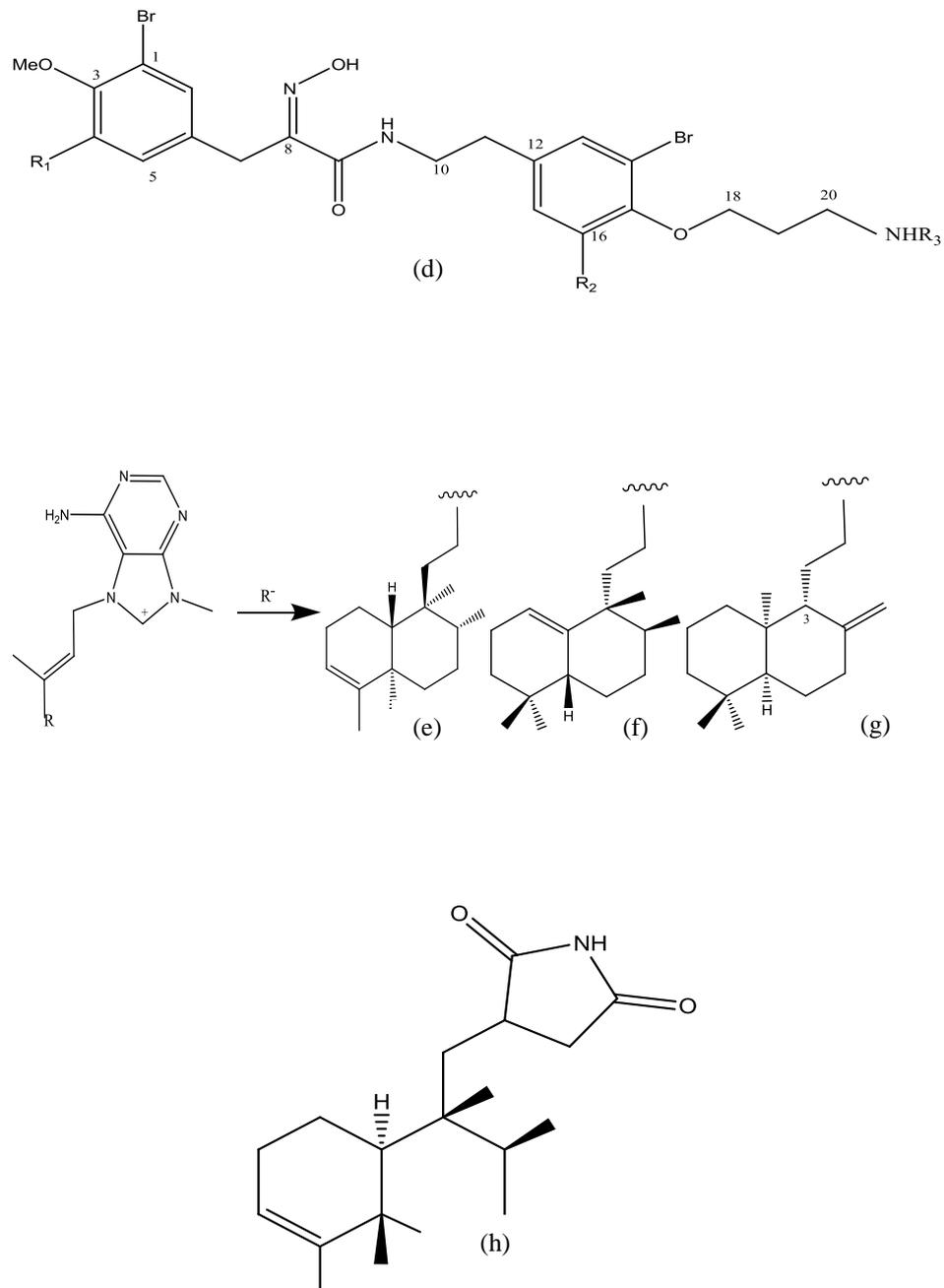
Secara biosintesis, alkaloid ini adalah turunan asam amino dan dianggap sebagai derivat amina sederhana. Atom nitrogen biasanya berada diluar cincin.

#### 3. Pseudoalkaloid

Alkaloid ini bukan derivat dari asam amino sehingga disebut dengan pseudoalkaloid (alkaloid semu). Contoh alkaloid jenis ini yang sering kita temui adalah kafein yang terdapat pada kopi dan teh (Sitorus, 2009).

Alkaloid yang telah berhasil diisolasi dari *sponge Psammaphysilla purpurea* adalah alkaloid jenis bromotirosin. Alkaloid ini mempunyai bioaktivitas sebagai antibakteri yang telah berhasil diidentifikasi sebelumnya. Nama senyawa yang didapatkan yaitu 16-debromoaplisamin-4 yang menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Eschirecia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *V. Cholera* (Tilvi *et al.*, 2004). Senyawa metabolit sekunder lainnya yaitu dysidionid A yang merupakan alkaloid jenis diterpen dari *sponge Dysidea* sp sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *methicillin* (Jiao *et al.*, 2014), dan

agelasine A, B, dan C dari *sponge* genus *Agelas* (Arai *et al.*, 2014), diidentifikasi sebagai anti-dorman mikobakteri.



**Gambar 4.** Senyawa alkaloid yang diperoleh dari beberapa jenis *sponge*: (e) 16-debromoaplisamin-4 (Tilvi *et al.*, 2004); (5) Agelasine A; (f) Agelasine B; (g) Agelasine C (Arai *et al.*, 2014); dan (h) dysidionid A (Jiao *et al.*, 2014).

## E. Isolasi Senyawa Alkaloid

### 1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah cara untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam sampel dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan organik dan daya penyesuaian dengan beberapa macam metode ekstraksi (Stahl, 1985). Prinsip ekstraksi berdasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang saling tidak melarutkan. Penggolongan metode ekstraksi dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fasa yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair-padat. Ekstraksi cair-cair dapat menggunakan corong pisah, sedangkan ekstraksi cair-padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi, dan sokletasi (Harborne, 1996). Untuk mengetahui perbandingan distribusi dari sampel antara dua pelarut menurut Hukum Distribusi Nernst **(1)** adalah sebagai berikut

$$K_D = \frac{[S]_1}{[S]_2} \dots\dots\dots(1)$$

$K_D$  = Koefisien Distribusi

$[S]_1$  = Pelarut 1

$[S]_2$  = Pelarut 2

Dalam kondisi normal, koefisien distribusi dan perbandingan konsentrasi antara dua pelarut akan konstan. Jika koefisien distribusi lebih besar, maka zat terlarut akan cenderung menuju distribusi kuantitatif dalam pelarut 1 (Christian *et al.*,

2013). Di dalam penelitian ini dalam mengekstraksi sampel *sponge* menggunakan metode maserasi dan partisi.

#### **a. Maserasi**

Maserasi adalah suatu metode ekstraksi dengan merendam sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruang. Prinsip dari metode maserasi yaitu sampel yang direndam dalam pelarut organik akan terjadi pemecahan pada dinding dan membran sel akibat dari perbedaan tekanan dari luar dan di dalam sel yang mengakibatkan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam sitoplasma akan larut dalam pelarut organik (Harborne, 1996). Proses maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut yang sesuai, baik murni maupun campuran. Setiap waktu tertentu filtratnya diambil dan residunya ditambahi pelarut baru. Demikian seterusnya sampai semua metabolit yang diperkirakan ada dalam sampel tersebut terekstrak. Rendaman disimpan agar terlindung dari cahaya langsung sehingga mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna. Dalam maserasi sampel *sponge* digunakan pelarut yang bersifat polar yaitu metanol (Arai *et al.*, 2008)

#### **b. Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)**

Pemisahan kandungan senyawa organik pada tahap awal biasanya dilakukan dengan metode partisi, yang bertujuan untuk mengelompokkan senyawa-senyawa yang terdapat di dalam ekstrak kasar berdasarkan kepolarannya. Umumnya partisi dimulai dengan pelarut nonpolar seperti n-heksana atau petroleum eter, kemudian dilanjutkan dengan pelarut semipolar seperti kloroform, etil asetat atau

aseton dan terakhir dengan pelarut polar seperti metanol atau n-butanol.

Senyawa-senyawa nonpolar akan larut ke dalam pelarut nonpolar sedangkan senyawa-senyawa polar akan larut ke dalam pelarut polar (Sudjadi, 1992).

Partisi atau ekstraksi cair-cair mempunyai prinsip kerja yaitu berdasarkan sifat kelarutan komponen target dan distribusinya di dalam dua pelarut berbeda yang tidak saling melarutkan setelah dilakukannya pengocokan (Poole, 2009).

Pengocokan bertujuan untuk memperluas area permukaan kontak diantara kedua pelarut sehingga proses distribusi zat terlarut dengan kedua pelarut dapat berlangsung dengan baik. Syarat dari pelarut yang digunakan dalam ekstraksi cair-cair adalah mempunyai kepolaran yang sesuai dengan zat terlarut atau bahan yang diekstraksi dan harus dapat terpisah dengan baik setelah dilakukan pengocokan (Harvey, 2000).

Watanabe *et al.* (2007) telah melakukan partisi ekstrak metanol *sponge* dengan pelarut EtOAc:Air (1:1). Kedua fraksi kemudian dipisahkan, dan fraksi EtOAc dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* sehingga didapatkan beratnya. Fraksi air dipartisi kembali dengan n-BuOH untuk mendapatkan senyawa alkaloidnya.

## **2. *Vacuum Rotary Evaporator***

*Vacuum rotary evaporator* adalah suatu alat instrumentasi yang biasa digunakan untuk isolasi senyawa organik, dengan tujuan menghilangkan pelarut organik dari sampel. Pelarut organik yang biasa digunakan dalam isolasi senyawa yaitu

metanol, etanol, etil asetat, kloroform, aseton, diklorometana dan sebagainya. Prinsip dari penggunaan *vacuum rotary evaporator* yaitu penguapan pelarut dengan suhu yang rendah dan penurunan tekanan sehingga pelarut dapat lebih cepat menguap dibandingkan dengan titik didih normalnya. Proses evaporasi ini mencegah rusaknya sampel bila proses penguapan pelarutnya dalam suhu yang tinggi, serta memiliki kelebihan yaitu pelarut yang tertampung di dalam wadah dapat digunakan kembali (Yen dan Tang, 2016).

Prosedur penggunaan *vacuum rotary evaporator* yaitu sampel dimasukkan ke dalam labu bulat lalu dihubungkan dengan kondensor. Selama proses penguapan labu bulat akan berputar sesuai dengan kecepatan yang ditentukan. Pemutaran bertujuan untuk memperluas permukaan sehingga proses penguapan menjadi lebih cepat dan mengurangi resiko *bumping*. Pelarut yang menguap akan didinginkan dalam kondensor dan membentuk embun yang akan tertampung di dalam wadah destilat

### **3. Kromatografi**

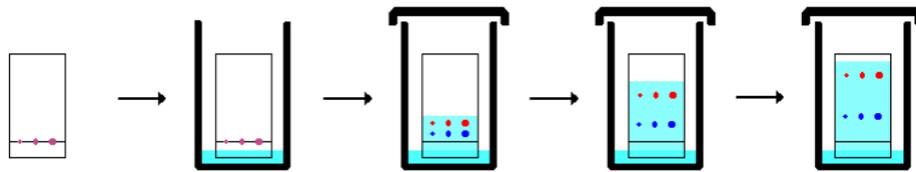
Kromatografi adalah suatu metode pemisahan komponen dalam suatu campuran sampel yang didasarkan atas perbedaan laju perpindahan dari tiap komponen di dalam dua fasa. Fasa yang digunakan yaitu fasa diam dan fasa gerak (Johnson dan Stevenson, 1991). Kromatografi dibedakan menjadi 3 jenis berdasarkan dari perbedaan kedua fasa tersebut, yaitu kromatografi padat-cair (kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, dan kromatografi kolom), kromatografi cair-cair dan kromatografi gas-cair (Hostettman *and* Terreaux, 2000).

### a. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan bentuk kromatografi planar dengan fase diam berupa lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. Pemisahan terjadi karena adanya perbedaan afinitas masing-masing komponen terhadap fase diam dan fase gerak. Jenis interaksi yang terjadi pada teknik ini adalah adsorpsi. Senyawa yang teradsorpsi lebih kuat dalam fase diam tidak akan bergerak jauh dibandingkan dengan senyawa yang teradsorpsi lebih lemah. Pemisahan secara KLT memiliki kelebihan yaitu peralatan yang digunakan sederhana, waktu analisis cepat, ketajaman pemisahan yang besar, kepekaan yang tinggi serta hanya menggunakan sampel dalam jumlah sedikit (Sudjadi, 1992).

Pada kromatografi lapis tipis, fasa diam yang sering digunakan adalah silika gel, C18, tanah diatom, selulosa dan lain-lain yang mempunyai ukuran butir sangat kecil berkisar 0,063-0,125 mm. Sedangkan untuk fasa gerak digunakan pelarut-pelarut organik yang sesuai, bahkan beberapa campuran pelarut dapat digunakan untuk mendapatkan pemisahan terbaik (Grinberg, 1990).

Campuran yang akan dipisahkan secara KLT berupa larutan yang ditotolkan berupa bercak. Setelah plat diletakkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi fase gerak yang sesuai, pemisahan komponen akan terjadi. Setelah elusi selesai, noda diamati dengan lampu UV atau pereaksi penampak noda.



**Gambar 5.** Proses Kromatografi Lapis Tipis (Svehla, 1990).

Noda-noda yang terbentuk diberi tanda dan karena pengaruh adsorpsi masing-masing senyawa berbeda-beda, maka hambatan pergerakan juga berbeda.

Besarnya hambatan ditentukan dengan harga *Retardation factor* ( $R_f$ ) pada persamaan (2) (Sudjadi, 1992).

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh masing-masing komponen}}{\text{jarak tempuh pelarut}} \dots\dots\dots(2)$$

Nilai  $R_f$  adalah jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal (Gandjar dan Rohman, 2007).

Harga nilai  $R_f$  yang baik adalah  $0 < R_f < 1$ . Nilai  $R_f$  dipengaruhi oleh beberapa parameter yaitu sistem pelarut, suhu, dan adsorben (ukuran butir, kandungan air, dan ketebalan), dan jumlah bahan yang ditotolkan pada plat (Khopkar, 2002)

Pengamatan pada plat KLT untuk identifikasi senyawa bahan alam dengan penambahan pereaksi spesifik dilakukan dengan cara plat KLT disinari di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm atau 366 nm. Pengamatan pada piring tetes dapat dilakukan dengan melihat perubahan warna yang terjadi. Reaksi warna dapat memberikan informasi mengenai golongan senyawa berdasarkan warna yang khas yang diberikan oleh pereaksi spesifik dari senyawa tersebut. Dalam Harborne (1996) disebutkan pereaksi pendeteksi yang digunakan untuk uji fitokimia senyawa alkaloid yaitu dilakukan dengan menggunakan pereaksi

pereaksi Dragendorff yang akan membentuk endapan berwarna merah jika isolat positif mengandung alkaloid atau membentuk noda orange pada plat KLT.

#### **b. *Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC)***

*Medium Pressure Liquid Chromatography (MPLC)* merupakan salah satu dari berbagai jenis teknik kromatografi kolom preparatif yang digunakan untuk memisahkan campuran senyawa organik. MPLC menggunakan kolom dengan diameter yang lebih besar dan membutuhkan tekanan yang lebih tinggi serta dengan aliran pelarut yang cukup tinggi alirannya. MPLC memenuhi persyaratan untuk melengkapi metode pemisahan yang sederhana seperti kromatografi kolom dengan resolusi yang lebih tinggi dan waktu pemisahan yang lebih singkat (Sticher, 2007). Seperangkat alat MPLC itu sendiri terdiri dari 1. Pemompa cairan; 2. Tekanan; 3. Sampel injektor; 4. Detektor UV; 5. Perekam; 6. Kolektor fraksi; 7. Kolom; 8. Penyangga kolom; 9. Pengendali sistem; dan 10. Penghubung tabung.

Langkah-langkah proses MPLC adalah sebagai berikut

- Larutkan sampel dalam pelarut yang sesuai (5-15 mL) jika mempunyai jumlah yang lebih besar dapat dibagi menjadi beberapa bagian, karena bergantung pada kapasitas kolom yang digunakan.
- Suntikkan larutan sampel kedalam lubang injeksi.
- Mendorong pelarut dengan cara memompakan pelarut.
- Kumpulkan dalam tabung (5-15 mL) dengan kolektor fraksi. Biasanya dalam 100 fraksi.

- Periksa dengan KLT dari masing-masing fraksi yang terbentuk.
- Gabungkan fraksi yang mempunyai pola pemisahan yang sama (Tsuda, 2004).

MPLC dapat digunakan untuk pemurnian senyawa dalam jumlah yang besar dan dalam waktu yang singkat pula. Selain itu, ukuran partikel yang kecil di dalam fasa diam dengan tekanan mampu memisahkan senyawa dengan baik serta fasa diam yang terdapat di dalam kolom masih dapat digunakan kembali untuk pemurnian senyawa lainnya (Hostettman *and* Terreaux, 2000).

### **c. Kromatografi Kolom**

Teknik kromatografi kolom gravitasi biasa digunakan untuk pemurnian senyawa dari komponen lainnya. Prinsip pemurnian dengan kromatografi kolom yaitu perbedaan daya serap antara fasa diam (adsorben) terhadap komponen dalam sampel yang akan dimurnikan. Komponen yang akan dimurnikan dialiri fasa gerak (eluen) sehingga eluen akan terus turun dari kolom akibat dari gaya gravitasi, dan memisahkan sampel berdasarkan sifat kepolarannya (Poole, 2009).

Ukuran partikel dari adsorben juga dapat mempengaruhi lamanya proses kolom, semakin kecil ukuran adsorben maka akan semakin lama pula eluen melewati fasa diam tersebut.

## **F. Karakterisasi Senyawa Alkaloid**

### **1. Spektrofotometri**

Spektrofotometri adalah salah satu alat yang terdiri dari spektrometer dan fotometer. Spektrometer akan menghasilkan sinar dari spectrum dengan panjang gelombang tertentu sedangkan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau diabsorpsi. Jadi, alat spektrofotometer digunakan untuk mengukur energi relatif jika energi ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi panjang gelombang (Gandjar dan Rohman, 2007).

Spektrofotometri yang biasa digunakan untuk senyawa bahan alam yaitu spektrofotometri massa (MS), dan spektrofotometri inframerah (IR).

#### **a. Spektrofotometri Massa (MS)**

Spektrofotometri massa (MS) adalah suatu alat instrumentasi yang digunakan untuk mengidentifikasi struktur suatu molekul yang belum diketahui berat molekulnya (g/mol) dan bagaimana pola pemecahannya (fragmentasi) dari suatu molekul organik. Untuk mengetahui lebih lanjut bentuk struktur molekul isolat murni yang didapatkan maka harus dibantu dengan data spektrum inframerah dan  $^1\text{H-NMR}$  (Sitorus, 2009). Suatu molekul organik yang akan dianalisis akan bertabrakan dengan salah satu elektron berenergi tinggi menyebabkan lepasnya elektron dari molekul itu dan terbentuknya suatu ion organik. Ion organik yang dihasilkan oleh tabrakan molekul organik dengan elektron berenergi tinggi akan pecah menjadi fragmen kecil, baik berbentuk radikal bebas maupun ion-ion lain. Fragmen yang bermuatan positif akan terdeteksi membentuk spektrum massa.

Spektrum massa adalah alur kelimpahan (abundance, jumlah relatif fragmen bermuatan positif yang berlainan) versus nisbah massa atau muatan ( $m/e$  atau  $m/z$ ) dari fragmen-fragmen itu (Fessenden dan Fessenden, 1982).

Salah satu senyawa alkaloid yang berhasil diisolasi dari *sponge Haliclona* sp adalah 3-alkilpiridin dengan bentuk fisik seperti minyak tak berwarna dengan rumus molekul  $C_{18}H_{28}N_2$  dengan nilai  $m/z$  273,2312 (Zhang *et al.*, 2015).

Senyawa alkaloid lainnya yang telah dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer massa yaitu Cortistatin E dengan bentuk fisik bubuk tanpa warna dan memberikan ion molekul  $[(M + H) +]$  pada  $m/z$  481 dengan rumus molekul  $C_{32}H_{52}N_2O$ , Cortistatin F dengan bentuk fisik bubuk tanpa warna dan memberikan puncak ion ion  $[(M + H) +]$  pada  $m/z$  479 dengan rumus molekul  $C_{32}H_{50}N_2O$ , Cortistatin G dengan bentuk fisik bubuk tanpa warna dan memberikan ion molekul  $[[M + H] +]$  pada puncak  $m/z$  459 dengan rumus molekul  $C_{31}H_{42}N_2O$ , dan Cortistatin H dengan bentuk fisik bubuk tanpa warna dan memberikan ion molekul  $[[M + H] +]$  pada puncak  $m/z$  461 dengan rumus molekul  $C_{31}H_{44}N_2O$  (Watanabe *et al.*, 2007).

#### **b. Spektrofotometri Inframerah (IR)**

Spektrofotometer Inframerah (IR) adalah suatu metode yang didasarkan oleh penyerapan panjang gelombang inframerah. Frekuensi radiasi inframerah, terbagi menjadi inframerah dekat, pertengahan dan jauh. Senyawa organik yang diidentifikasi akan menyerap berbagai frekuensi radiasi elektromagnetik, baik sebagian maupun seluruh radiasinya. Proses penyerapan ini didasarkan pada

adanya sejumlah vibrasi yang terkuantisasi dari atom-atom yang berikatan secara kovalen pada molekul tersebut. Frekuensi yang diabsorpsi tergantung pada masa relative dari atom, ketetapan ikatan, dan geometri dari atom. Pita absorpsi yang akan terbentuk sangat khas dan spesifik sesuai dengan ikatan kimia dan gugus fungsi yang terikat (Silverstein *et al.*, 2005).

Pola penyerapan ekstrak metanol *sponge Agelas nakamurai* pada spektrofotometri inframerah (IR) mengalami tumpang tindih, terutama pada puncak sekitar 1000  $\text{cm}^{-1}$ , 1230  $\text{cm}^{-1}$ , 1600  $\text{cm}^{-1}$ , dan di atas 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Hal ini dikarenakan banyaknya metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol. Pola penyerapan yang terlihat jelas menunjukkan adanya kelompok fungsional utama yaitu penyerapan metil ( $-\text{CH}_3$ ), metilen ( $-\text{CH}_2$ ) pada kisaran 2800-2930  $\text{cm}^{-1}$ , metin ( $=\text{CH}$ ) pada 3200  $\text{cm}^{-1}$ , karbonil ( $\text{C}=\text{O}$ ) sekitar 1735  $\text{cm}^{-1}$ , etilen ( $\text{C}=\text{C}$ ) pada 1645,20  $\text{cm}^{-1}$ , CN pada 1220,73  $\text{cm}^{-1}$ , CO pada 1050  $\text{cm}^{-1}$ , C-Br pada 744,02  $\text{cm}^{-1}$ , lekukan NH sekitar 1610  $\text{cm}^{-1}$  namun regangan NH di atas 3200  $\text{cm}^{-1}$  tapi tidak tumpang tindih, dan lengkungan  $\text{CH}_3$  dan  $\text{CH}_2$  pada 1450,20 dan 1404,10  $\text{cm}^{-1}$  (Sapar *et al.*, 2013).

Senyawa alkaloid berdasarkan dari hasil spektroskopi mempunyai beberapa karakteristik, seperti contohnya pada **Tabel 1** terlihat gugus fungsi yang terkandung pada *sponge Haliclona* sp. berdasarkan serapan bilangan gelombang yang ditunjukkan. Data spektro inframerah senyawa fraksi metanol *sponge Haliclona* sp. pada serapan bilangan gelombang 3296  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus N-H dengan intensitas sedang, serapan bilangan gelombang 2922  $\text{cm}^{-1}$  terdapat gugus C-H dengan intensitas kuat didukung dengan pita serapan 2852  $\text{cm}^{-1}$ . Pada

serapan bilangan gelombang  $1708\text{ cm}^{-1}$  terdapat gugus C=O dengan intensitas kuat, serapan bilangan gelombang  $1456\text{ cm}^{-1}$  terdapat gugus C-H dengan intensitas sedang. Adanya gugus C-O dengan intensitas kuat pada serapan bilangan gelombang  $1100\text{ cm}^{-1}$ , gugus C-H dengan intensitas kuat pada serapan bilangan gelombang  $661\text{ cm}^{-1}$  didukung pita serapan  $599\text{ cm}^{-1}$ . Diduga fraksi metanol-air mengandung gugus utama N-H, C-H, C-O, dan C=O (Wewengkang dkk, 2014).

**Tabel 1.** Identifikasi gugus fungsi senyawa dalam fraksi metanol *sponge Haliclona sp.*

Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )	Literatur Frekuensi ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus	Jenis Senyawa	Referensi
$3296\text{ cm}^{-1}$	$3300\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$	N-H	Amina, Amida	a
$2922\text{ cm}^{-1}$	$2850\text{-}2970\text{ cm}^{-1}$	C-H	Alkana	a
$2852\text{ cm}^{-1}$	$2850\text{-}2970\text{ cm}^{-1}$	C-H	Alkana	a
$1708\text{ cm}^{-1}$	$1690\text{-}1760\text{ cm}^{-1}$	C=O	Aldehid, Keton, Asam Karboksilat	a
$1456\text{ cm}^{-1}$	$1340\text{-}1470\text{ cm}^{-1}$	C-H	Alkana	a
$1100\text{ cm}^{-1}$	$1050\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$	C-O	Eter	a
$661\text{ cm}^{-1}$	$650\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$	C-H	Alkena	b

Keterangan: a. (Wewengkang dkk, 2014), dan b. (Settle, 1997).

### **III. METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juli 2017-Maret 2018 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung, Bandar Lampung. Analisis Spektrofotometri Inframerah (IR) dan Spektrofotometri Massa di BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan) Lampung.

#### **B. Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, seperangkat alat KLT dengan plat alumunium silika gel 60 F<sub>254</sub>, plat C18 F<sub>254</sub> dan lampu UV Kohler, serta alat instrumentasi seperti neraca analitik Kern ABJ/BBJ-220-4M, seperangkat alat *vacuum rotary evaporator* Buchi Vacum Pump V-700, seperangkat alat *Medium Pressure Liquid Chromatografi* (MPLC) Buchi/Sepacoterm, seperangkat alat spektrofotometri inframerah (IR) Agilent Technologies Cary 360 FTIR, dan seperangkat alat spektrofotometri LC-MS Quattro.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol (MeOH), diklorometana (DCM), etil asetat (EtOAc), n-heksana, isopropanol (IPA), etanol (EtOH), akuades, pereaksi serum sulfat, dan pereaksi Dragendorff.

### **C. Prosedur Penelitian**

#### **1. Biomaterial**

Sampel jenis *sponge* didapatkan dari perairan kepulauan Seribu pada bulan September tahun 2016 yang didapat dengan teknik *scuba diving* dengan kedalaman 5-30 meter, yang kemudian sampel dikering-anginkan selama  $\pm 14$  hari sampai semua *sponge* kering.

#### **2. Ekstraksi *Sponge***

Sampel *sponge Haliclona* sp. kering seberat  $\pm 1,6$  Kg dipotong kecil-kecil kemudian dimaserasi dengan MeOH sampai terendam seluruhnya di dalam wadah kaca besar selama 1x24 jam. Proses maserasi ini diulangi sebanyak tiga kali (Arai *et al.*, 2016). Maserat hasil maserasi digabung dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak pekat pada tekanan 109 mbar dan suhu 38°C dan dihitung berat ekstrak yang terbentuk sebagai berat ekstrak kasar.

#### **3. Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)**

Teknik yang paling umum untuk pemisahan sampel dengan menggunakan corong pemisah adalah ekstraksi cair-cair. Teknik ini berdasarkan perbedaan kepolaran dari dua pelarut yang saling tidak tercampur. Hasil ekstrak kasar *sponge* dipartisi menggunakan EtOAc:Air (1:2) sehingga terbentuk dua fraksi (Watanabe *et al.*,

2007). Fraksi air dan fraksi EtoAc dipisahkan dan dimonitoring dengan KLT.

Proses partisi ini bertujuan untuk memisahkan fraksi yang bersifat polar dan fraksi yang bersifat nonpolar.

#### **4. Kromatografi Lapis Tipis**

Ekstrak kasar *sponge Haliclona* sp. ditentukan senyawa alkaloidnya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis. Ekstrak *sponge* diteteskan keatas plat KLT jenis Silika Gel F<sub>254</sub> kemudian dielusi dengan perbandingan beberapa eluen di dalam bejana pengembang. Setelah semua ekstrak terelusi, masing-masing plat KLT ditambahkan dengan pereaksi spesifik yaitu cerium sulfat dan Dragendorff untuk mengetahui senyawa bioaktif yang terdapat di dalam sampel. Kemudian hitung harga R<sub>f</sub> yang terbentuk dari noda yang muncul pada plat KLT.

Fraksi hasil partisi di KLT menggunakan eluen EtoAc dengan fasa diam Silika Gel F<sub>254</sub> dan pereaksi cerium sulfat, jika pada fraksi EtoAc terdapat noda dengan nilai R<sub>f</sub> ≤ 5 maka diulangi proses partisi kembali, begitupula dengan fraksi air, jika terdapat noda dengan nilai R<sub>f</sub> ≥ 5. Pengulangan proses partisi bertujuan agar pemisahan senyawa berlangsung secara maksimal (Tsuda, 2004). Proses partisi dilakukan berulang sampai didapat fraksi air yang bersifat sangat polar dan fraksi EtoAc yang bersifat nonpolar.

#### **5. Fraksinasi Ekstrak *Sponge* dengan *Medium Pressure Liquid***

##### ***Chromatography (MPLC)***

Fraksi air kemudian difraksinasi dengan MPLC yang menggunakan fasa diam kolom Sephadex LH 20 dan dialiri dengan fasa gerak MeOH:Air (95%:5%).

Kecepatan waktu alir 3,5mL/menit yang dideteksi oleh detektor pada panjang gelombang 220 nm dan 254 nm (Tsuda, 2004). Hasil fraksinasi akan dimonitoring dengan uji KLT dan fraksi dengan nilai Rf yang sama digabungkan. Salah satu fraksi akan ditetapkan sebagai sampel analisis yang akan dimurnikan.

Pemurniannya diulangi dengan prosedur MPLC seperti prosedur diatas.

## **6. Kromatografi Kolom**

Fraksi yang belum murni dan berjumlah sedikit, dilanjutkan proses fraksinasinya dengan menggunakan teknik kromatografi kolom. Adsorben C18 dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian, dan dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom sampai fasa diam tersebut rapat dan tidak berongga udara. Selanjutnya, sampel dimasukkan ke dalam kolom dan diusahakan pelarut yang dimasukkan ke dalam kolom tidak kering sehingga proses elusi akan terus berjalan dengan baik.

## **D. Karakterisasi Senyawa Alkaloid**

### **1. Spektrofotometri Massa (MS)**

Isolat murni sampel *sponge* diuapkan untuk menghilangkan kadar air dan diionkan menggunakan berkas elektron. Ion sampel dianalisis dengan cara dialirkan menggunakan medan listrik memasuki tabung analisis. Karena adanya kekuatan medan magnet, hanya ion-ion positif dan radikal positif yang akan masuk ke dalam detektor, sedangkan ion-ion lain akan dibelokkan ke dinding tabung ion dengan m/z lebih besar akan mencapai detektor lebih dulu diikuti m/z yang lebih kecil. Hasil dari detektor sampel akan terekam dalam spektrum.

Spektrum tersebut kemudian dianalisis berdasarkan nilai  $m/z$  untuk mengetahui komponen yang terdapat di dalam isolat murni

## **2. Spektrofotometri Inframerah (IR)**

Analisis sampel *sponge* dengan menggunakan spektrofotometer IR dapat dilakukan dengan menggunakan isolat murni sampel *sponge* (Arai *et al.*, 2016). Selanjutnya sampel akan dideteksi gugus fungsinya dengan alat hingga didapatkan spektrum IR. Spektrum tersebut kemudian di analisis berdasarkan pita serapan senyawa dan interpretasi gugus-gugus fungsinya.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Telah berhasil diisolasi senyawa alkaloid dari ekstrak MeOH *sponge Haliclona* sp. seberat 5 mg yang memiliki nilai m/z 502,2.
2. Hasil spektrum IR menegaskan bahwa isolat yang didapatkan adalah senyawa alkaloid dengan adanya pita serapan pada bilangan gelombang  $1215,1\text{ cm}^{-1}$  (C-N) dan  $1640\text{ cm}^{-1}$  (N-H), merupakan serapan yang khas untuk gugus amina.
3. Struktur senyawa dengan rumus molekul  $\text{C}_{32}\text{H}_{58}\text{N}_2\text{O}_2$  mempunyai kerangka dasar seperti Haliclonacyclamine B yang telah diisolasi sebelumnya dari *sponge Haliclona* sp.

### B. Saran

Saran yang dibutuhkan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut

1. Perlu dilakukan karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri NMR untuk melihat kemungkinan gugus hidroksi dari struktur yang didapatkan terikat pada rantai karbon 27 atau 28.
2. Perlu dilakukan uji bioaktivitas pada senyawa yang telah berhasil diisolasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aniszewski, T. 2007. *Alkaloids – Secret of Life : Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Application and Ecological Role*. Research and Teaching Laboratory of Applied Botany, Faculty of Biosciences University of Joensuu. Joensuu Finland.
- Almeida, E. L., Margassery, L. M., Kennedy, J., and Dobson, A. D. W. 2017. Draft Genome Sequence of the Antimycin-Producing Bacterium *Streptomyces* sp. Strain SM8, Isolated from The Marine Sponge *Haliclona Simulans*. *Genomea.asm.org*. **6**(4): 1535-1617.
- Arai, M., Kamiya, K., Shin, D., Matsumoto, H., Hisa, T., Setiawan, A., Kotoku, N., and Kobayashi, M. 2016. N-Methylpiperidine A, A New 3-Alkylpiperidine Alkaloid as an Inhibitor of the Cancer Cells Adapted to Nutrient Starvation, from an Indonesian Marine *Sponge* of *Xestospongia* sp.. *Chem. Pharm. Bull.* **64**: 766-771.
- Arai, M., Y. Yamano, and M. Kobayashi. 2014. Identification of the Target Protein of Agelasine D, A Marine *Sponge* Diterpene Alkaloid, as an Anti-dormant Mycobacterial Substance. *Journal ChemBioChem*. **15**: 177.
- Arai, M., Ishida S., Setiawan, A., and Kobayashi, M. 2009. Haliclonyclamine, Tetracyclic Alkylpiperidine Alkaloid, as Anti-dormant Mycobacterial Substance from a Marine *Sponge* of *Haliclona* sp.. *Chem. Pharm. Bull.* **57**(10): 1136-1138
- Arai, M., Sobou, M., Vilcheze, C., Baughn, A., Hashizume, H., Pruksakorn, P., Ishida, S., Matsumoto, M., Jacob, W., and Kobayashi, M. 2008. Halicyclamine A, a Marine *Spongean* Alkaloid as A Lead for Anti-tuberculosis Agent. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. **16**: 6732-6736.
- Barnes, R., Calon, P., and Olive, R. 1989. *The Invertebrata*. Blackwell Scientific. Pub. Oxford. London. 49-53.
- Belarbi, E. H., Gomez, A. C., Yusuf, C., Camacho C. F., and Grima E. M. 2003. Producing Drugs from Marine *Sponges*. *Biotechnol Adv.* **21**(7): 585-598.
- Berne, S., Kalauz, M., Lapat, M., Savin, L., Janussen, D., Kersken, D., Avgustin, J.A., Jokhadar, S. Z., Jaklie, D., Gunde-cimerman, N., Lunder, M., Roskar,

- I., Elersek, T., Turk, T., and Speic, K. 2015. Screening of the Antarctic Marine Sponges (Porifera) as a Source of Bioactive Compounds. *Polar Biol.* **39**: 947-959.
- Blunt, J. W., Copp, B. R., Munro, M. H. G., Northcote, P. T., and Prinsep, M. R., 2007. Marine Natural Product. *Nat Prod Rep.* **21**: 1-49.
- Brusca, R. C., and Brusca, G. J. 1990. *Invertebrates. Sunderland. Massachusetts.* Inc. publishers. Sinauer Associates. 181-207.
- Christian, G. D., Dasgupta, P. K., and Schug, K. A. 2013. *Analytical Chemistry, 7<sup>th</sup> Edition.* University of Texas. Arlington.
- Cuong, P. V., Cuc, N. T. K., Quyen, P. V., Binh, P. T., Kiem, P. V., Nam, N. H., and Dat, N. T. 2014. Antimicrobial Constituents from the *Bacillus megaterium* LC Isolated from Marine Sponge *Haliclona oculata*. *Natural Product Sciences.* **20**(3): 202-205.
- Dahuri, R. 2003. *Keanekaragaman Hayati Laut.* PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S. 1982. *Kimia Organik, Edisi Ketiga, Jilid 2.* Erlangga. Jakarta.
- Gandjar G. I. dan Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Grinberg, N. 1990. *Modern Thin Layer Chromatography.* CRC Press. 5.
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. ITB. Bandung.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry.* The McGraw-Hill Comp. New York.
- Hostettmann, K., and Terreaux, C.. 2000. Medium-Pressure Liquid Chromatography. *Academic Press.* University of Lausanne.
- Hu, G. P., Yuan, J., Sun, L., She, Z. G., Wu, J. H., Lan, X. J., Zhu, X., Lin, Y. C., and Chen, S. P. 2011. Statistical Research on Marine Natural Products Based on Data Obtained Between 1985-2008. *Mar Drugs.* **9**: 514-515.
- Jasin, M. 1992. *Zoologi Invertebrata Untuk Perguruan Tinggi, Cetakan Keempat.* Sinar Wijaya. Surabaya.
- Jiao H. W., Li, J., Liu, Q., Xu, T., Shi, G., Yu, H., Yang, F., Han, B., Li, M., and Lin H. 2014. Dysidionid A, an Unusual Meroterpenoid with Anti-MRSA

- Activity from the South China Sea Sponge *Dysidea* sp.. *Marine Drugs*. **19**: 18025-18032.
- Johnson, L.E. dan Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Joseph, B., and Sujatha, S. 2011. Pharmacologically Important Natural Products from Marine Sponges. *Journal of Natural Products*. **4**: 05-12.
- Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh Saptorahardjo, A. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Lee Y., Jang, K. H., Jeon, J., Yang, W., Sim C. J., Oh, K., and Shin, J. 2012. Cyclic Bis-1,3-Dialkylpyridiniums from the Sponge *Haliclona* sp. *Marine Drugs*. **10**: 2126-2137.
- Mani, L., Petek, S., Valentin, A., Chevalley, S., Fotcher, E., Aalbersberg, W., and Debitus, C. 2011. The in Vivo Anti-plasmodial Activity of Haliclonacyclamine A, an alkaloid from The Marine Sponge, *Haliclona* sp.. *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*. **25**(20): 1923-1930.
- Muller, W. E. G. 2003. *Sponges (Porifera)*. Springer. Verlag Berlin Heidelberg. New York.
- Pawlik, J. R., and Walters, K. D. 1983. Is There a Trade-O Between Wound-Healing and Chemical Defenses Among Caribbean Reef Sponges?. *Integr. Comp Biol*. 352-358.
- Poole, C. 2009. *Handbook of Method and Instrumentation in Separation Science*. Academic Press. **1**: 72.
- Rupert, E. E., and Barnes, R. D. 1994. *Invertebrate Zoology, 6<sup>th</sup> Edition*. Saunders College Publishing. United State of Amerika.
- Sapar, A., Noor, A., Soekanto, N. H., Ahmad, A., and Hadi, T. H. 2013. A Preliminary Study of Bioactivity and Identification of Secondary Metabolite Functional Groups in Extracts of *Agelas nakamurai* Hoshino Sponge from Spermonde Archipelago, Indonesia. *Marine Chimica Acta*. **14**(2).
- Settle, F. 1997. *Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*. Prentice Hall Inc. New Jersey.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., and Kiemle, D. J. 2005. *Spectrometric identification of Organic Compounds 7<sup>th</sup> Edition*. John Wiley & Sons, Inc. New York.

- Sitorus, M. 2009. *Spektroskopi (Elusidasi Struktur Molekul Organik)*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Sticher, O. 2007. Review Natural Product Isolation. *Nat. Prod. Rep.* **25**: 517-554
- Sudjadi. 1992. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta. 283.
- Tilvi S., Rodrigues, C., Naik, C. G., Parameswaran, P. S., and Wahidhulla S. 2004. New Bromotyrosine Alkaloids from the Marine Sponge *Psammaphysilla purpurea*. *Tetrahedron.* **60**: 10207-10215.
- Topsent, E. 1893. Nouvelle Serie de Diagnoses d'éponges de Roscoff et de Banyuls. *Archives de Zoologie Experimentale et Generale*. Notes et Revue. **10**: 33-43.
- Tsuda, Y. 2004. Isolation of Natural Products. *H.E.J. Research Institute of Chemistry*. University of Karachi, Karachi 75270. Pakistan.
- Watanabe, Y., Aoki, S., Tanabe, D., Setiawan, A., and Kobayashi, M. 2007. Cortistatins E, F, G, and H, Four Novel Steroidal Alkaloids from Marine Sponge *Corticium Simplex*. *Science Direct Tetrahedron.* **63**: 4074-4079.
- Wink, M. 1999. Functions of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology. *Annual Plant Review.* **3**(2): 52.
- Wewengkang, D. S., Sumilat, D. A., dan Rotinsulu, H. 2014. Karakterisasi dan Bioaktif Antibakteri Senyawa Spons *Haliclona* sp. dari Teluk Manado. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi.* **1**(1).
- Yen, M. P., and Tang, G. 2016. Science Education Collection. Rotary Evaporation to Remove Solvent. *Journal of Visualized Experiments.*
- Yu, S., Deng, Z., Proksch, P., and Lin, W., 2006. Oculatol, Oculatolide, and A-non Sterol from The Sponge *Haliclona Oculata*. *J Nat Prod.* **69**: 1330-1334.
- Zhang, H., Loveridge, S. T., Tenney, K., and Crews, P. 2015. A New 3-alkylpyridine Alkaloid from The Marine Sponge *Haliclona* sp. and Its Cytotoxic Activity. *Natural Product Research.* 1-4.